

Metodi di ricerca e di gestione finalizzati alla conservazione della Trota marmorata

Alvise N. Lucarda

*Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Torino,
Via Leonardo da Vinci, 44 - 10095 Grugliasco (TO); alvise.lucarda@unito.it*

Riassunto

Gli strumenti di indagine messi a disposizione dei ricercatori sono in continua e sempre più rapida evoluzione tecnica; tuttavia nell'affrontare le problematiche conservazionistiche e gestionali della fauna ittica autoctona dei corsi d'acqua è necessario utilizzare criteri interpretativi dei dati adeguati con approccio multidisciplinare. Prendendo a modello il caso della Trota marmorata e il fenomeno dell'ibridazione conseguente alle transfaunazioni di Salmonidi, attraverso la disamina dell'attuale stato di conservazione della naturalità dei corsi d'acqua e della fauna dulciacquicola autoctona, ma tenendo presenti le problematiche legate alla frammentazione amministrativa e conseguente disomogeneità gestionale dei bacini fluviali, si definiscono i principi guida di un'etica gestionale finalizzata alla conservazione e al recupero delle popolazioni originali delle specie ittiche autoctone. Vengono anche brevemente illustrate in termini generali le metodologie di studio e monitoraggio oltre a quelle interpretative dei dati e operative, mediante le quali è possibile elaborare strategie di gestione effettivamente finalizzate alla conservazione, rendendo compatibili anche quelle attività di sfruttamento della risorsa fiume che vengono considerate le maggiori responsabili del degrado in cui versano le popolazioni ittiche autoctone nel nostro Paese.

PAROLE CHIAVE: conservazione / Trota marmorata / ibridazione / biodiversità / strategie gestionali

Research and strategies for the management and conservation of Marble trout

Diagnostic and research tools for the investigation on wild fish populations rapidly improved in the last decades. In the same time, the conservation and the management of the autochthonous freshwater fishes became one of the main issue to face, due to the presence of allochthonous species and hybridisation but also water pollution and habitat loss in the natural freshwater environment. The harmful effects of fish restocking and inadequate fishing management contributes to determined the loss of endemic and autochthonous fish strains but also the increase of the genetic introgression in wild trout populations. Basing on the results of ten years studies across the range distribution of the marble trout, the guidelines for the recovery, conservation and the management of the original wild fish population are proposed. Sampling and monitoring methods, investigation tools and management strategies are suggested to make compatible fishing and other exploitative activities with the conservation of original wild fish populations.

KEY WORDS: conservation / Marble trout / hybridisation / biodiversity / freshwater management

INTRODUZIONE

Sono ormai ben conosciute tra gli addetti ai lavori le ragioni per cui è di fondamentale importanza conservare la biodiversità naturale negli ambienti acquatici. La conservazione della diversità ambientale è presupposto indispensabile affinché vi possano essere varietà di habitat e di nicchia ecologica, differenze sia in specie che tra popolazioni dovute a limitazioni dello scambio genico determinate da fattori di tipo ecologico o dalla presenza di ostacoli naturali che impediscono la panmissia tra gli individui.

Per poter conservare la biodiversità bisogna essere in grado di osservare non solo quelle differenze che a livello macroscopico possono essere facilmente dimostrabili e quindi poco discutibili, ma anche quelle evidenziabili solo in modo strumentale che, sebbene dimostrabili, possono diventare oggetto di discussione almeno quanto il metodo utilizzato per metterle in evidenza.

Negli anni il progresso scientifico ha messo a disposizione dei ricercatori strumenti sempre più sofisticati

per lo studio dei fenomeni biologici, ma la storia della ricerca degli ultimi decenni insegna che è necessario del tempo prima che i risultati ottenuti con un nuovo strumento, scientificamente approvato, vengano considerati sotto il profilo pratico ed applicativo. Nel campo ambientale, quasi sempre questo è il tempo richiesto dalla società affinché si accrescano sensibilità ecologista e grado di apprezzamento nei confronti di nuovi valori etici che trovano grado e tempo diverso di accreditamento in aree socioculturali diverse, spesso in stretta relazione con le capacità di promozione delle strutture formative e culturali delle Pubbliche Amministrazioni. È per questo motivo che in alcuni Paesi la realizzazione dei passaggi facilitati per la fauna ittica lungo i corsi d'acqua è una necessità imprescindibile, mentre in altri viene avvertita meno, così come in alcune Regioni viene ritenuto molto importante acquisire nel minor tempo possibile ed in modo estensivo l'indennità da malattie virali dei Salmonidi mentre in altre tale urgenza non viene quasi considerata necessaria.

Per quanto riguarda specificatamente la Trota marmorata, indipendentemente dalle problematiche di tipo idrografico del bacino fluviale e da quelle legate alla pesca dilettantistica, l'approccio strategico per la gestione delle forme endemiche ed autoctone con finalità conservazionistiche poggia su principi etici e su linee guida molto differenti tra Regione e Regione. Tali discrepanze, che in alcuni casi si configurano addirittura come indirizzi diametralmente opposti, sono presenti anche a livello interprovinciale o tra Enti che hanno finalità gestionali differenti, quali possono essere le Province e gli Enti che gestiscono aree protette. Anche nel recepimento di alcune recenti direttive europee promosse da Paesi membri in cui è più matura la sensibilità nei confronti delle problematiche ambientali, nel nostro Paese si è avuta prima un'applicazione di tipo politico-amministrativo e solo successivamente, ma non sempre, ha fatto seguito un'applicazione funzionale mossa da ragioni etiche e sensibilità conservazionistica. In taluni casi l'applicazione è stata il risultato di un forzato compromesso che non potrà mai produrre gli effetti ricercati dai principi ispiratori delle normative stesse. Per questo motivo si sono verificati casi in cui il concetto di conservazione della biodiversità è stato, di fatto, funzionalmente confuso con quello di omogeneizzazione delle diversità o con l'idea secondo cui sarebbe bene ricreare artificialmente nuova biodiversità dove questa è scomparsa o anche dove probabilmente non è mai esistita prima.

Altrettanto sovente i problemi sono riconducibili al fatto che la maggior parte dei corsi d'acqua, almeno della pianura padana, hanno decorso transprovinciale e per questo vengono sottoposti a strategie gestionali

diverse e frammentate, quando non con obiettivi contrapposti.

È evidente che questo ha dei riflessi estremamente importanti e sovente dannosi sulla fauna ittica che compie spostamenti e ciclo biologico non tenendo conto dei confini amministrativi, ma solo dei punti di discontinuità fluviale, siano essi naturali o meno. Non poi così rara è la situazione in cui a monte e a valle di un confine amministrativo, lungo uno stesso corso d'acqua ambientalmente omogeneo, si vengano a trovare rispettivamente un campo gara e una bandita di pesca. È quindi evidente che le strategie gestionali o il loro coordinamento tra gli Enti di gestione tengono spesso poco conto delle reali esigenze della fauna ittica o dello specifico aspetto vocazionale di un corso d'acqua, dovendo mediare esigenze di tipo socioculturale e politico. Piani gestionali approssimativi o sordinati, se protratti per diversi anni, possono anche produrre esiti irrecuperabili sotto il profilo conservazionistico.

Sebbene numerosi studi abbiano consentito di acquisire una buona conoscenza dei fenomeni biologici che avvengono nei corsi d'acqua, molto resta ancora da comprendere a livello dell'interazione tra le dinamiche dell'ambiente acquatico e quelle multirelazionali delle differenti componenti biologiche.

È infatti sempre presente il rischio di commettere grossolani errori quando ci si inoltra nel terreno sconnesso e minato della valutazione di se, come, quando e quanto, differenze evidenziate a vari livelli (morfologico, etologico, ecologico, biochimico, genetico ecc.) possano o debbano essere considerate significative o meno, casuali o adattative, meritevoli di attenzione conservazionistica oppure no. In questo lavoro, sulla base delle indicazioni generali tratte dai risultati di diversi studi eseguiti nell'ultimo decennio su quasi tutto l'areale della Trota marmorata, vengono evidenziate le problematiche gestionali comuni e riportati alcuni esempi relativi ad aspetti specifici di importanza rilevante. Si definiscono i principi guida su cui vengono elaborate soluzioni gestionali semplici ma ispirate al rispetto delle condizioni e della diversità che si sono venute a determinare nei nostri fiumi, sottolineando in modo inequivocabile la priorità del rispetto della diversità prodotta dell'evoluzione naturale su quella prodotta dall'uomo.

LA TROTA MARMORATA E L'IBRIDO CON LA TROTA FARIO

Studi morfometrici, osteologici e meristici condotti su popolazioni di trota di corsi d'acqua differenti (DOROFEEVA *et al.* 1991; LUCARDA 1994; DELLING *et al.* 2000) hanno confermato la presenza di caratteri morfologici che sono significativamente discriminanti tra le due semispecie *Salmo trutta trutta* e *Salmo trutta*

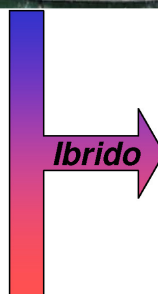
marmoratus. Osservazioni e studi sulla distribuzione, riproduzione e sul comportamento, rivelano che le due forme mostrano preferenze ecologiche e di microhabitat differenti (BUDA-DANCEVICH *et al.* 1982; LUCARDA 1994). La Trota marmorata, infatti, raggiunge dimensioni maggiori e presenta un periodo riproduttivo più breve e leggermente anticipato rispetto a quello della Trota fario (SALVIATI *et al.* 2000). Nei corsi d'acqua in cui le due semispecie sono compresenti, vengono trovati anche individui con caratteristiche cromatiche e morfologiche intermedie (LUCARDA *et al.*, 2004), cioè con marmoreggiatura di fondo e la caratteristica puntinatura rossa o nera tipica della livrea delle trote di ceppo allevato (Fig. 1) che vengono introdotte per la pesca sportiva (GRIDELLI, 1935, 1936; POMINI, 1939, 1940a, 1940b). Già le prime analisi genetiche eseguite sul DNA mitocondriale hanno supportato l'ipotesi che questi individui derivino dall'incrocio tra *S. t. trutta* e *S. t. marmoratus* (ARGENTON *et al.*, 1992; GIUFFRÀ *et al.*, 1994); ipotesi che fu in seguito confermata mediante studi sul DNA nucleare (BERREBI *et al.*, 2000; LUCARDA *et al.*, 2000), studi morfometrici (LUCARDA *et al.*, 2004; PANEBIANCO, 2005) e definitivamente da un esperimento di ibridazione geneticamente controllata tra le due forme, eseguita specificatamente in ambiente naturale (LUCARDA, dati non ancora pubblicati).

