

# Comunità a cladoceri di laghi del Bacino del Po: risultati ottenuti nell'ambito del Progetto Europeo *Long distance dispersal of Aquatic KEy Species (LAKES)*

Marina Manca<sup>1\*</sup>, Fiorenza G. Margaritora<sup>2</sup>, Riccardo De Bernardi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CNR Istituto per lo Studio degli ecosistemi, Largo Tonolli 50, 28922 - Verbania Pallanza

<sup>2</sup> Dipartimento Biologia Animale e dell'Uomo, Università La Sapienza, via dell'Università 32 - 00185 Roma

\* Referente per la corrispondenza: fax 0323 556513; m.manca@ise.cnr.it

Pervenuto il 18.2.2005; accettato il 10.5.2005

## Riassunto

Nell'ambito del Progetto Europeo *Long distance dispersal of Aquatic KEy Species - LAKES* (ENV4-CT97-0585), avente come oggetto l'analisi delle relazioni tra la dispersione a lungo raggio di uova durature e propaguli, e la diversità delle comunità di angiosperme acquatiche e di cladoceri, è stata portata a termine un'indagine volta all'identificazione delle specie componenti le comunità a cladoceri di 29 laghi italiani compresi nel Bacino del Fiume Po. In aggiunta alle specie parentali sono stati identificati gli ibridi tra specie congeneriche; la diagnosi veniva effettuata congiuntamente mediante analisi genetiche e fenotipiche, fatto che ha permesso di mettere a punto i criteri per una discriminazione morfologica, brevemente riassunti in questa sede. In un ragguardevole numero di casi, in aggiunta agli ibridi di *Daphnia* del complesso *hyalina-galeata-cucullata*, sono stati identificati anche ibridi di *Eubosmina* (*longispina x coregoni*), confermando quanto emerso in altri ambienti europei. I risultati dell'indagine possono contribuire al dibattito sulle ipotesi relative alla comparsa degli ibridi, ed in particolare al quesito se essa sia un fenomeno recente, relazionabile all'immissione nell'ambiente acquatico di sostanze xenobiotiche, ovvero sia sempre esistita, e di essa solo oggi si sia venuti a conoscenza, in conseguenza dell'affinamento delle tecniche diagnostiche, che consente di identificare non solamente le specie, ma anche i cloni. La buona corrispondenza fra analisi genetiche ed analisi fenotipiche consentirà di estendere gli studi sull'occorrenza degli ibridi anche a campioni raccolti in passato, non idonei ad analisi genetiche, in quanto abitualmente preservati in formaldeide, e di far luce su questo fenomeno che, pur non essendo nuovo, presenta nei cladoceri risvolti quanto mai interessanti.

PAROLE CHIAVE: biodiversità / Bacino Fiume Po / *Daphnia* / *Bosmina* / ibridi

## Cladocera communities of lakes in the Po River watershed: results obtained within the framework of the European Project LAKES (*Long distance dispersal of Aquatic KEy Species*)

The Cladocera communities of 29 lakes in the Po River catchment were analyzed in the framework of the European Project *Long distance dispersal of Aquatic KEy Species - LAKES* (ENV4-CT97-0585), aimed at identifying the role of long distance dispersal of propagules and resting eggs for the diversity of Cladocera and aquatic angiosperm communities. In addition to parental species, also putative hybrids among con-generic species were identified, on the basis of genetic as well as phenotypic analysis, thus allowing a validation of the diagnostic traits for an identification on a morphological basis. These traits are briefly reported herewith. In addition to *Daphnia* of the *hyalina-galeata-cucullata* complex, also hybrids of *Eubosmina* (*longispina x coregoni*) were identified, thus confirming the results of studies in other European sites. The results can contribute to the debate on the appearance of Cladocera hybrids, particularly on whether they are a recent phenomenon, related to the presence of xenobiotics in the aquatic environment, or an old one, having the hybrids presence remained undetected until modern sophisticated techniques became available, allowing a discrimination not only of species, but even of clones. The good correspondence between genetic and phenotypic analyses will enable us to identify the eventual presence of hybrids also in old formaldehyde-preserved samples, that are unsuitable for genetic analyses.

KEY WORDS: biodiversity / Po river watershed / *Daphnia* / *Bosmina* / hybrids

## INTRODUZIONE

Il lavoro oggetto di questo studio si inserisce nel contesto più ampio dell'attività svolta nell'ambito del Progetto Europeo *Long distance dispersal of Aquatic Key Species* - LAKES (ENV4-CT97-0585), finanziato dalla Unione Europea e portato a termine da sette diversi gruppi di ricerca, afferenti a Istituti e Università di Spagna, Gran Bretagna, Italia, Olanda, Norvegia e Spagna.

Il Progetto LAKES ha avuto come obiettivo prioritario lo studio della relazione tra la presenza di specie di uccelli acquatici migratori e la diversità dei popolamenti zooplanctonici e a macrofite in ambienti acquatici del continente europeo. In particolare, sono state analizzate le possibili conseguenze sulla diversità, derivanti dalle modificazioni delle rotte migratorie per effetto dell'inquinamento e dei cambiamenti climatici.

In questo lavoro sono presentati i risultati dell'indagine volta all'identificazione delle specie che costituiscono le comunità a cladoceri di 29 laghi italiani compresi nel Bacino del Fiume Po.