Gli individui fenotipicamente "ibridi" derivati dall'incrocio in natura, risultano geneticamente intermedi alle due forme parentali (CELEGATO, 1999; LUCARDA *et al.*, 2000), ma sono intermedi anche dal punto di vista

morfologico, sia morfometrico che meristico (LUCARDA, 1994; MARTINI, 2000) e significativamente distinguibili anche sulla base della forma del corpo rilevata mediante analisi d'immagine (LUCARDA *et al.*, 2004). In quest'ultimo studio è stato possibile distinguere in modo statisticamente significativo su base morfologica anche le popolazioni di Trota marmorata provenienti da bacini diversi, mentre in altri studi è stato possibile distinguerle su base genetica (LUCARDA, 1999) addirittura anche a livello intrabacino (CELEGATO, 1999) utilizzando loci nucleari altamente polimorfi. Appare quindi piuttosto chiaro che le popolazioni di Trota marmorata dei diversi bacini hanno acquisito nel tempo delle differenze che sono ancora evidenziabili in modo significativo nonostante il fenomeno dell'ibridazione diffusa con la Trota fario tenda ad omogeneizzarle tanto sotto il profilo morfologico quanto sotto quello genetico.

In sintesi, se l'interfecondità assunta come condizione per la definizione di specie, viene considerata anche ragione sufficiente per ritenere effimere tutte le differenze a livello intraspecifico in quanto in grado di scomparire anche solo dopo un evento riproduttivo, allora nessun problema deve porsi, tanto meno quello della conservazione della Trota marmorata, di fatto interfeconda con la Trota fario. Se invece si attribuisce importanza alla diversità acquisita attraverso un processo evolutivo, sia esso durato millenni oppure centinaia di anni, allora le differenze che si sono prodotte sia a livello macroscopico –quale la differenza fenotipica tra la Trota marmorata e la Trota fario– sia quelle non

Salmo trutta marmoratus



Salmo trutta trutta

Fig. 1. Dall'incrocio fra una Trota fario (*Salmo trutta trutta*) e una Trota marmorata (*Salmo trutta marmoratus*) si generano individui che presentano caratteri fenotipici intermedi a quelli dei genitori (disposizione delle macchie e colorazione di livrea e opercolo).

rilevabili visivamente –le differenze morfologiche e genetiche tra diverse popolazioni della stessa semispecie– dovrebbero essere preservate anche se lo stato delle conoscenze attuali non ci consente di comprenderne appieno il significato.

Lo stato di compromissione in cui versano le popolazioni naturali di Trota marmorata di alcuni bacini è alquanto preoccupante sia in termini qualitativi che quantitativi, tanto da rendere necessarie misure di protezione e di recupero quanto mai urgenti. L'approccio maggiormente conservativo sarebbe sicuramente quello di recuperare le popolazioni originariamente presenti all'interno dei bacini, mediante programmi di supporto alla riproduzione naturale (incubatoi di valle) selezionando i soggetti che hanno mantenuto una maggiore purezza fenotipica e genetica. Tuttavia in alcuni casi, senza aver preventivamente effettuato una attenta valutazione per capire se risulta davvero impossibile il recupero dalle popolazioni residue all'interno di un bacino, si è ricorso all'immissione di Trota marmorata di diversa provenienza, quasi sempre prodotta in allevamento. Dal momento però che le popolazioni dei diversi bacini sono differenti e che oltretutto in allevamento viene inevitabilmente prodotta una forma di selezione che tende ad "addomesticare" il selvatico *marmoratus*, si pone il problema di valutare se queste operazioni gestionali siano o meno in linea con i principi conservazionistici della biodiversità o se, invece, producano la perdita della diversità morfologica e genetica tra le popolazioni all'interno della specie, con le imponderabili conseguenze che possono derivare da tale forzato processo di omogeneizzazione. Questo processo artificiale è esattamente contrario a quello naturale che nei millenni di evoluzione ha prodotto la diversità che ancora è possibile osservare tra le popolazioni di Trota marmorata che vivono separate nei diversi bacini.

MATERIALI E METODI

Per essere utili allo scopo, i metodi di campionamento, analisi e raccolta dati, oltre ai metodi interpretativi dei risultati, devono essere principalmente focalizzati ad individuare e quantificare le differenze a livello di ecosistema acquatico, di comunità biologica, di popolazione ittica –a livello fenotipico e genetico– prodotte dal succedersi degli eventi naturali. I metodi quindi devono essere in grado di distinguere in modo chiaro ed inequivocabile le differenze conseguenti alle manipolazioni degli ambienti e delle popolazioni ittiche prodotte dall'uomo.

Per lo studio delle popolazioni selvatiche, ma anche di quelle d'allevamento, si utilizza un metodo derivato da una continua evoluzione, tanto sotto il profilo strumentale quanto sotto il profilo interpretativo dei dati,

finalizzato alla comprensione della precisa problematica dell'ibridazione intraspecifica tra la Trota fario e la marmorata. L'approccio metodologico investigativo è di tipo multidisciplinare e prende in esame gli aspetti idrologici, ecologici, fenotipici (colorazione di livrea e opercolo, morfometria) e genetici, come pure il procedimento interpretativo dei risultati che prevede l'integrazione di diverse informazioni, mentre i suggerimenti gestionali sono rigorosamente ispirati ad un'etica conservazionistica. Tali procedure propongono di non agire nelle situazioni poco conosciute fintanto che non vengano ben definite da ulteriori studi e propongono invece di agire nei confronti delle differenze evidenziate nei lavori scientifici secondo due distinti principi: conservare le differenze che si sono prodotte per evoluzione naturale e rimuovere invece le differenze prodotte in modo artificiale che, nel caso delle popolazioni selvatiche di Salmonidi, sono principalmente le immissioni di semispecie o di ceppi di trota diversi da quelli originariamente presenti. Essendo consapevoli che gli strumenti di indagine evolvono in modo da cercare la risposta a quesiti sempre più avanzati e che saranno quindi in grado di portare in evidenza differenze attualmente non apprezzabili, i suggerimenti operativi proposti sono sempre comunque prudenzialmente conservativi.

Ricerca delle differenze e ordinamento

Nello studio delle popolazioni di trota gli ambiti in cui vengono ricercate le differenze sono:

- a) idrologico ambientale; raccolta dati che descrivono e distinguono la tipologia ambientale in cui vengono effettuati i campionamenti, per esempio torrente di montagna piuttosto che allevamento, in modo da sapere esattamente come interpretare i dati ottenuti da analisi quali quelle morfometriche o quelle genetiche. Questo è importante in quanto l'ambiente influisce in modo determinante sulle dimensioni, lo sviluppo e la dinamica delle popolazioni, come sullo sviluppo della forma dell'individuo. Più specificatamente, una trota cresciuta in acque fredde oligotrofe di un torrente alpino sviluppa una forma del corpo alquanto diversa rispetto a quella di una trota alimentata artificialmente e cresciuta in un lago o in una vasca di allevamento (D'ISEP, 2001). Analogamente, i dati genetici di un campione raccolto all'interno di un allevamento in cui sono presenti un numero fisso di riproduttori e la loro progenie, presentano una struttura sicuramente diversa da quelli di un campione raccolto in ambiente naturale, soprattutto se rappresentativo di un'area vasta, soggetta ad immissioni e a panmissia più o meno incompleta tra gli individui originari ed immessi o tra semispecie differenti;
- b) fenotipico; quasi tutte le popolazioni di Trota marmorata vivono in acque che, almeno in passato, sono

- state oggetto di immissione di Trota fario per la pesca sportiva; pertanto nel tempo si è assistito ad una progressiva comparsa di soggetti ibridi che presentano colorazioni e disposizione delle macchie sulla livrea intermedie tra la Trota fario e la marmorata. Studi morfologici e genetici eseguiti su un numero elevato di campioni attraverso tutto l'areale della Trota marmorata dimostrano che è possibile mettere in relazione il grado di ibridazione fenotipica con il grado di ibridazione genetica (LUCARDA *et al.*, 2000). Per verificare sperimentalmente l'ipotesi che caratteri fenotipici e genetici fossero correlati nell'ibrido tra la Trota fario e la Trota marmorata, per sei anni sono state eseguite diverse tipologie e cicli successivi di ibridazione controllata tra soggetti identificati mediante microchip di riconoscimento in ambiente naturale confinato, all'interno del Parco Nazionale delle Dolomiti Bellunesi (LUCARDA, dati non ancora pubblicati). È stato così possibile definire quali caratteri fenotipici risultano i più fedeli indicatori del grado di ibridazione, a seconda della tipologia di incrocio (maschio/femmina, fario/fenotipi ibridi/marmorata), e definire un criterio di classificazione visiva dei soggetti sulla base dei caratteri cromatici, della disposizione delle macchie della livrea e dell'opercolo branchiale (LUCARDA, 2006). Fra la Trota fario e la Trota marmorata è possibile distinguere su base visiva 9 classi intermedie; qualsiasi studio che abbia l'obiettivo di stimare tipologia e grado delle differenze tra popolazioni di Trota marmorata non può prescindere da una precisa classificazione di tipo visivo effettuata sul campo al momento del campionamento;
- c) morfologico; l'occhio esperto e ben allenato, secondo criteri ben definiti, è in grado di rilevare differenze nella colorazione e nella disposizione delle macchie sull'opercolo e sulla livrea laterale della trota, ma con difficoltà innegabili soprattutto nei soggetti giovanili o in condizioni ambientali in cui i caratteri cromatici nei soggetti sono poco contrastati. Anche l'operatore più esperto però non è in grado di quantificare in modo preciso e oggettivo differenze nella forma del corpo degli animali come può invece fare un analizzatore d'immagine. Studi morfometrici e meristici su animale sacrificato avevano dimostrato che la Trota marmorata, la Trota fario e l'ibrido sono distinguibili sulla base della forma del corpo (LUCARDA, 1994; MARTINI, 2000), mentre basandosi su studi morfometrici eseguiti su immagini tratte da un gran numero di individui e mediante l'utilizzo della morfometria geometrica, si dimostra che è possibile mettere in relazione alcuni caratteri della livrea con la forma del corpo (D'ISEP, 2001; PANEBIANCO, 2005) tenendo debitamente conto dello stadio di sviluppo dell'animale e dell'ambiente in cui è cresciuto. Secondo il nostro protocollo di indagine dunque, nel corso dei campionamenti finalizzati allo studio del differenziamento tra popolazioni di trota, tutti i soggetti catturati su cui vengono effettuate le analisi genetiche sono anestetizzati per effettuare una ripresa video digitale o trarre la foto sul fianco, per la successiva analisi d'immagine ed analisi morfometrica.
- d) genetico; nel corso dei campionamenti con reti o mediante elettropesca, ai soggetti catturati e leggermente sedati per la ripresa video viene asportata in modo mini invasivo e non cruento una piccola porzione di tessuto dalla pinna anale, che viene sottoposto ad estrazione del DNA per specifiche analisi genetiche in laboratorio. Nei pesci d'acqua dolce e per lo studio dell'ibridazione nella trota come per lo studio della struttura di popolazione, vengono utilizzati marcatori mitocondriali (BERMINGHAM e AVISE, 1986; AVISE *et al.*, 1987; CAMPTON, 1987; KARAKOUSIS e TRIANTAPHYLIDIS 1988, 1990; APOSTOLIDIS *et al.*, 1996; APOSTOLIDIS *et al.*, 1997; BERNATCHEZ e DODSON 1991; BERNATCHEZ 2001; BERNATCHEZ *et al.*, 1992; BERNATCHEZ e OSINOV, 1995; BILLINGTON e HEBERT, 1991; GIUFFRÀ *et al.*, 1994, 1996, PRESA *et al.*, 1994; GARCÍA-MARÍN e PLA, 1996; SANZ *et al.*, 2006; MERANER *et al.*, 2007) e marcatori nucleari altamente polimorfi come i microsatellite (ESTOUP *et al.*, 1993, 1998; PRESA *et al.*, 1994; SLATKIN, 1995; PRESA e GUYOMARD, 1996; ANGER e BERNATCHEZ, 1997; CELEGATO, 1999; LUCARDA, 1999; LUCARDA *et al.*, 1999, 2000; BERREBI *et al.*, 2000). Nello studio delle popolazioni di trota possono essere utilizzati anche altri marcatori quali le proteine del siero (BATTISTELLA e PIZZUL, 2003), vitellogenine delle uova (BATTISTELLA e AMIRANTE, 1992; BONIVENTO *et al.*, 1997), *Random Amplified Polymorphic DNA-PCR* (NADALIN *et al.*, 1999, 2000, 2001) ed *Amplification Fragment Length Polymorphism* che sono stati utilizzati da altri autori. Il nostro gruppo si è orientato sulla ricerca e lo sviluppo dei marcatori microsatellite, testandone applicabilità, affidabilità e capacità informativa anche in esperimenti di incrocio geneticamente controllato sulla trota. Nello studio del fenomeno dell'ibridazione tra la Trota fario e la marmorata è stata anche messa a confronto la tecnica dell'AFLP che però, allo stadio finora da noi sviluppato, non ha prodotto alcun determinante contributo.
- Indipendentemente dal fatto che diverse metodiche di analisi forniscano o meno risultati analoghi in sede di interpretazione dei dati ottenuti, quello che è stato verificato essere sempre di importanza determinante nei nostri studi è il corretto campionamento e la precisa caratterizzazione del campione raccolto.

Campionamento e database

Per la realizzazione dei nostri lavori vengono raccolti ed analizzati un gran numero di campioni che quasi sempre pare sovradimensionato rispetto allo studio da svolgere. In diversi anni di ricerca si è potuto verificare a posteriori che per caratterizzare in modo corretto lo stato di una popolazione di Salmonidi selvatici, soprattutto se sottoposta a gestione alieutica, è molto più informativo definire la “tendenza” che lo “stato”; in altri termini si può affermare che un unico consistente campionamento è difficilmente più informativo di diversi piccoli campionamenti distribuiti nel tempo. Questo è dovuto sia alla biologia dei Salmonidi che in alcuni periodi sono maggiormente mobili rispetto ad altri, maggiormente catturabili a seconda dello stadio di accrescimento e distribuiti in modo diverso a seconda della stagione, ma può essere dovuto anche al periodo meteorologico, alla portata d’acqua, torbidità ecc.

Altro fattore di estrema importanza è la classificazione fenotipica che deve essere effettuata sulla base di un protocollo oggettivo e in modo da distinguere precisamente diverse classi fenotipiche intermedie nel caso dell’ibridazione tra la Trota fario e la Trota marmorata. È provato che si ottengono risultati scarsissimi elaborando dati ottenuti da campioni di inadeguata consistenza numerica, non tanto in termini di rappresentatività globale ma di rappresentatività rispetto alle diverse classi fenotipiche intermedie, generalmente chiamate “ibrido”.

Nelle popolazioni naturali, per effetto del numero di anni a cui risale il primo incrocio con la forma alloctona, per effetto inoltre della parziale sovrapposizione riproduttiva tra le due semispecie che non è uguale per tutti i corsi d’acqua e pure in uno stesso torrente può essere diversa di anno in anno, ma anche per effetto della particolare dinamica di popolazione e non ultimo per effetto del caso, si può rilevare la presenza di una complessa gamma di fenotipi intermedi derivati dall’incrocio casuale di genotipi a diverso grado di ibridazione con la forma alloctona.

Tutti i dati ottenuti confluiscono in un database che contiene le informazioni di tipo fenotipico, meristico (qualora disponibili), morfometrico e genetico raccolte nel corso dei diversi studi. A mano a mano che il database ha preso consistenza si è potuta constatare la determinante importanza strumentale del database stesso. Infatti, nel nostro approccio di studio, i risultati emergono solo dal confronto fra i dati ordinati in modo preciso in funzione dell’informazione che si intende ottenere. Pertanto lo stato di una popolazione non viene definito in termini assoluti ma, sulla base della consistenza e rappresentatività del campione raccolto, in termini relativi nei confronti delle popolazioni generalmente più prossime dal punto di vista geografico.

Un database consistente e ordinato consente inoltre di estrarre l’informazione più importante, che è la tendenza della popolazione nei confronti delle tendenze delle popolazioni vicine. Questo è possibile in due modi: il primo –più preciso– che necessita la raccolta di campioni nell’arco di diversi anni, il secondo –solitamente meno preciso– che prevede lo studio differenziato per classi d’età all’interno del campione raccolto in un unico momento. È evidente che nel secondo caso occorre disporre di un campione molto consistente ed è per questo che nei progetti di studio e ricerca che non comprendono almeno un triennio di campionamenti occorre che vengano raccolti e quindi analizzati molti campioni. Questo generalmente non è sufficiente ad escludere difficoltà non irrilevanti soprattutto in fase di integrazione dei dati, per esempio quando devono essere confrontati dati morfometrici tra individui di classe d’età e classe fenotipica differente in presenza di modelli di accrescimento allometrico non ben definiti per una determinata area e popolazione di salmonidi.

Trattamento ed analisi dei dati

I dati fenotipici, morfometrici e genetici (nucleari e mitocondriali) vengono trattati in due modi distinti e successivi, il primo singolarmente per tipologia del dato, ossia fenotipica, morfometrica e genetica e il secondo integrato considerando globalmente tutte le informazioni. La modalità secondo cui le diverse informazioni vengono integrate è frutto di diversi anni di esperienza e studio. In linea di massima, comunque, nei primi stadi di sviluppo (uovo, larva) si utilizza esclusivamente l’informazione genetica, fino al completamento del primo anno di età. Successivamente e progressivamente viene inserita anche l’informazione morfometrica e quindi quella fenotipica della colorazione di opercolo e livrea fino allo stadio di subadulto.

Nell’adulto l’informazione fenotipico-morfometrica e quella genetica assumono lo stesso peso con l’inserimento della variante legata al dimorfismo sessuale nell’età in cui questo effetto diventa manifesto (Fig. 2). Esistono delle eccezioni che sono state opportunamente calibrate nei casi particolari in cui, per esempio, devono essere poste a confronto popolazioni dei corsi d’acqua naturali e quelle “artificiali” prodotte e cresciute in allevamento. È evidente che in questi casi l’informazione morfometrica cede il passo a quella fenotipica e a quella genetica in quanto l’ambiente, in questo caso di esempio, influisce in modo determinante sullo sviluppo della forma del corpo e produce delle differenze che, pur essendo oggettivamente osservabili, possono regredire modificando l’ambiente o trasferendo i soggetti dall’ambiente artificiale a quello naturale o viceversa. I risultati delle elaborazioni, sia in



Fig. 2. L'integrazione dei dati cromatici della livrea, morfometrici e genetici, viene fatta tenendo conto dell'età e delle dimensioni dei soggetti campionati. In campioni di subadulto l'informazione genetica e quella fenotipica e morfometrica assumono lo stesso peso relativo. Nei soggetti adulti, dove esiste il dimorfismo sessuale, l'informazione morfometrica deve tener conto del sesso dei riproduttori. Nei campioni di giovani di trota le differenze a livello cromatico della livrea e morfometrico sono poco consistenti; pertanto, nell'integrazione dei dati, assume maggior peso l'informazione genetica che, a differenza di quella morfometrica e fenotipica, rimane inalterata nell'individuo per tutta la vita.

forma integrata che non, scaturiscono da una serie di confronti statistici effettuati sui dati di tipo uni e multi-variati. I modelli sviluppati sono di notevole complessità e ancora in fase di rifinitura, tuttavia possono essere chiaramente indicati i principi su cui si basano sia le metodiche di elaborazione quanto quelle interpretative.

Per quanto riguarda i dati fenotipici, dal protocollo di classificazione e di valutazione/quantificazione del fenotipo si ottiene attualmente ancora un dato di tipo qualitativo in quanto dall'elaborazione delle immagini è ancora difficile ottenere dati quantitativi precisi non condizionati dalla qualità fotografica dell'immagine stessa. Si sta lavorando per ottenere una più precisa quantificazione dei caratteri cromatici della livrea e dell'opercolo che siano indipendenti dalla qualità fotografica e, soprattutto, perfettamente ripetibili mediante un protocollo standard di analisi d'immagine.

I dati morfometrici devono essere trattati preliminarmente per risolvere problemi di tipo posturale dell'animale ripreso, ma l'utilizzo di un preciso protocollo di ripresa video ha consentito negli ultimi anni di superare anche questo tipo di ostacolo. Il dato morfometrico presenta però un altro tipo di problema, quello di essere fortemente legato allo stadio di sviluppo dell'animale e condizionato dalle caratteristiche ambientali in cui l'animale è cresciuto. Se questo rappresenta sicuramente una importante sorgente di variazione che può essere quantificata, può anche rappresentare una fonte di variabilità fuorviante se non corretta-

mente gestita nel momento in cui i dati devono essere interpretati. Per la maggior parte degli ambienti e per quasi tutte le tipologie fenotipiche nell'areale in cui sono presenti la Trota marmorata e la fario (tutta la gamma degli "ibridi" intermedi) sono stati costruiti modelli standard di accrescimento allometrico sui quali vengono confrontati i caratteri morfometrici dei soggetti studiati. Quanto anzidetto serve a capire i motivi per cui l'interpretazione dei dati morfometrici richiede un approccio statistico e, quindi, un numero congruo di dati raccolti, solitamente molto elevato.