Gli ecosistemi acquatici sono frammentati e spesso isolati, per cui il trasporto passivo rappresenta un importante mezzo di dispersione degli organismi, che consente di mantenere integra una struttura di metapopolazione delle specie ad ampia diffusione, influenzando, nel contempo, la diversità sia genetica che complessiva. Il trasporto passivo è in genere associato alla presenza di avifauna, soprattutto di specie migratorie.

Inquinamento, eutrofizzazione, variazioni climatiche e perdita di zone umide stanno minando sia la diversità degli ecosistemi che le vie migratorie degli uccelli acquatici; si veda a questo proposito il rapporto del WORLD WILDLIFE FUND su "*Climate change Threats to migratory birds*" (1997).

Il progetto LAKES ha avuto come obiettivo lo studio delle relazioni che intercorrono tra cladoceri e macrofite con le comunità di uccelli acquatici, ed ha analizzato i possibili effetti dei cambiamenti nelle rotte migratorie e sulla biodiversità degli ecosistemi acquatici. Il progetto ha considerato: 1) la valutazione della dispersione di propaguli e del flusso genico di piante acquatiche e zooplancton in differenti corpi d'acqua europei; 2) lo sviluppo di modelli basati sulla conoscenza specifica dei processi per simulare l'impatto sulla diversità interspecifica e genetica di ecosistemi acquatici delle potenziali variazioni nelle rotte migratorie dell'avifauna acquatica in Europa.

La biodiversità delle comunità di macrofite acquatiche (Potamogetonaceae e Ruppiaceae) e di cladoceri (Anomopoda, Ctenopoda, Haplopoda e Onychopoda) è stata studiata a livello del continente europeo, mediante campionamenti in bacini situati all'interno e all'esterno delle principali rotte migratorie degli uccelli

acquatici.

Sono state considerate le caratteristiche proprie dell'habitat, quali le dimensioni del lago, le variazioni nei microhabitat, la produttività primaria. Le interazioni biotiche, dovute alla presenza di macrofite e pesci predatori, sono state ritenute importanti, sebbene di difficile quantificazione. Su scala più ampia si è valutato che la ricchezza in specie fosse influenzata da fattori climatici e da barriere geografiche che limitano la dispersione. Gli effetti della dispersione possono però dipendere da altri fattori naturali e da perturbazioni di origine antropica. Le indagini hanno quindi cercato di discriminare quanto la variazione della ricchezza in specie fosse dovuta a fattori intrinseci, o a processi di dispersione (AA. VV., 2001).

L'indagine è stata svolta a livello di bacini idrografici, superando così la nozione di lago come unità di studio. Sono stati presi in esame ecosistemi lacustri situati nei bacini di alcuni importanti fiumi europei: il bacino inferiore del fiume Guadalquivir (Spagna), la sinistra idrografica del Fiume Po, il tratto terminale del Reno e della Maas (Olanda), l'area Fife (Scozia), diversi bacini della Norvegia centrale, e il delta del Fiume Petchora (Russia). In totale, sono stati campionati 40 laghi in Russia, 30 in Norvegia, 34 in Scozia, 32 in Olanda, 29 in Italia e 33 in Spagna.

In questo articolo ci si limiterà alla presentazione di una parte dei risultati relativi all'analisi delle specie di cladoceri zooplanctonici rinvenuti nei laghi del bacino padano considerati nell'ambito del progetto LAKES. Lo studio della composizione e della ricchezza in specie delle comunità a cladoceri, coordinata dal CNR ISE di Verbania, ha consentito inoltre di aggiornare la lista delle specie presenti nei laghi italiani (MARGARITORA, 2005), includendovi anche quelle specie che, morfologicamente intermedie tra specie parentali affini, siano da ritenersi ibridi fra esse. Il progetto prevedeva infatti la distinzione, in tutti i siti presi in esame, degli ibridi delle specie parentali di *Daphnia* e *Bosmina*, da effettuarsi congiuntamente su base morfologica e su base genetica, mediante l'utilizzo di allozimi e di marker di DNA nucleare e DNA mitocondriale (AA VV, 2002).

## MATERIALI E METODI

### Area di studio

Sono stati analizzati ventinove ambienti lacustri situati nella sinistra idrografica del fiume Po (Fig. 1).

Il campionamento è stato effettuato nelle estati 1998 e 1999. Ad ogni sopralluogo sono stati raccolti campioni di zooplancton mediante retinate verticali effettuate nel punto di massima profondità con retino a maglie da 80 µm e apertura della bocca di 30 cm. I