I dati genetici sono quelli solitamente maggiormente trattati da diversi gruppi di ricerca nello studio delle popolazioni di Salmonidi ed anche quelli maggiormente discussi, in quanto pare possano anche portare ad interpretazioni differenti a seconda del campione raccolto e delle metodologie di analisi utilizzate per produrre i dati grezzi. Per quanto riguarda i dati ottenuti dalle analisi del DNA mitocondriale, solitamente della regione di controllo (D-loop), non esistono molti dubbi in campo interpretativo, in quanto è riconosciuto il limite informativo determinato dall'eredità matrilineare del genotipo mitocondriale che consente di rilevare l'introggressione genetica e di stimarne la tendenza nel tempo senza permettere però di quantificarla in modo preciso. In alcuni casi il DNA mitocondriale è anche in grado di mettere in chiara evidenza la transfaunazione di ceppi di Trota marmorata tra bacini diversi. Diverso è invece il caso del trattamento dei dati nucleari, so-

prattutto se caratterizzati da elevato polimorfismo. Per stabilire se due popolazioni di trota sono o meno differenziate dal punto di vista genetico, i dati ottenuti dalle analisi vengono utilizzati per la stima di distanze genetiche mediante estimatori che dovrebbero essere applicati in assenza di violazione di alcuni assunti quali l'equilibrio di H-W e l'esclusione di *Linkage disequilibrium* tra i loci ma soprattutto sempre riferiti a popolazioni ideali. Proprio la differenza, talvolta enorme, esistente tra una popolazione ideale ed il campione tratto da una popolazione di Salmonidi in un corso d'acqua in cui vi sono immissioni di individui di allevamento, ibridazione non sempre bidirezionale, migrazione, spostamenti consistenti in termini di numero di soggetti e di distanza percorsa, attività di pesca selettiva, ripopolamenti e transfaunazioni eseguiti fino a tempi recenti, ma anche molti altri fattori, può produrre risultati che non riflettono la reale situazione di una popolazione, mascherare le reali ed originarie differenze esistenti tra due popolazioni poste a confronto o metterle in evidenza di artificiali quando non sono presenti o non erano presenti in origine.

Una volta individuate e stimate le differenze tra popolazioni o campioni di studio, il problema maggiore si pone in termini interpretativi. L'approccio utilizzato è quello di:

- verificare preliminarmente la rappresentatività del campione raccolto. Secondo la nostra esperienza, la mancanza di rappresentatività—spesso erroneamente data per scontata— rappresenta il fattore che maggiormente costringe ad usare il condizionale quando si espongono i risultati e formulano interpretazioni. Questo aspetto, nel caso dello studio delle popolazioni soggette ad ibridazione, riguarda in particolar modo i dati genetici che, molto spesso, vengono ottenuti da campioni raccolti nell'ambito di un solo campionamento effettuato da personale diverso, aggiungendo pertanto la soggettività nella classificazione dei pesci catturati;
- stabilire, sulla base dei dati disponibili e di come sono strutturati, il modello di integrazione dei dati fenotipici, morfometrici e genetici più opportuno e conservativo per effettuare il confronto tra i diversi campioni raccolti. Per la corretta elaborazione statistica può essere necessario raggruppare i dati, perdendo così livelli di variabilità anche preziosi dal punto di vista interpretativo su cui poter effettuare confronti e rilevare differenze. Per esempio, l'esiguità numerica del campione può rendere necessario eseguire i confronti non tra 9 classi fenotipiche intermedie fra la Trota fario e la marmorata, ma solo tra 5 o anche solo tra 3 classi (es.: marmorata, ibrido e fario), negando così la possibilità stessa di rilevare il grado di corrispondenza tra fenotipo, morfotipo e genotipo che è un'informazione importantissima per interpretare correttamente i risultati. In altri casi può essere necessario raggruppare tutte le classi d'età nel medesimo campione fenotipico, perdendo la possibilità di verificare se negli ultimi anni la tendenza della popolazione è di aumentare l'ibridazione oppure se il grado di purezza è in fase di recupero. È anche chiaro che il risultato ottenuto dal confronto tra campioni disomogenei risulta artificioso o poco informativo; per esempio, se si confronta un campione ben strutturato per classi fenotipiche e classi d'età con uno mal strutturato, costringendo al raggruppamento dei dati per effettuare il confronto statistico, è quasi certo che le differenze realmente presenti saranno praticamente non evidenziabili;
- portare in evidenza le differenze. Molto spesso le differenze tra le popolazioni, importanti dal punto di vista gestionale, hanno un orientamento diverso e meno riduttivo di quello che può essere rilevato dall'applicazione di uno studio genetico sugli indici di fissazione tra popolazioni, eterozigosità o la presenza di alleli fissati. L'argomento è molto complesso, ma si ritiene utile presentare e discutere nella sezione successiva almeno un esempio reale a titolo esplicativo per far comprendere l'importanza che riveste il modo in cui vengono elaborati i dati sulla valutazione a finalità gestionale e conservazionistica dello stato delle popolazioni;
- multidisciplinarietà ed integrazione dei dati. Sperimentando per diversi anni su una popolazione ibrida prodotta artificialmente sotto controllo genetico in ambiente naturale si è potuto verificare, da un lato, le modalità secondo cui fenotipo, morfologia e genotipo possono essere correlati e, dall'altro, il significato delle situazioni in cui, diversamente, vi è mancanza di correlazione tra questi diversi approcci valutativi riguardo le differenze tra soggetti, campioni o popolazioni. Il risultato delle nostre esperienze conferma di anno in anno quanto sia indispensabile utilizzare un approccio multidisciplinare nello studio delle popolazioni soggette ad ibridazione; ciò è stato recentemente provato anche dalle esperienze dei colleghi francesi che hanno utilizzato il medesimo approccio nello studio dell'ibridazione tra la Trota fario di ceppo mediterraneo e quella di ceppo atlantico nell'alta Savoia francese (CAUDRON *et al.*, 2006). L'utilizzo di tipologie diverse di valutazione della variabilità tra popolazioni—proprio per il fatto di non essere sempre necessariamente correlate tra loro— fornisce informazioni di importanza determinante proprio sotto il profilo gestionale. Inoltre rappresenta uno strumento indispensabile per la corretta valutazione delle "popolazioni" degli allevamenti, in cui alle difficoltà di una conduzione precisa e puntuale degli impianti vi è da

aggiungere l'intervento dell'uomo mirato al miglioramento fenotipico, al "reinsanguamento" con selvatici e all'incremento della produttività che, per la nostra esperienza, quasi sempre portano a creare degli "artifici" che, sulla base dei soli dati delle analisi genetiche interpretati in maniera classica, conducono a conclusioni imprecise (anche ammesso che in un allevamento vi siano le condizioni per poter applicare in modo ineccepibile gli strumenti di analisi ed interpretazione dei dati utilizzati nella genetica di popolazione classica);

- verificare nuovi strumenti investigativi. Il progresso mette a disposizione sempre nuove metodiche e nuovi strumenti di analisi, non solo biomolecolare, che devono essere verificati su strumenti che già forniscono indicazioni ripetibili e solide quando applicate in contesti ben conosciuti. Alcune tecniche possono fornire non solo indicazioni accessorie e di supporto, ma anche proporre nuove possibilità applicative che devono, però, essere poste al vaglio di confronto con gli strumenti noti in quanto a livello analitico possono anche essere prodotte o mascherate delle differenze per artefatto, scarsa ripetibilità o incostante sensibilità del metodo di analisi.
- riconoscere la sorgente di variabilità o di mascheramento delle differenze. Si tratta del nodo cruciale nel campo dello studio con finalità conservazionistica delle popolazioni naturali gestite e per la formulazione di opportune strategie gestionali. Nel nostro approccio di studio e di interpretazione, dopo aver definito gli strumenti di indagine multidisciplinare adeguati ed aver portato in evidenza le differenze presenti, si procede ad individuare e poi discernere le sorgenti di variabilità naturali presenti in origine da quelli artificiali determinati dall'intervento umano. Volendo ridurre all'estrema sintesi la procedura che porta alla formulazione di indicazioni gestionali, nei preliminari interventi di studio si vanno a caratterizzare lo stato e la tendenza delle popolazioni soggette ad ibridazione, quindi si individuano le deviazioni determinate dall'uomo che rappresentano un'insidia per la conservazione del ceppo autoctono. Successivamente, nelle proposte gestionali, si definiscono le linee strategiche di intervento per rimuovere le aberrazioni prodotte in passato, impedire la progressione in futuro e mettere le popolazioni naturali nelle condizioni di poter recuperare uno stato pregresso e di potersi auto-mantenere. Per ottenere tale scopo, oltre ad essere necessario un approccio multidisciplinare, non è ovviamente sufficiente disporre di un campione analogo a quello comunemente analizzato per lo studio della struttura genetica di popolazioni. Sono necessari, infatti, campionamenti distribuiti nel tempo e nello spazio, estesi a tutte le categorie degli

"ibridi" e comprensivi di campioni raccolti dai soggetti immessi che possono determinare ibridazione. Il metodo necessita successivamente della definizione del più probabile quadro fenotipico-morfometrico-genetico presente prima dell'intervento dell'uomo. Questo è possibile disponendo di un esaustivo e ricco database che consenta di contestualizzare le popolazioni nell'area di studio in una più ampia. Tale quadro risulta il più delle volte supposto sulla base di ragionevoli ipotesi non in contrasto con la logica del progressivo differenziamento tra le popolazioni in relazione alla rispettiva distanza idrografica e la presenza di sbarramenti o aree che riducono il flusso migratorio tra una popolazione e l'altra, ciò che in termini più tecnici viene definito riduzione del flusso genico tra popolazioni. Definito il quadro ipotetico più probabile, si valutano le differenze rispetto al quadro presente, sia a livello globale che specifico, utilizzando distanze relative adimensionali e rapportate al quadro generale di una più ampia area che comprende l'area di studio.

- individuare le più probabili cause responsabili dell'attuale quadro deviato rispetto a quello supposto originario, a livello globale e poi a livello specifico. Sulla base della struttura naturale del bacino idrografico, tenuto conto delle modificazioni successivamente apportate quali la presenza di sbarramenti e di regimazioni regolate dei flussi, nonché delle potenzialità autoconservative delle popolazioni residue, si definisce un piano globale strategico di mantenimento, recupero e di una eventuale ricostituzione delle popolazioni presenti.
- formulare i suggerimenti gestionali specifici a livello di micro-area finalizzati alla conservazione delle forme autoctone e dei ceppi presenti in origine. Questo viene fatto sulla base del piano generale a livello di macro-area (bacino o più bacini compresi all'interno di un territorio riferibile ad una sola unità di gestione), tenuto conto delle dimensioni e della struttura delle aree vocate, della presenza di stazioni ittiogeniche (incubatoi di valle o impianti ittici) e delle loro potenzialità produttive ma anche delle esigenze di pesca,

RISULTATI E DISCUSSIONE

L'esperienza di questo gruppo di ricerca è stata fatta su popolazioni naturali di *Salmo trutta* dell'arco alpino attraverso buona parte dell'areale di distribuzione della Trota marmorata nell'ambito di collaborazioni in diversi progetti molti dei quali a finalità applicativa. Campioni sono stati raccolti in una decina d'anni di studio nei bacini idrografici e lacustri del Piemonte e Valle d'Aosta, Lombardia, Trentino e Veneto. Sono stati utilizzati anche i dati ricavati da un campione

gentilmente concesso dall'Ente Tutela Pesca della Regione Friuli Venezia-Giulia, raccolto presso i propri impianti di produzione a marmorata. Campioni di trota provenienti dal bacino dell'Isonzo sono stati gentilmente forniti anche da colleghi sloveni; inoltre, sono stati raccolti molti campioni in allevamenti di trota distribuiti su tutto l'areale della Trota marmorata.

La classificazione su base visiva preliminare basata su un numero non troppo esiguo di classi fenotipiche intermedie tra la Trota marmorata e la Trota fario risulta di importanza determinante, in quanto consente di verificare se esiste linearità tra i risultati ottenuti dalle analisi fenotipiche, morfometriche e genetiche. A parte pochissimi casi in ambiente naturale, in cui si è verificato a posteriori che la popolazione studiata nel corso d'acqua era supportata da immissioni di materiale ittico prodotto in allevamento (FORNERIS e LUCARDA, 2006), generalmente la presenza di discrepanza tra l'informazione genetica e quella fenotipica si trova nello studio dei campioni raccolti negli impianti di allevamento. La comparsa di fenotipi piuttosto diversi dai fenotipi parentali, con livrea non mista tra quella di marmorata e quella di fario, ma spesso a mosaico, cioè con una parte del corpo a fenotipo marmorata e un'altra parte a fenotipo fario, è un fenomeno ben conosciuto e riferito da diversi operatori che si sono occupati di riproduzione artificiale di Trota marmorata in impianti a ciclo chiuso o semi-chiuso. Pur non essendo possibile dare una spiegazione supportata da riscontri scientifici riguardo il fenomeno descritto, nella nostra esperienza tali evidenze non si sono mai verificate in ambienti naturali in cui vi è naturale ibridazione tra le due semispecie ed assenza di immissioni, portandoci a concludere che quando si verifica tale condizione in un campione tratto da un corso d'acqua naturale è molto probabile che la popolazione sia soggetta a ripopolamenti con Trota marmorata prodotta in allevamenti. È quindi molto probabile che l'osservazione di tale evento sia legata all'attività di semplice selezione fenotipica operata tra i riproduttori che non sono stati sottoposti ad appropriata selezione su base integrata (fenotipica e genetica).

In studi morfometrici eseguiti su campioni appartenenti a popolazioni naturali, le curve di accrescimento allometrico degli individui classificati "ibridi" sulla base dei caratteri cromatici della livrea, risultavano intermedie a quelle delle due forme pure, *S.t.trutta* e *S.t.marmoratus*, per tutte le variabili studiate (LUCARDA *et al.*, 2004). Questo evidente riscontro non è stato confermato nello studio di campioni provenienti da "popolazioni" di allevamento. In individui adulti mantenuti in vasche di allevamento ed alimentati artificialmente, in quanto utilizzati come riproduttori nelle campagne ittiogeniche per i fiumi Tagliamento e Isonzo, si

è riscontrato che il corpo assume una forma che maggiormente si avvicina a quella della Trota fario, fenomeno presente, seppur in modo meno marcato, anche in pesci catturati in tratti di corso d'acqua ad alveo canalizzato. È possibile che l'ambiente artificiale, il tipo di alimentazione, la sovra densità come altre condizioni "artificiali" costituiscano fattori di selezione contro una forma del corpo più adatta a vivere negli ambienti naturali e selvatici, dove agisce la sola selezione naturale. È importante sottolineare che la selezione sui fenotipi effettuata in allevamento potrebbe accompagnarsi ad una selezione sui genotipi, a favore di quelli più "domestici" magari presenti per precedenti introgressioni con la Trota fario allevata e a scapito di quelli selvatici adattativi. Tale situazione potrebbe portare alla perdita dei caratteri di rusticità che sono prerogative degli animali selvatici che sopravvivono alla selezione naturale.

Nonostante esistano evidenze che un perseverante e ben controllato lavoro di ripopolamento delle acque naturali, partendo da materiale prodotto in allevamento a ciclo chiuso o semi-chiuso ed associato a misure restrittive della pesca, sia in grado negli anni di portare alla ricostituzione delle popolazioni selvatiche (BATTISTELLA e PIZZUL, 2003; ZIDARIC, 2003), in diverse altre situazioni piuttosto simili si sono osservati risultati controversi. Le soluzioni alternative sono gli incubatoi di valle (FORNERIS *et al.*, 1988, 1990), possibilmente associati ad ampie vasche naturalizzate o a corsi d'acqua confinati dove poter mantenere un piccolo parco riproduttori a bassa densità e ad alimentazione naturale. Con la riproduzione artificiale di individui selezionati e muniti di marcatura di riconoscimento individuale, in incubatoio di valle è possibile supplire alla mancanza dei siti di frega ed effettuare gli opportuni incroci tra individui selezionati, ovviando al problema dell'ibridazione con la Trota fario che avverrebbe in natura quando quest'ultima viene immessa a scopo di pesca sportiva. Il ripopolamento diretto dei corsi d'acqua o l'accrescimento in aree controllate partendo da avanzotti a sacco vitellino riassorbito consente di rilasciare in ambiente animali che non hanno avuto l'imprinting del mangime artificiale e che, nella nostra esperienza sperimentale, presentano una fitness in ambiente naturale, tra il primo e il secondo anno d'età, superiore di 37,4 volte rispetto a quelli cresciuti in vasche di allevamento e alimentati artificialmente (dati non pubblicati). Oltretutto nelle nostre esperienze l'incubatoio di valle è una struttura che può essere avviata con investimenti irrisori, consentendo una produttività impareggiabile in rapporto ai costi di esercizio. Inoltre, cosa non di poco conto, l'incubatoio di valle – a differenza degli impianti a ciclo chiuso – non presenta problematiche particolari di gestione del parco riproduttori legate alle restrizioni

richieste dalle recenti normative sanitarie (COSTANZI, 2003; GENTILI, 2003).

Anche nello studio delle differenze tra popolazioni naturali o selvatiche si è potuto constatare come sia imprescindibile la suddivisione dei soggetti campionati in classi fenotipiche distinte secondo criteri oggettivi e un protocollo di classificazione ben definito. A livello morfometrico emerge chiaramente che le differenze tra le diverse classi morfologiche intermedie aumentano se i campioni sono tratti da popolazioni di trota di bacini idrografici diversi, rivelando cioè un differenziamento morfologico su base idrografica analogamente a quanto avviene per quello a livello genetico nucleare.

In merito alla consistenza numerica del campione da raccogliere per avere informazioni corrette, nella nostra esperienza si è verificato che è necessario un campione vario e molto numeroso. In rarissimi casi, analizzando un sottocampione scelto in modalità random tra quelli raccolti, si giungeva a conclusioni uguali a quelle ottenute analizzando il campione completo. Importantissima non è solo la consistenza numerica globale, ma come è distribuita tra le diverse categorie fenotipiche intermedie, cioè quelle degli "ibridi".

Anche quando si deve caratterizzare un campione tratto da una generazione di riproduzione in allevamento, derivata da un pool di riproduttori, è molto più informativo ai fini dell'impostazione del criterio di selezione, raccogliere ed analizzare un campione costituito da pochi individui di tutte le categorie fenotipiche piuttosto che un elevato campione tratto in modo casuale tra i soggetti. È cioè molto più importante riuscire a definire in modo preciso la relazione esistente tra fenotipo espresso e genotipo degli individui, piuttosto che poter determinare in modo preciso le frequenze alleliche presenti.

Occorre tener presente che, ai fini della conservazione della maggior purezza del ceppo allevato, la selezione va fatta sullo stock dei riproduttori che sono la sola vera e unica sorgente della variabilità presente nella progenie, sia essa endogena naturale o esogena per la presenza di soggetti provenienti da altri distretti geografici o portatori di genotipo esotico della Trota fario per ibridazione.

Si è provato più volte a rielaborare dati genetici prodotti in modo preciso, ma senza una corretta attribuzione fenotipica del campione, con il risultato di non riuscire a far emergere minimamente un'evidenza che, invece, compare molto chiara solo analizzando i dati con le informazioni fenotipiche disponibili. Nella quasi totalità dei casi in cui viene richiesto lo studio dello status delle popolazioni selvatiche con finalità gestionali, la raccolta seriale dei campioni è certamente quella che fornisce l'informazione più completa. Innanzitutto perché nei corsi d'acqua maggiori il cam-

pionamento effettuato in un singolo momento può facilmente non essere rappresentativo e, in secondo luogo, perché non è possibile individuare in modo corretto la tendenza della popolazione.

In passato è capitato di studiare la popolazione di un corso d'acqua che transita attraverso due province diverse che attuano due indirizzi gestionali diversi. Inizialmente le popolazioni di Trota marmorata e di ibrido delle due province erano ad uno stato di ibridazione molto simile e potevano essere considerate un'unica popolazione, anche se, proprio per una diversa gestione della pesca, vi era una differente presenza di Trota fario, dato accessorio di tipo ecologico emerso in fase di campionamento. A distanza di diversi anni le popolazioni di Trota marmorata, pur mantenendo una base comune, sono risultate piuttosto diverse dal punto di vista sia genetico che morfologico: nella popolazione con maggior consistenza di Trota fario si osservava chiaramente un aumento dell'ibridazione, mentre nell'altra si osservava la comparsa di nuovi genotipi introgressi di Trota marmorata, caratteristici di altri bacini, verosimilmente presenti per immissione. È quindi evidente che, per poter formulare le corrette indicazioni gestionali ai fini della conservazione delle popolazioni originariamente presenti, è indispensabile avere anche dati accessori a quelli genetici, quali –nel caso della Trota fario e della Trota marmorata– la struttura ecologica delle popolazioni ed i rapporti numerici esistenti tra le due semispecie. Nello studio delle popolazioni e per la formulazione di corrette indicazioni gestionali, è indispensabile l'integrazione delle informazioni morfometriche e genetiche con quelle ottenute dalle piramidi dei numeri dei soggetti, riferite alla struttura di popolazione per classi d'età e distinte per ogni semispecie e categoria fenotipica intermedia. In altri termini è necessario integrare gli studi ecologici di dinamica di popolazione con quelli genetici e morfometrici. È ben chiara nell'esperienza dell'ittologo-ecologo, soprattutto negli ecosistemi acquatici di maggior complessità, la discrepanza che sovente emerge tra la dinamica di una popolazione ittica rilevata a seguito di un monitoraggio pluriennale e quella supposta sulla base della struttura di popolazione rilevata al primo campionamento. Questo è dovuto tanto alle peculiarità biologiche e riproduttive dei Salmonidi quanto a fattori imponderabili, oltre ai ben conosciuti fattori legati alla rappresentatività del campionamento.