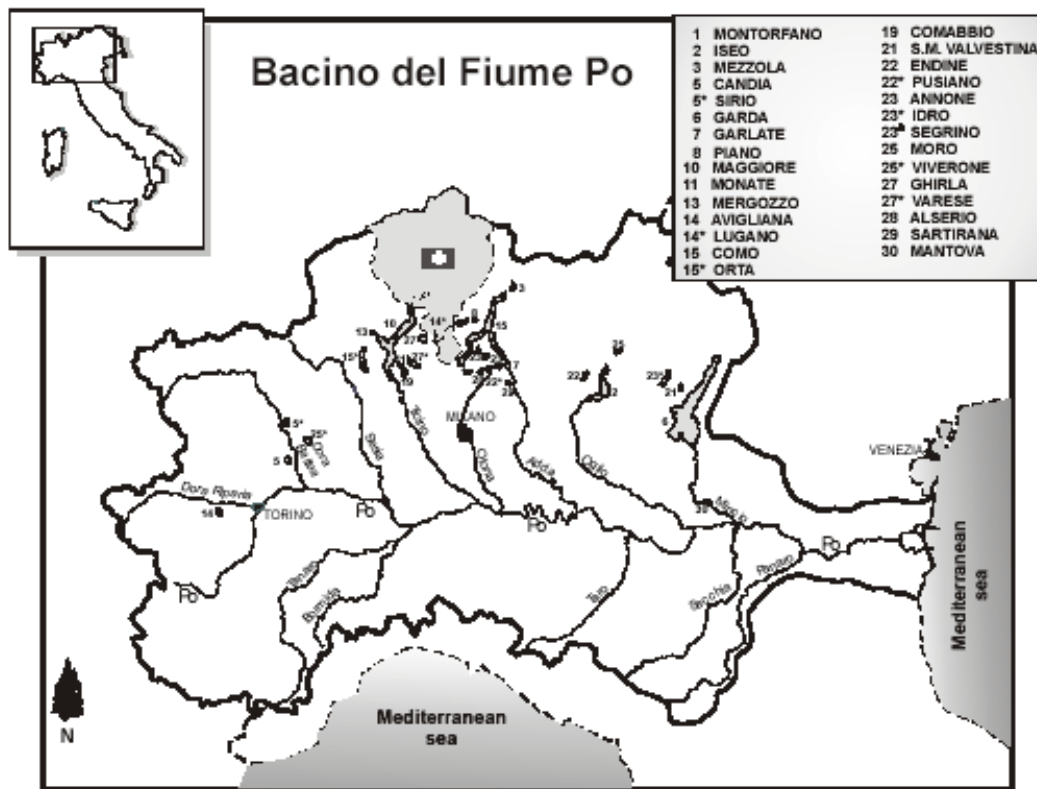


Fig. 1. Laghi del Bacino del Fiume Po campionati nell'ambito del Progetto Europeo LAKES.

campioni sono stati fissati e preservati in etanolo puro, onde consentire anche l'analisi del DNA. Nei laghi profondi è stato campionato lo strato compreso tra la superficie e la quota batimetrica di 50 m. Nei bacini lacustri meno profondi il campionamento ha interessato tutta la colonna d'acqua fino a pochi metri dal fondo.

Nel caso del Lago d'Iseo, che è meromittico, il campionamento è stato effettuato solo sulla colonna d'acqua più superficiale (0-10 metri). In aggiunta, nella stessa stazione, sono stati raccolti campioni di sedimento superficiale, prelevato con draga van Veen o con carotatori. Nei sedimenti sono infatti presenti resti di cladoceri che rendono conto della variabilità spaziale e temporale di queste comunità. L'analisi congiunta dello zooplancton vivente e di quello fossile consente così di sopperire al problema dell'analisi della successione stagionale, che non può essere risolto in altro modo quando si vogliono affrontare studi estensivi. I campioni di sedimento sono stati conservati a  $-60^{\circ}\text{C}$  e al buio. Di questi risultati si riferisce in altra sede (MANCA e COMOLI., in preparazione).

In ogni lago sono stati misurati direttamente sul posto conducibilità e pH (sonda multiparametrica Ocean seven modello 401, Hydronaut) e trasparenza delle acque come profondità di scomparsa del disco di

Secchi. Campioni d'acqua sono stati prelevati ed analizzati per il contenuto di calcio e fosforo totale (TARTARI e MOSELLO 1997). Al momento del prelievo sono stati determinati profondità (mediante sonda di cui sopra), coordinate geografiche (GPS Bluetooth 308). Per ogni lago è stata calcolata l'area della superficie riferita al livello idrometrico medio (così come riportato in DODSON, 1992) e sono stati stimati il numero e l'area dei laghi circostanti entro il raggio di 10 e di 20 km su mappe cartografiche a scala 1: 200000.

#### Analisi microscopica dei campioni zooplanctonici

L'identificazione delle specie presenti e le abbondanze relative sono state svolte per intero al microscopio a dissezione con ingrandimento fino a 50x. Per l'identificazione è stata utilizzata la guida di MARGARITTO (1985), integrata con i criteri diagnostici sulla determinazione degli ibridi di *Daphnia* riportati in WOLF e MORT (1986), GIESSLER (1997) e FLÖSSNER (1993 e 2000), già applicati ai campioni del Lago Maggiore (MANCA e DE BERNARDI, 1992). Per *Bosmina* si è fatto riferimento principalmente a LIEDER (1991 e 1996). I risultati delle analisi genetiche sul DNA nucleare e mitocondriale di *Daphnia* sono riportati da SCHWENK *et al.* (2000).

## RISULTATI

### Caratteristiche dei laghi investigati

Le coordinate geografiche dei laghi sono comprese tra 07°23'12" E (Lago Avigliana) e 11°42'00" E (Lago di Garda). La latitudine varia tra i 45°03'53" N del Lago Avigliana e i 46°02'13" N del Lago Piano (Tab. I). L'altitudine è compresa tra i 18 m s.l.m. del Lago di Mantova Superiore e i 504 m s.l.m. del S. Maria Valvestina. L'area della superficie lacustre è compresa tra i 357 km<sup>2</sup> del lago di Garda e gli 0,11 km<sup>2</sup> del Lago Segrino. Analogamente, si osserva un grande intervallo di profondità che va dai 410 m del Lago di Como ai 18 m del Lago di Mantova Superiore.