Per l'ittologo-ecologo-genetista-morfologo sono presenti gli stessi problemi a livelli di complessità interpretativa, ovviamente proporzionati, in quanto la disponibilità di molti dati richiede investimenti notevoli, tempi lunghi e costi elevati. Eliminando alcune competenze e riducendo le quantità di input si semplificherebbe alquanto il lavoro ottenendo risultati molto spesso

solidi ed apparentemente convincenti, come quando si trattano solo i dati genetici e li si processa secondo i canoni classici della genetica della popolazione. Le misure di distanza genetica e gli indici di fissazione, l'eterozigosità, il polimorfismo allelico, i loci "diagnostici" e i "private alleles" tanto usati dai genetisti per definire se e quanto campioni più o meno rappresentativi di popolazioni divergono, nella nostra esperienza applicata potrebbero essere correttamente impiegati in un numero di casi molto esiguo, ma soprattutto possono anche condurre ad erronee conclusioni se non viene attentamente valutato il contesto interpretativo.

Il nostro gruppo si è orientato su formulazioni statistico-matematiche che integrano dati di origine diversa, calibrate anche mediante prove empiriche e validate su prove sperimentali ed applicate. Questo approccio prescinde da qualsiasi ordine di grandezza dei valori di distanza e consente di effettuare valutazioni sempre e solo in termini relativi senza stabilire a priori valori soglia di tipo arbitrario. In ogni caso, nella nostra esperienza, solo monitorando di continuo o verificando a distanza di anni l'evoluzione della popolazione, è possibile capire quali erano i complessi fattori di cui si doveva necessariamente tener conto per interpretare in modo corretto i dati genetici.

Negli ultimi anni, disponendo di database sempre più consistenti, si sta valutando la possibilità di mettere in relazione la colinearità delle informazioni che derivano dai dati fenotipici, genetici e morfometrici con il grado di influenza dell'uomo sulle popolazioni di Salmonidi. È stato infatti osservato che nelle popolazioni protette ed indisturbate, seppur ibridate, in poche generazioni si stabilisce una relazione piuttosto solida tra dati ecologici, genetici, morfometrici e fenotipici, fenomeno che invece non accade nelle popolazioni sottoposte ad immissioni, ripopolamento e tanto meno nelle "popolazioni" di allevamento. Sembra quindi che le popolazioni di Salmonidi maggiormente disturbate dalla presenza antropica presentino una maggior discrepanza tra i dati e le indicazioni fornite dalle diverse discipline di studio. Anche questa evidenza potrebbe avere interessanti sviluppi futuri, soprattutto nell'ambito interpretativo dei dati per la definizione delle strategie manageriali da proporre agli enti di gestione.

In merito all'importanza di portare correttamente in evidenza le differenze tra popolazioni, di poter distinguere quelle di origine naturale da quelle di origine artificiale e di giungere ad una corretta interpretazione dei dati, si riporta un esempio pratico, realizzato su campo.

In un importante corso d'acqua, a seguito della costruzione di uno sbarramento invalicabile si era determinata di fatto la presenza di due popolazioni di trota separate. Pur essendo presente ibridazione storica con

la Trota fario, le due popolazioni di Trota marmorata si presentavano differenziate solamente sotto il profilo delle frequenze alleliche, una differenza che dal punto di vista gestionale potrebbe anche non essere ritenuta di particolare importanza a livello di uno stesso bacino, se simili sono anche la tipologia ed il grado di introgressione con la semispecie alloctona. In seguito, le due popolazioni sono state soggette ad immissioni ed ibridazioni con trote di ceppo diverso. Le semplici analisi genetiche hanno evidenziato un cospicuo differenziamento tra le due popolazioni, nelle quali risultavano oltretutto presenti alleli fissati, rispettivamente provenienti dai due diversi ceppi di trota immessi, situazione che avrebbe indotto qualunque genetista a formulare un certo tipo di suggerimento gestionale. Una analisi approfondita su un numero elevato di campioni, non solo di Trota marmorata ma anche dei soggetti introdotti, strutturati per classe fenotipica e per classe d'età, integrando dati genetici con quelli fenotipici e soprattutto morfometrici, ha consentito di comprendere il meccanismo che stava alla base dell'artificiale differenziamento tra le due popolazioni, di riconoscere la componente esogena di differenziamento e quindi di formulare il provvedimento gestionale più opportuno. Questo è risultato però totalmente diverso da quello che sarebbe stato inizialmente proposto sulla base delle sole analisi genetiche effettuate su di un campione pur cospicuo ma non adeguatamente rappresentativo e soprattutto privo di informazioni complementari quali quelle fenotipiche e morfometriche. Ciò precludeva quindi la possibilità di comprendere lo stato derivato delle due popolazioni.

Analogamente gli stessi principi valgono per situazioni opposte in cui, di fronte ad uno stato di ibridazione profonda e protratta da diversi anni, il destino gestionale di popolazioni diverse in origine deve essere mantenuto distinto, sebbene si configuri una situazione di artificiale carenza di differenze a livello genetico e morfologico determinate da ibridazione con lo stesso ceppo di trota immesso in vaste aree e quantità elevate. Questa situazione è molto comune nelle popolazioni selvatiche di Trota marmorata a causa delle consistenti immissioni di Trota fario di allevamento effettuate da molti anni per la pesca sportiva.

L'esempio proposto indica anche quanto i cosiddetti "loci genetici diagnostici" perdano quasi totalmente il loro significato nel caso di studio delle popolazioni selvatiche interessate da ibridazione, così come il significato di "allele fissato", in quanto è invece molto più importante ai fini conservazionistici e gestionali riconoscere e saper ben distinguere le differenze che erano presenti naturalmente in origine da quelle prodotte in modo artificiale per immissioni e transfaunazioni operate dall'uomo. La gestione a finalità conser-

vazionistica ha proprio lo scopo di ostacolare la progressione dell'ibridazione in atto nelle popolazioni selvatiche e di conservare e recuperare le popolazioni originarie, non quelle attualmente presenti che – in molti casi – sono il risultato di un insieme di individui a diverso grado di ibridazione, quindi non sempre totalmente e uniformemente ibridato proprio in conseguenza alle immissioni che, diversamente da quanto solitamente ritenuto dagli enti di gestione, sono di difficile controllo sia in termini quantitativi sia, soprattutto, qualitativi.

Per avere informazioni utili alla gestione delle popolazioni soggette ad ibridazione, nella maggior parte dei casi i soli dati genetici non sono sufficienti per la corretta comprensione dello status di una popolazione e del contesto in cui si trova, soprattutto se i dati non consentono di riconoscere e distinguere la componente di variabilità naturale da quella artificiale prodotta da immissioni e transfaunazioni. Ciò è possibile, spesso solamente in parte e talvolta associato ad elevato grado di incertezza, solo disponendo di ampi database estesi all'areale distributivo delle specie in studio e comprensivi della caratterizzazione di molti allevamenti che producono materiale da immissione nelle acque pubbliche, con la possibilità quindi di effettuare un gran numero di confronti e test di assegnazione sulla base di modelli predittivi che hanno una base statistica.

Si sta cercando di definire l'ipotetico e più probabile quadro distributivo dei morfo-genotipi per tutto l'areale della Trota marmorata. Per la definizione del quadro ipotetico a livello particolare sono necessari lo studio e l'analisi di un numero ingente di dati, nonché un lavoro di elaborazione molto impegnativo. Si ritiene questo tipo di approccio uno strumento indispensabile per poter correttamente confrontare le singole situazioni studiate con il quadro presunto e poter così stimare il grado di deviazione delle popolazioni selvatiche reali. Inoltre può consentire di ottenere una più chiara dimensione degli effetti della transfaunazione che, in alcuni casi, hanno prodotto differenze macroscopiche rispetto a quelle che è in grado di produrre la natura per mezzo dell'evoluzione.

Una volta individuate le cause delle deviazioni artificiali delle popolazioni dal quadro ipotetico atteso, i suggerimenti gestionali conseguono direttamente, in quanto constano di azioni che tendono a riportare le popolazioni vicine alla situazione ideale supposta sulla base di considerazioni che tengono conto delle dinamiche demografiche dei Salmonidi, delle caratteristiche dei bacini idrografici e delle distanze geografiche. Gli indirizzi su cui operare a livello specifico locale, vengono invece suggeriti tenendo conto degli obiettivi conservazionistici definiti a livello generale (solitamente di bacino), sulla base della situazione delle popola-

zioni circostanti, delle potenzialità produttive degli impianti di valle o di allevamento disponibili, ma soprattutto sulla base della struttura del bacino idrografico di competenza territoriale dell'ente.

Per meglio chiarire il concetto, quando vengono rilevate differenze non autogene tra popolazioni selvatiche anche a livello microgeografico, come nel caso di introggressione di genotipi estranei di Trota marmorata o di Trota fario di allevamento, si devono identificare unità distinte di gestione non per il fatto che in questi distinti contesti devono essere conservate le differenze esistenti, ma bensì per il fatto che queste distinte popolazioni selvatiche richiedono interventi gestionali diversi nelle modalità, nei tempi e negli obiettivi.

A titolo di esempio pratico, se sono presenti due aree di un fiume separate da una diga in cui a monte è presente una situazione fortemente introggressa con genotipi di Trota marmorata provenienti da altri bacini mentre a valle tale condizione non è presente, è importante che tale situazione non venga preservata come potrebbe suggerire il genetista sprovveduto, per il semplice fatto che esistono delle oggettive differenze. Il quadro complessivo deve invece essere correttamente compreso e devono essere indicate due linee di intervento distinte, che portino la situazione a monte della diga ad essere il più possibile circoscritta, mentre la popolazione di Trota marmorata a valle deve essere posta nelle condizioni di incrementare numericamente e qualitativamente in modo rapido, per fornire soggetti da traslocare per la ricostruzione della popolazione originaria anche nella zona a monte.

Una gestione invece impostata sulla conservazione della situazione evidenziata, porterebbe a far aumentare le dimensioni del problema, ripresentandolo a distanza di tempo con maggiori difficoltà di soluzione. Al contrario, una gestione che ritiene di non dover tener conto di tali differenze porterebbe nel tempo al mescolamento tra le popolazioni a monte e quella a valle della diga, producendo una irrecuperabile perdita del ceppo originariamente presente in entrambe le aree. Queste pertanto non possono essere considerate gestioni a finalità conservazionistica; il problema di fondo rimane sempre quello della corretta comprensione dell'origine delle differenze evidenziate negli studi.

È principalmente per questo motivo che sovente si suggerisce con insistenza di intervenire rapidamente sulle situazioni deviate, in quanto con il tempo e dopo diverse generazioni di incrocio che produce il mescolamento genetico, le situazioni diventano difficilmente ripristinabili. Per far comprendere la natura del mescolamento genetico si è fatto ricorso all'esempio del mescolamento tra vini tipici locali: ogni zona geografica ha il proprio vino D.O.C. così come ogni bacino ha la propria Trota marmorata D.O.C.; una volta che i

vini come le trote sono state mescolati diventa impossibile tornare a separare ed apprezzarne la differente essenza originaria.