La trasparenza è risultata compresa tra un minimo

di 0,6 m (Lago di Sartirana) e un massimo di 5,9 m del Lago di Montorfano; il pH variava tra 6,58 (Orta) e 8,46 (Sartirana); la conducibilità a 20 °C tra 51 µS cm<sup>-1</sup> (Mergozzo) e 467 µS cm<sup>-1</sup> (Piano). Le concentrazioni del fosforo totale erano comprese tra un minimo di 1 µg L<sup>-1</sup> (Mergozzo) a valori superiori a 300 µg L<sup>-1</sup> (laghi Alserio, Avigliana, Comabbio e Varese). Altrettanto ampio è risultato l'intervallo di concentrazione del calcio con un minimo di 5,5 mg L<sup>-1</sup> del Lago di Mergozzo, situato in un bacino nel quale predominano le rocce acide, e i 67,5 mg L<sup>-1</sup> del Lago di Alserio, ubicato in un bacino a prevalente componente calcarea.

La fauna ittica era rappresentata da specie comuni: carpa, scardola, tinca, persico, persico trota, persico sole, alborella e anguilla.

La valutazione delle specie di uccelli acquatici mi-

**Tab. I.** Lista dei laghi del Bacino del Po campionati nell'ambito del Progetto Europeo LAKES.

Lago	N°	Prov.	long E	lat N	altit. m s.l.m.	area km <sup>2</sup>	prof.max m	pH	Cond.20°C µS cm <sup>-1</sup>	Ca <sup>++</sup> mg L <sup>-1</sup>	P <sub>tot</sub> µg L <sup>-1</sup>
Alserio	28	CO	09°13'00"	45°47'05"	260	1,23	7	7,31	408	67,5	367
Annone Grande	23	LC	09°20'58"	45°48'34"	224	3,81	10	7,66	319,8	40,5	221
Avigliana	14	TO	07°23'12"	45°03'53"	352	0,83	26	7,64	386	46	310
Candia	5	TO	07°54'43"	45°19'25"	226	1,35	7,7	8,2	119	18	54
Comabbio	19	VA	08°41'31"	46°45'47"	243	3,58	7	7,04	239,2	37,9	320
Como	15	CO	09°16'00"	46°00'00"	198	145,91	410	7,56	172,9	24,2	43
Endine	22	BG	09°56'17"	45°46'40"	334	2,34	9,4	7,7	362	54,75	22
Garda	6	BS	11°42'00"	45°40'00"	65	367,94	346	8,06	215,8	32,9	16
Garlate	7	LC	09°24'20"	45°49'15"	198	4,47	33	7,25	177,4	25,3	111
Ghirla	27	VA	08°49'20"	45°55'01"	442	0,24	11	7,03	154,8	18,3	41
Idro	23*	BS	10°31'00"	45°46'00"	368	11,50	120,5	7,54	336	50	106
Iseo	2	BS	10°04'00"	45°44'00"	186	60,94	258	7,86	265,7	42,7	31
Lugano(Porlezza)	14*	VA	08°58'59"	45°58'00"	271	27,5	16	8,07	224,1	33,6	11
Maggiore	10	VB	08°58'59"	45°58'00"	194	212,51	372	7,36	149,1	21,5	5
Mantova Superiore	30	MN	10°48'21"	45°09'08"	18	2,71	4	7,63	358,1	53	82
Mergozzo	13	VB	08°27'47"	45°57'23"	194	1,83	73	6,82	50,7	5,5	1
Mezzola	3	SO	09°26'27"	46°11'56"	198	4,93	12	7,32	138,6	21,2	14
Monate	11	VA	08°39'52"	45°47'10"	266	2,51	25	7,06	105,3	14,2	6
Montorfano	1	CO	09°08'15"	45°46'57"	397	0,46	6,8	8,5	185	35	12
Campo Moro	25	SO	10°09'27"	45°51'47"	380	0,17	42,2	7,37	271,2	42,3	129
Orta	15	NO	08°24'00"	45°49'00"	290	18,02	143	6,58	112,1	13,5	4
Piano	8	CO	09°09'43"	46°02'13"	279	0,63	12	7,2	467**	62,8	42
Pusiano	22*	CO	09°16'23"	45°48'08"	259	4,95	20	7,52	314,6	51,5	151
Sartirana	21	LC	09°25'32"	45°42'57"	318	0,80	2,7	8,46	284,8	39,4	136
Segrino	29	CO	09°16'02"	45°49'45"	374	0,11	8,1	8,07	278	49,6	31
Sirio	23	BI	07°53'04"	45°29'05"	271	0,38	43	7,13	198,5	26,8	84
S.MariaValvestino	5*	BS	10°36'35"	45°43'03"	504	0,30	50	8,15	254,3	36	6
Varese	27	VA	08°45'00"	45°48'00"	238	14,95	23	7,3	301,8	45,5	329
Viverone	25	BI	08°03'05"	45°24'05"	230	5,58	45	7,39	251,5	34,7	164

Nota: Le attribuzioni delle regioni e delle province sono fatte sulla base dell'importanza della superficie relativa.

gratori è stata svolta considerando dati relativi a censimenti o pubblicazioni specifiche (SERRA *et al.*, 1997). Sulla base di questi studi, lo svasso piccolo è la specie più abbondante nel 66% degli ambienti considerati; seguono per ordine d'importanza il gabbiano comune e, in misura minore e con pari importanza, folaga, moretta codona e airone cinerino (Tab. II). Sono presenti anche numerose specie rare.