Sulla base dell'esperienza, però, per certi aspetti quasi inspiegabilmente ma sfortunatamente non in tutti i casi, le popolazioni autoctone selvatiche presentano capacità di recupero che possono essere ben superiori a quelle attese. Ciò spiegherebbe anche il fatto per cui, a fronte di decenni di immissioni massive di Trota fario, la Trota marmorata non sia ancora scomparsa. Questo potrebbe significare che fortunatamente solo una minima parte degli sforzi di immissione ha successo. Sono però stati osservati casi in cui le semine anche di materiale ittico alloctono hanno avuto un forte successo, soprattutto nei piccoli torrenti in cui si è continuato a praticare le immissioni per diversi anni ed in contesti limitati in cui si è potuto raccogliere un dato descrittivo robusto. Questo dovrebbe valere anche per le semine di Trota marmorata prodotta in allevamento ed alimentata artificialmente, fatto che è stato ampiamente verificato in diversi nostri studi (dati non ancora pubblicati). È anche per questo motivo che nei suggerimenti gestionali si propongono sempre, salvo rare eccezioni, le semine degli avannotti prima che inizino ad essere alimentati artificialmente, si sconsiglia l'alimentazione artificiale dei riproduttori e si propone con entusiasmo l'incubatoio di valle in alternativa agli impianti a ciclo chiuso.

Sulla base delle nostre esperienze, in attesa che maturi una differente cultura della pesca, si rileva ancora uno scollamento piuttosto profondo tra esigenze politiche di gestione della fauna ittica ed esigenze conservazionistiche. Anni di forzata convivenza sulle stesse acque di queste esigenze diverse hanno prodotto un diffuso malcontento tra i pescatori e la progressiva degenerazione delle popolazioni autoctone. Anche se negli ultimissimi anni alcune popolazioni hanno mostrato una buona ripresa numerica, la maggior parte delle popolazioni presenta una diffusa e progressiva perdita dell'originaria identità morfologico-genetica che, in molti casi, potrebbe anche essere già irrecuperabile.

In linea generale pare pertanto molto più proficuo suddividere le aree di competenza in modo netto tra quelle destinate alla pesca e quelle maggiormente vocate alla protezione delle forme autoctone in cui si effettua una gestione ai soli fini protezionistici. Questo può consentire di recuperare e mantenere l'originalità delle popolazioni autoctone almeno a livello di bacino, quando in realtà in diversi casi e per la complessità degli stessi, sarebbe invece opportuno salvaguardare la diversità a livello di frazioni dello stesso, quindi di sottobacino, come sicuramente nel caso dello Stura, del Pellice, della Dora, del Ticino, del Sarca, dell'Adige, del Brenta, del Piave e molto probabilmente anche in

altri casi. Questa strategia consentirebbe sicuramente di rallentare il processo introgressivo da parte di genotipi alloctoni (Trota fario di immissione) e da parte di quelli non originari (Trota marmorata di bacini idrografici diversi) consentendo inoltre di disporre in futuro delle popolazioni originali conservate con cui ripopolare i tratti precedentemente sfruttati ai soli fini della pesca. Progressivamente, a mano a mano che evolverà la cultura della pesca e dell'ambiente, si dovrebbe rendere possibile il recupero delle popolazioni originali di Trota marmorata, anche in termini numerici e su aree sempre più vaste dove in origine era l'unico salmonide presente.

CONCLUSIONI

Metodi di studio ed interpretativi dei dati finalizzati alla gestione devono essere principalmente rivolti a riconoscere e quantificare quanto a livello di ecosistema, di comunità, di popolazione, a livello fenotipico e genetico, è riconducibile alla manipolazione dell'uomo e quanto invece prodotto dall'evoluzione naturale. Questa posizione sarebbe certamente discutibile, se si considerasse l'uomo anch'esso organismo e quindi parte integrante dell'ambiente e con la possibilità di influenzare con la sua presenza l'evoluzione degli ecosistemi antropizzati. Si tratta solo se accettare o meno il compromesso della ecocompatibilità, cioè se agire sull'ambiente in modo da rispettare il principio secondo cui sarebbe necessario lasciare alle generazioni successive la stessa situazione che è stata lasciata dalle generazioni precedenti, cercando magari nel contempo di comprenderla prima di averla distrutta o irreversibilmente modificata.

Allo stato delle attuali conoscenze si ritiene di non aver motivo di dubitare che vi siano state valide ragioni di tipo ecologico e idrogeologico a determinare la presenza di popolazioni geneticamente strutturate nei Salmonidi autoctoni. Si ritiene anche che le modificazioni ambientali antropiche (dighe, sbarramenti, briglie, invasi artificiali, canalizzazioni, rettifiche e spianature) abbiano interferito con la naturale dinamica di differenziamento tra le popolazioni, in alcuni casi rallentandone il processo (canalizzazioni, by-pass, ecc) in altri casi accelerandolo (dighe e sbarramenti artificiali).

L'attuale stato di differenziamento tra le popolazioni, però, è solo in parte attribuibile a queste cause, perché molto più determinanti e deleterie sono state le transfaunazioni per la gestione della pesca, prima fra tutte l'immissione di Trota fario e poi il trasferimento di Trota marmorata tra bacini diversi. Entrambi questi fenomeni hanno determinato un confondersi della differenza non solo a livello genetico ma anche a livello fenotipico. Occorre capire che quando si effettua una

immissione che produce ibridazione, la popolazione risultante non solo sarà più vicina a quella da cui sono stati presi i pesci immessi, ma risulterà anche più lontana dalla popolazione di origine.

Le significative differenze fra popolazioni di Trota marmorata dei diversi distretti idrografici, evidenziate in recenti studi dalle finalità applicative e gestionali in tutte le regioni dell'areale distributivo, danno maggior forza e significato alle differenze già riscontrate sia a livello genetico (LUCARDA, 1999; SIMONATO, 2001) che morfologico e meristico (MARTINI, 2000), e dovrebbero essere tenute in considerazione nei piani di gestione e conservazione dei patrimoni ittici autoctoni.

L'esistenza di differenze apprezzabili, siano esse frutto di un isolamento tra le diverse popolazioni o degli effetti della selezione naturale e dell'adattamento all'ambiente, rappresenta di per sé motivo sufficiente perché debbano essere mantenute e conservate, soprattutto alla luce del fatto che l'attuale livello di comprensione dei fenomeni biologici ha dei limiti determinati da disponibilità strumentali e che in futuro potrebbero essere superati. Per certi versi sorprende che le differenze siano ancora apprezzabili nonostante le pratiche di transfaunazione di ceppi di Trota marmorata tra diversi fiumi e diversi bacini che dissipano queste

diversità, continuino ad essere eseguite con sprovveduta disinvoltura. Dovrebbe essere ormai risaputo che nel materiale ittico destinato alle immissioni, per errore o meno, vi è un alto rischio che sia contenuto ben altro di quanto si crede, producendo così espansione del fenomeno dell'ibridazione e omogeneizzazione delle diversità originariamente presenti, minando inoltre le potenzialità autoconservative delle forme autoctone.

L'estrema sintesi della gestione ai fini protezionistici è quella che indirizza al mantenimento e potenziamento delle situazioni ben conservate e alla circoscrizione o rimozione delle situazioni create artificialmente che rappresentano un'insidia alla conservazione delle popolazioni d'origine e della biodiversità. Infatti, come più volte dimostrato con mezzi, conoscenze e tecnologie che consentono di monitorare in modo efficiente dinamiche anche complesse, la conservazione della biodiversità naturale mantenendo sotto controllo la diversità artificiale non sono attività sempre compatibili, soprattutto se insistono sulla medesima area. Le situazioni di forzata convivenza e di compromesso tendono a sfuggire di mano o riescono solo a posporre i problemi, ripresentandoli a distanza di tempo in uno stato di ulteriore degrado e talvolta già in stato di irrimediabile compromissione.

BIBLIOGRAFIA

- ANGER B., BERNATCHEZ L., 1997. Complex evolution of a salmonid microsatellite locus and its consequences in inferring allelic divergence from size information. *Mol. Bio. Evol.*, **14** (3): 230-238.
- APOSTOLIDIS A.P., KARAKOUSIS Y., TRIANTAPHYLIDIS C., 1996. Genetic differentiation and phylogenetic relationship among Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations as revealed by RFLP analysis of PCR amplified mitochondrial DNA segments. *Heredity*, **77**: 608-618.
- APOSTOLIDIS A.P., TRIANTAPHYLIDIS C., KOUVATSI A., ECONOMIDIS P.S., 1997. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography among *Salmo trutta* L. (Greek Brown trout) populations. *Molecular Ecology*, **6**: 531-542.
- AVISE J. C., ARNOLD J., BALL R. M., BERMINGHAM E., LAMB T., NEIGEL J. E., REEB C. A., SAUNDERS N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematic. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **18**: 489-522.
- ARGENTON F., BARGELLONI L., PATARNELLO T., COLOMBO L., BORTOLUSSI M., 1992. Risk of introgressive hybridization between *fario* and *marmoratus* morphs of *Salmo trutta* in north-eastern Italy as evidenced by mitochondrial DNA analysis. *Riv. Ital. Acquacoltura*, **27**: 119-126.
- BATTISTELLA S., AMIRANTE G.A., 1992. Applicazione della tecnica elettroforetica per uno studio sulle vitellogenine di *Salmo trutta fario* e *Salmo trutta marmoratus*. *Atti 4° Convegno A.I.I.A.D.*: 399-404.
- BATTISTELLA S., PIZZUL E., 2003. Indagini genetiche su *Salmo trutta marmoratus* (Cuvier, 1817) a supporto delle popolazioni naturali: risultati sulla distribuzione nel Friuli-Venezia Giulia. In: *Atti Convegno Rovereto Salmonidi Alpini: Gestione delle popolazioni autoctone e qualità dei ripopolamenti*: 47-56.
- BERMINGHAM E., AVISE J.C., 1986. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the Southern United States. *Genetics*, **113**: 939-966.
- 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. *Molecular Ecology*, **4**: 285-297.
- BERNATCHEZ L., GUYOMARD R., BONHOMME F., 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*, **1**: 161-173.
- BERNATCHEZ L., 2001. The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, **55** (2): 351-379.
- BERNATCHEZ L., DODSON J.J., 1991. Phylogeographic structure in mitochondrial DNA of the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) in North America and its relationship to