### Comunità a cladoceri

In totale, sono stati rinvenuti 27 taxa di cladoceri (Tab. III) e, in uno stesso ambiente, sono stati individuati fino ad 11 diversi taxa, tra specie parentali ed ibridi. I laghi con un numero di taxa  $\geq 6$  erano quelli per i quali risultava mediamente più elevata la presenza di laghi entro un raggio di 10 o 20 km (in media 6,18); per gli altri, il numero di specie risultava in media  $\leq 3,7$  (3,50 per quelli con numero di specie tra 1 e 3; 3,73 per quelli con un numero di specie compreso tra 4 e 5). Questo consente di confermare quanto evidenziato dal progetto nel suo complesso, vale a dire che la diversità del popolamento a cladoceri su scala regionale è influenzata dal numero di ambienti acquatici pre-

senti nell'areale considerato (HOBBAEK *et al.*, 2002).

*Daphnia* è risultata presente in tutti i laghi campionati. In sei di questi era presente l'ibrido *D. hyalina* x

**Tab. II.** Presenza delle diverse specie componenti l'avifauna migratrice nei laghi italiani studiati nell'ambito del Progetto Europeo LAKES. Dati ottenuti a partire dal censimento del 1991-1995, ad eccezione di quelli relativi ai laghi Avigliana e Candia, per i quali i dati sono stati tratti da MINGOZZI e MAFFEI, 1987.

specie	nome comune	Presenza (n. di casi) %	
<i>Anas platyrhynchos</i>	germano reale	1	3
<i>Ardea cinerea</i>	airone cinerino	4	14
<i>Aythya ferina</i>	moriglione	1	3
<i>Botaurus stellaris</i>	tarabuso	1	3
<i>Clangula hyemalis</i>	moretta codona	4	14
<i>Cygnus olor</i>	cigno reale	1	3
<i>Fulica atra</i>	folaga	4	14
<i>Larus canus</i>	gavina	1	3
<i>Larus rudibundus</i>	gabbiano comune	5	17
<i>Podiceps cristatus</i>	svasso maggiore	2	7
<i>Podiceps nigricollis</i>	svasso piccolo	19	66
<i>Tachybaptus ruficollis</i>	tuffetto	2	7

**Tab. III.** Elenco e abbondanza relativa dei taxa a Cladoceri rinvenuti nell'insieme dei laghi italiani del Bacino del Po campionati nell'ambito del Progetto Europeo LAKES.

codice	Taxon	ABBONDANZA RELATIVA				
		presente	abbondante	dominante	totale	%
EULO	<i>Eubosmina longispina</i>	3	2	0	5	17
EULC	<i>Eubosmina longicornis kessleri</i>	8	2	2	12	41
EULC	<i>Eubosmina longispina x coregoni</i>	2	0	0	2	7
BOLO	<i>Bosmina longirostris</i>	9	2	2	13	45
CEPU	<i>Ceriodaphnia pulchella</i>	3	0	1	4	14
CEQU	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	4	2	0	6	21
DIPH	<i>Diaphanosoma brachyurum</i>	7	4	8	19	66
LASE	<i>Latona setifera</i>	1	0	0	1	3
MOAF	<i>Moina affinis</i>	2	0	0	2	7
MOMI	<i>Moina micrura</i>	0	1	0	1	3
DALO	<i>Daphnia longispina</i>	1	0	0	1	3
DAAM	<i>Daphnia ambigua</i>	1	0	0	1	3
DAHY	<i>Daphnia hyalina</i>	7	3	4	14	48
DAGA	<i>D. galeata</i>	1	0	2	3	10
DACU	<i>Daphnia cucullata</i>	6	0	0	6	21
DAHG	<i>Daphnia hyalina x galeata</i>	3	1	0	4	14
DAGH	<i>Daphnia galeata x hyalina</i>	10	5	2	17	59
DAHC	<i>Daphnia hyalina x cucullata</i>	4	2	1	7	24
DAGC	<i>Daphnia galeata x cucullata</i>	6	0	0	6	21
LEKI	<i>Leptodora kindtii</i>	11	0	0	11	38
BYLO	<i>Bythotrephes longimanus</i>	3	0	0	3	10
POPE	<i>Polyphemus pediculus</i>	1	0	0	1	3
CHSH	<i>Chydorus sphaericus</i>	2	0	0	2	7
LELE	<i>Leydigia leydigi</i>	1	0	0	1	3

*galeata*, mentre in 7 casi è stata riscontrata la presenza unicamente di una specie parentale. Due di queste specie (*D. longispina* e *D. ambigua*) sono state rinvenute in un solo lago (rispettivamente, nel Lago d'Orta e nel Lago di Mantova Superiore). Gli ibridi più diffusi sono risultati quelli tra *D. hyalina* e *D. galeata* (Tab. III), all'interno dei quali è stata effettuata una distinzione tra il tipo morfologico più prossimo a *D. hyalina* (*hyalina* x *galeata*) e quello più prossimo a *D. galeata* (*D. galeata* x *D. hyalina*). La possibilità di reincontro con le specie parentali infatti, fa sì che gli ibridi diano luogo a morfotipi che possono avvicinarsi in misura maggiore o minore a quelli di una delle due specie dalle quali essi sono derivati.