- Pleistocene glaciations. *Evolution*, **45**: 1016–1035.
- BERREBI P., POVZ M., JESENSEK D., CATTANEO-BERREBI G., CRIVELLI A.J., 2000. The genetic diversity of native, stocked and hybrid population of marble trout in the Soa River, Slovenia. *Heredity*, **85**: 277-287.
- BILLINGTON N., HEBERT P.D. 1991. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**: 80-94.
- BONIVENTO P., BATTISTELLA S., AMIRANTE G.A., 1997. Selezione di una popolazione pura di trota marmorata mediante studi biochimici e genetici. *Quaderni E.T.P.*, **26**: 1-14.
- BUDA-DANCEVICH M., PARADISI S., SILLANI L., SPECCHI M., 1982. Osservazioni preliminari sulla distribuzione di alcune specie ittiche del Friuli-Venezia Giulia. *Quaderni Ente Tutela Pesca, Udine, Riv. Limnol.*, **5**, 24 pp.
- CAMPTON D.E., 1987. Natural Hybridisation and Introgression in Fishes. In: Ryman N, Utter F. (eds.) *Population Genetics and Fisheries Management*, University of Washington Press, Seattle: 161-192.
- CAUDRON A., CHAMPIGNEULLE A., LARGE A., 2006. Etats et caractéristiques des populations autochtones de truite commune identifiées en Haute-Savoie et qualité globale des milieux. In: *Identification sauvegarde et réhabilitation des populations de truites autochtones en Vallée d'Aoste et en Haute-Savoie. Rapport final*. AA.VV.; 55-117.
- CELEGATO B., 1999. *Utilizzo dei marcatori microsatelliti nello studio della genetica di popolazione di Salmo trutta L. a livello micrografico*. Tesi di laurea in Scienze Biologiche. Università di Padova.
- COSTANZI C., 2003. Ripopolamento delle acque pubbliche: disposizioni sanitarie. In: Atti Convegno Rovereto *Salmonidi Alpini: Gestione delle popolazioni autoctone e qualità dei ripopolamenti*: 57-64.
- DELLING B., CRIVELLI A.J., RUBIN J.F., BERREBI P., 2000. Morphological variation in hybrids between *Salmo marmoratus* and alien *Salmo* species in the Volarja stream, Soa River basin, Slovenia. *Journal of fish Biology*, **57**: 1199-1212.
- D'ISEP E., 2001. *Utilizzazione dell'analisi d'immagine per lo studio morfometrico di Salmo trutta trutta, Salmo trutta marmoratus (Cuvier, 1817) e del loro ibrido in ambiente naturale*. Tesi di laurea in Scienze Forestali ed Ambientali, Università di Padova, a.a.2000-2001.
- DOROFEEVA E.A., VUKOVIC T., SERATLIC D., 1991. Osteological features of the endemic balkan marble trout, *Salmo marmoratus* Cuv. (Salmonidae). *Journal of Ichthyology*, **31**: 113-121.
- ESTOUP A., ROUSSET F., MICHALAKIS Y., CORNUET J.M., ADRIAMANGA M., GUYOMARD R., 1998. Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: a case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). *Molecular Ecology*, **7**: 339-353.
- ESTOUP A., SOLIGNAC M., HARRY M., CORNUET J., 1993. Characterization of (GT)(n) and (CT)(n) microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucleic Acids Research*, **21** (6): 1427-1431.
- FORNERIS G., PALMEGIANO G.B., ALESSIO G., 1988. Sperimentazione per unità produttive molecolari di allevamento per il recupero e la conservazione di specie autoctone –*Salmo trutta* e *Salmo marmoratus*– in provincia di Torino. *Ambiente e risorse*, **2**: 39-42.
- FORNERIS G., BADINO G., LODI E., 1990. Carta ittica relativa al territorio della regione piemontese. Regione Piemonte. Vol. **I**: 153-180.
- FORNERIS G., LUCARDA A.N., 2006. Caratteristiche genetiche delle popolazioni di trota in Valle d'Aosta. In: *Individualizzazione salvaguardia e riabilitazione delle popolazioni di trota autoctone in Valle d'Aosta e in Alta Savoia*. AA. VV.: 163-185.
- GARCIA-MARIN J.D., PLA C. 1996. Origins and relationships of native populations of brown trout (*Salmo trutta*) in Spain. *Heredity*, **77**: 313-323.
- GENTILI G., 2003. Problemi e prospettive del controllo sanitario rispetto alle esigenze di tutela dei salmonidi autoctoni. In: Atti Convegno Rovereto *Salmonidi Alpini: Gestione delle popolazioni autoctone e qualità dei ripopolamenti*: 65-74.
- GIUFFRA E., BERNATCHEZ L., GUYOMARD R., 1994. Mitochondrial control region and protein coding genes sequences variation among phenotypic forms of brown trout *Salmo trutta* from northern Italy. *MOLECULAR ECOLOGY*, **3**: 161-171.
- GIUFFRA E., GUYOMARD R., FORNERIS G., 1996. Phylogenetic relationships and introgression patterns between incipient parapatric species of Italian brown trout (*Salmo trutta* L. complex). *Molecular Ecology*, **5**: 207-220.
- GRIDELLI E., 1935. Le trote della Venezia Giulia. *Note Ist. Biol. Marina Rovigno*, **16**, 10 pp.
- GRIDELLI E., 1936. I pesci d'acqua dolce della Venezia Giulia. *Boll. Soc. Adriat. St. Nat.*, **35**: 7-140.
- KARAKOUSIS Y., TRIANTAPHYLIDIS C.D., 1988. Genetic relationship among three Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, **35**: 279-285.
- KARAKOUSIS Y., TRIANTAPHYLIDIS C., 1990. Genetic structure and differentiation among Greek brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Heredity*, **64**: 297-304.
- LUCARDA A.N., 1994. *Osservazioni sulla biologia, ecologia e distribuzione di Salmo (trutta) marmoratus (Cuvier, 1817) nel Fiume Brenta*. Tesi di laurea in Scienze Biologiche. Università di Padova.
- LUCARDA A.N., 1999. *Studio della genetica di popolazione di Salmo (trutta) marmoratus (Cuvier, 1817)*. Tesi di Dottorato di Ricerca. Università di Bologna.
- LUCARDA A.N., BARGELLONI L., PATARNELLO T., 1999. Caratterizzazione genetica di popolazioni di *Salmo (trutta) marmoratus* (Cuvier, 1817) mediante l'uso di marcatori genetici nucleari: risultati preliminari. *Quaderni ETP*, **28**: 1-5.
- LUCARDA A.N., FORNERIS G., PATARNELLO T., PASCALE M., 2000. Studio di genetica di popolazione della trota marmorata, trota fario e dei fenotipi ibridi nel bacino del fiume Pellice (Piemonte, Italia). *Quaderni ETP*, **29**: 13-22.
- LUCARDA A.N., D'ISEP E., FORNERIS G., 2004. Utilizzo dell'analisi d'immagine per uno studio morfometrico su *Salmo trutta trutta*, *Salmo trutta marmoratus* e sul loro "ibrido". *Biologia Ambientale*, **18** (1): 167-180.
- LUCARDA A.N., 2006. Atlante fotografico dei fenotipi delle

- trote del reticolo della Valle d'Aosta. Note Tecniche. In: *Individuazione, salvaguardia e riabilitazione delle popolazioni di trota autoctone in Valle d'Aosta e in Alta Savoia*. AA. VV.: 263-270.
- MARTINI M., 2000. *Caratterizzazione morfometrica e meristica di Salmo trutta marmoratus, Salmo trutta trutta e del loro ibrido naturale*. Tesi di laurea in Medicina Veterinaria. Università di Padova.
- MERANER A., BARIC S., PELSTER B., DALLA VIA J., 2007. Trout (*Salmo trutta*) mitochondrial DNA polymorphism in the centre of the marble trout distribution area. *Hydrobiologia*, **579**: 337-349.
- NADALIN G., BATTISTELLA S., AMIRANTE G.A., 1999. Considerazioni preliminari di DNA nucleare come merker genetico per la trota marmorata (*Salmo trutta marmoratus*). *J. Freshwater Biol., Quaderni E.T.P.*, **28**: 13-16, 1999.
- NADALIN G., ANDREON M., BATTISTELLA S., AMIRANTE G.A., 2000. Random Amplified Polymorphic DNA as a genetic marker to characterize a Salmonidae group. *J. Freshwater Biol., Quaderni E.T.P.*, **29**: 13-16.
- NADALIN G., ANDREON M., BATTISTELLA S., AMIRANTE G.A., 2001. Random Amplified Polymorphic DNA come tecnica per la caratterizzazione di un gruppo di salmonidi. *J. Freshwater Biol., Quaderni E.T.P.*, **30**: 1-3.
- PANEBIANCO D., 2005. *Utilizzo dell'analisi d'immagine per lo studio della variabilità morfologica in popolazioni naturali di Salmo trutta marmoratus (Cuvier, 1817)*. Tesi di laurea in Scienze Naturali, Università di Torino, a.a. 2004-2005.
- POMINI F.P., 1939. Studi sullo sviluppo delle trote italiane. Stadi larvali e primi stadi postlarvali della trota del Piave. *Arch. Zool. Ital.*, **27**: 407-428.
- POMINI F.P., 1940a. Il problema biologico dei *Salmo*. *Arch. Zool. Ital.*, **28**: 421-481.
- POMINI F.P., 1940b. La livrea delle trote ed il reale significato del loro polimorfismo. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat.*, **79**: 69-84.
- PRESA P., KRIEG F., ESTOUP A., GUYOMARD R., 1994. Diversity and genetic management of brown trout: analysis of the polymorphism of allozymic and microsatellite loci. *Genetic Selection Evolution*, **26**: 183-202.
- PRESA P., GUYOMARD R., 1996. Conservation of microsatellites in three species of salmonids. *Journal of Fish Biology*, **49**, 1326-1329.
- SALVIATI S., MARCONATO E., MAIO G., MARCONATO A., LUCARDA N. A., 2000. Studio sulla popolazione di trota marmorata (*Salmo trutta marmoratus*) del fiume Brenta in Provincia di Vicenza. *Natura Vicentina*, **4**: 49-68.
- SANZ N., CORTEY M., PLA C., GARCIA-MARIN J.L., 2006. Hatchery introgression blurs ancient hybridization between brown trout (*Salmo trutta*) lineages as indicated by complementary allozymes and mtDNA markers. *Biological Conservation*, **130**: 278-289.
- SIMONATO M., 2001. *Studio della variabilità genetica mitocondriale in popolazioni italiane di Salmo trutta*. Tesi di laurea in Scienze Biologiche. Università di Padova.
- SLATKIN M., 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, **139**: 457-462.
- ZIDARIC B., 2003. L'esperienza slovena di allevamento e ripopolamento per la tutela attiva delle popolazioni di trota marmorata. In: *Atti Convegno Rovereto Salmonidi Alpini: Gestione delle popolazioni autoctone e qualità dei ripopolamenti*: 75-82.