All'interno del genere *Bosmina*, il sottogenere *Bosmina* è risultato presente in 13 laghi, in 4 dei quali *B. longirostris* era l'unica specie presente. In numero maggiore sono risultati i laghi nei quali erano presenti organismi appartenenti al sottogenere *Eubosmina*, tipicamente con una sola specie, la più diffusa delle quali è risultata *E. longicornis kessleri*. Anche in questo caso, così come per *Daphnia*, in aggiunta alle specie parentali è stato rinvenuto l'ibrido (*longispina* x *coregoni*).

Tra i predatori, il cladocero di gran lunga più abbondante è risultato *Leptodora kindtii*, presente nel 38% dei laghi considerati. In due casi esso è risultato presente insieme a *Bythotrephes longimanus*. Quest'ultimo è stato altresì rinvenuto da solo in un caso (S. Maria Valvestino). La presenza di *Polyphemus pediculus*, specie appartenente alla stessa famiglia di *B. longimanus*, è risultata limitata al solo Lago di Mergozzo, nel quale il campionamento è stato effettuato in prossimità della linea di costa. In dieci laghi sono state inoltre rinvenute larve di *Chaoborus* al IV e V stadio, predatrici di *juvenes* di cladoceri: la presenza dei cairaoni da esse prodotte è in grado di indurre modificazioni fenotipiche delle loro prede, quali i dentelli nucale e rostrale, puntualmente rinvenuti nel genere *Daphnia*.

La presenza degli ibridi di *Daphnia* è stata confermata anche da analisi genetiche ed elettroforetiche (allozimi). Tale conferma è soprattutto resa necessaria nel caso di individui reincrociati con una specie parentale: analisi di questo tipo sono in corso in diversi laghi del nord Italia, nel contesto del Progetto di Ricerca del CNR ISE di Pallanza con l'EAWAG di Dübendorf, relativo a "Analisi dell'infezione di popolazioni di *Daphnia* da parte di protozoi parassiti in laghi a diverso stato trofico: resistenza all'infezione e diverso successo di ibridi e specie parentali" (MANCA, 2004a). In questo caso le analisi morfometriche sono affiancate esclusivamente da quelle di allozimi, meno costose di quelle del DNA e altrettanto informative. Un esempio del raffronto tra le due tecniche è quello rappresentato in Fig. 2, ove si riportano i risultati di un'analisi effettuata

nel Lago Maggiore nel maggio 2003 (MANCA, 2004b).

## DISCUSSIONE

### Analisi differenziale di specie parentali e di ibridi fra esse relativamente a *Daphnia* e *Bosmina*

FLÖSSNER (1993) ha ampiamente dimostrato la necessità di dare una nomenclatura specifica ai fenotipi intermedi, che sono espressione di ibridi di specie congeneriche e le cui popolazioni sono caratterizzate da una certa stabilità cronologica, sostenuta dalla forte limitazione di reincroci. Tali forme vengono pertanto descritte da FLÖSSNER (2000) come specie ibridogene a cui viene data una nomenclatura specifica.

Analoga considerazione viene fatta, relativamente a *Bosmina*, da LIEDER (1991 e 1996).

I caratteri diagnostici per la discriminazione tra le specie parentali del complesso *D. hyalina-galeata cucullata* dai loro ibridi sono basati sulla forma e le dimensioni dell'antennula *mound*, la forma del margine ventrale del capo e il profilo della fronte e del rostro, nonché sulla posizione degli estetaschi delle antennule rispetto all'apice del rostro.

Sostanzialmente invariati rispetto a MARGARITORA (1985) sono rimasti i criteri per le diagnosi differenziali tra *Daphnia longispina* e *Daphnia hyalina*, consistenti nella valutazione della assenza/presenza di carena e cresta, della diversa posizione del punto più alto del capo (all'altezza dell'occhio/posteriormente) e del contorno del capo sopra l'occhio (fortemente rigonfio/non rigonfio).

LIEDER (1991) riconosce le specie *Eubosmina crassicornis* ed *E. coregoni* come caratterizzate dalla "benché minima indicazione di un mucrone o di una setola

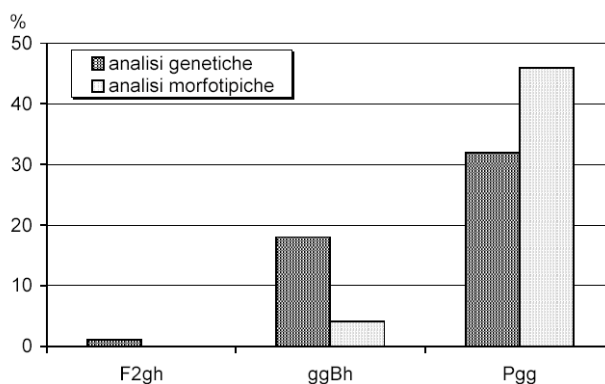


Fig. 2. Raffronto tra i risultati di analisi genetiche e morfometriche su uno stesso campione di *Daphnia hyalina galeata* del Lago Maggiore; (F2gh=reincrocio alla F2 dell'ibrido *hyalina* x *galeata*; ggBh= reincrocio dell'ibrido *hyalina* x *galeata* con la parentale *hyalina*, Pgg= parentale *galeata*). Da MANCA (2004b).

*kurzi*”, e indica come diagnosi differenziale tra le due la lunghezza delle antennule (da corte a molto corte in *E. coregoni* e da medio-lunghe a lunghe in *E. crassicornis*). La presenza dei mucroni e della setola *kurzi* consente poi di identificare le altre due specie, *E. longispina* ed *E. longicornis*, le cui differenze sono basate sul numero delle incisive e sulla lunghezza della prima antenna, che è relativamente corta (50% o meno della lunghezza del corpo) nella prima specie, da media a lunga nella seconda.

I tipi intermedi, nei quali la setola *kurzi* ed il mucrone risultavano appena accennati, sono stati pertanto diagnosticati come ibridi tra le specie parentali.

### Il fenomeno dell'ibridazione in *Daphnia* e *Bosmina*

Secondo FLÖSSNER (1993) l'ibridazione delle specie planctoniche di *Daphnia* del complesso *hyalina-galeata* non è un fenomeno recente, legato all'eutrofizzazione “culturale” dei laghi, bensì è riconducibile quasi sicuramente a tutto il periodo post-glaciale.

Studi recenti hanno inoltre dimostrato che essa è comune tra i cladoceri e gli studi su *Daphnia* del gruppo *longispina* hanno messo in luce come spesso gli ibridi possano coesistere con le loro specie parentali, divenendo in molti casi dominanti (MANCA e MARCHITELLI, 2004). Per spiegare la persistenza di ibridi sono state formulate due diverse teorie. La prima, detta delle “*tension zone models*” (BARTON e HEWITT, 1985), postula l'esistenza di un equilibrio dinamico tra la dispersione degli ibridi e la selezione naturale contro di essi, dovuta ad una incompatibilità genetica dell'ibrido con il genoma parentale. Tale teoria si basa sull'assunzione che il valore della *fitness* sia indipendente dall'ambiente. La seconda teoria è quella dell'“*hybrid superiority model*” (MOORE, 1997) e postula che, in ambienti intermedi, gli ibridi abbiano una *fitness* maggiore rispetto a quella delle specie parentali. Quest'ultima teoria può essere applicata agli ambienti acquatici, poiché essi sono caratterizzati da forte variabilità temporale, e ad organismi con partenogenesi amittica, quali *Daphnia* (HEBERT e WARD, 1972). Alcuni studi di laboratorio hanno effettivamente dimostrato che, in specifiche condizioni ambientali, gli ibridi di *Daphnia* hanno una *fitness* più alta (SCHWENK e SPAAK, 1997). Inoltre, occorre sottolineare come essi siano in grado di riprodursi sia sessualmente che per partenogenesi e quindi siano in grado di incrementare rapidamente la densità delle loro popolazioni. Per questo motivo, possono pertanto persistere per lunghi periodi, in particolare quando le condizioni ambientali siano loro più favorevoli (SPAAK, 1997).

*Daphnia* si riproduce tramite partenogenesi per la maggior parte dell'anno; la fase sessuale avviene per

brevi periodi ed è indotta da fattori sfavorevoli, quali basse temperature, densità di popolazione elevate e la predazione da parte dei pesci. Se due specie di *Daphnia* hanno simultaneamente la riproduzione sessuata, l'ibridazione interspecifica risulta inevitabile. Studi recenti hanno anche dimostrato che gli ibridi possono essere prodotti regolarmente e il risultato della presenza di ibridi fertili può portare anche al reinrocio (SPAAK, 1997); questo sistema di crescita e la riproduzione partenogenetica degli ibridi dovrebbero quindi favorire la loro persistenza e la formazione di linee poliploidi. Alla luce delle considerazioni precedentemente esposte è quindi importante sottolineare che l'identificazione dei diversi taxa risulta necessaria sia per poter capire la loro dinamica di popolazione, la struttura delle comunità e il loro comportamento, sia in quanto l'introggressione è causa di rapida speciazione (LIEDER, 1991). Tuttavia, il fatto che reinrocio e introggressione sembrino abbastanza limitati (SCHWENK e SPAAK, 1997) fa pensare all'esistenza di barriere che mantengono l'integrità genetica della coesistenza dei vari taxa.

### CONCLUSIONI

Nel bacino del Fiume Po, oltre a specie di cladoceri già segnalate in passato, sono stati segnalati organismi classificabili sia su base morfotipica che su base genetica come appartenenti a ibridi tra specie parentali di *Daphnia* e di *Bosmina*. Tali ibridi sono da ritenersi, analogamente a quanto da tempo segnalato in diversi ambienti acquatici dell'Europa, componenti stabili del popolamento, distinguibili anche su basi fenotipiche. La possibilità di una diagnosi su base morfologica è di fondamentale importanza in quanto essa è applicabile anche ai campioni zooplanctonici per i quali sia stata utilizzata, quale mezzo di fissazione, la formaldeide (solitamente al 5-10%), sostanza che rende i campioni inutilizzabili per le analisi genetiche. Solamente la conservazione in etanolo puro, del resto raccomandata anche in quanto limita al massimo le distorsioni dovute allo *shrinking* (ROSS BLACK e DODSON, 2003), consente l'utilizzo di campioni per l'analisi del DNA. L'identificazione degli ibridi su base morfologica è particolarmente importante per i casi in cui esistano campioni anche di vecchia data, l'analisi dei quali può consentire di datarne la comparsa, sì da verificare se il fenomeno sia recente e, così come ipotizzato da DODSON *et al.* (1999), sia da metter in relazione con la presenza di sostanze inquinanti (es. xenobiotiche) nell'ambiente, o non sia piuttosto sempre esistito (FLÖSSNER, 2000), la sua presenza essendo stata rilevata solo di recente, grazie all'utilizzo di criteri diagnostici differenti, risultato di un affinamento delle tecniche d'indagine anche

a seguito del contributo di ricerche di caratterizzazione genetica. Ulteriori studi sono necessari a questo scopo: in molti casi le popolazioni degli ibridi coesistono con quelle delle specie parentali, con le quali possono incrociarsi. I mezzi diagnostici a livello morfologico non consentono allo stato attuale di distinguere questi individui da quelli appartenenti alle specie parentali vere e proprie. È dunque essenziale che agli studi classici,

basati su diagnosi al microscopio, vengano affiancati quelli relativi all'analisi di allozimi e/o del DNA.

#### Ringraziamenti

Ringraziamo la Prof. Letizia Garibaldi (Scienze Ambientali, Università degli Studi di Milano Bicocca) per il contributo alla raccolta dei campioni di alcuni laghi studiati e le preziose informazioni e Andrea Ferrari (CNR ISE, Pallanza) per il supporto tecnico che ha reso possibili le indagini condotte nell'ambito del Progetto LAKES.

#### BIBLIOGRAFIA

- AA. VV., 2001. *LAKES. Final Report*, 125 pp.
- AA. VV., 2002. *Acta Oecologica*, **23** (3), 222 pp.
- BARTON N.H., HEWITT G.M., 1985. Analysis of hybrid zones. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **16**: 113-148.
- DODSON S.I., 1992. Predicting crustacean zooplankton species richness. *Limnol. Oceanogr.*, **37**: 848-856.
- DODSON S.I., MERRITT C.M., SHANNAHAN J.P., SCHULTS C.M., 1999. Low doses of atrazine increase male production in *Daphnia pulex*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**: 1568-1573.
- FLÖSSNER D., 1993. Zur kenntnis einiger *Daphnia*-hybriden (Crustacea, Cladocera). *Limnologia*, **23**: 71-79.
- FLÖSSNER D., 2000. *Die Haplopora und Cladocera (ohne Bosminidae) Mitteleuropas*. Backhuys Publishers, Leiden, 428 pp.
- GISSLER S., 1997. Analysis of reticulate relationship within the *Daphnia longispina* species complex. Allozyme phenotype and morphology. *Journal of Evolutionary Biology*, **10**: 87-105.
- HEBERT P.D.N., WARD R.D., 1972. Inheritance during parthenogenesis in *Daphnia magna*. *Genetics*, **71**: 639-642.
- HOBĀEK A., MANCA M., ANDERSON T., 2002. Factors influencing species richness in lacustrine zooplankton. *Acta Oecologica*, **23**: 155-163.
- HOBĀEK A., MANCA M., SANTAMARIA L., 2001. Interspecific diversity across Europe: Cladocera and aquatic angiosperm species richness in lakes. LAKES, Final Report, Chapter 2: 14- 51.
- LIEDER U., 1991. The *Bosmina kessleri*-like morphotype of *Eubosmina* in Lake Muskoka, Ontario, Canada, as putative interspecific hybrids. *Hydrobiologia*, **225**: 71-80.
- LIEDER U., 1996. *Crustacea Cladocera Bosminidae*. Süßwasserfauna von Mitteleuropa. Band 8/ Heft 2-3, 80 pp.
- MANCA M., MARCHITELLI A., 2004. Dinamica stagionale del popolamento zooplanctonico nel corso del 2003. In: C.N.R. *Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 2003-2007. Campagna 2003*. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 61-67.
- MANCA M., 2004a. Analisi dell'infezione di popolazioni di *Daphnia* da parte di protozoi parassiti in laghi a diverso stato trofico: resistenza all'infezione e diverso successo di ibridi e specie parentali. In: CNR ISE. *Linee di Attività per l'anno 2004*: 85.
- MANCA M., 2004b. Analisi morfotipica e genetica delle popolazioni di *Daphnia*. In: C.N.R. *Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 2003-2007. Campagna 2003*. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 68.
- MANCA M., DE BERNARDI R., 1992. Indagini sullo zooplancton. In: C.N.R. *Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 1988-1992. Campagna 1991 e rapporto quinquennale 1988-1992*. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 68-78.
- MARGARITORA F.G., 2005. *Checklist dei Cladoceri italiani*. Ministero dell'Ambiente, in stampa.
- MARGARITORA F.G., 1985. *Cladoceri*. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. CNR Collana del progetto finalizzato "Promozione della qualità dell'ambiente", AQ/1/197, 169 pp.
- MINGOZZI T., MAFFEI G., 1987. Resoconto ornitologico per la regione Piemonte-Valle D'Aosta. Anno 1986. *Riv. Piem. St. Nat.*, **8**: 215-233.
- MOORE W.S., 1997. An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *Q. Rev. Biol.*, **52**: 263-277.
- ROSS BLACK A., DODSON S.I., 2003. Ethanol: a better short-term preservation technique for freshwater Branchiopoda. *Limnol. Oceanogr. Methods*.
- SCHWENK K., SPAAK P., 1997. Ecology and genetics of interspecific hybridization in *Daphnia*. In: Streit B., Stadler T., Livery C.M. (eds.), *Evolutionary ecology of freshwater animals*. Birkhauser Verlag: 199-229.
- SCHWENK K., POSADA D., HEBERT P.D.N., 2000. Molecular systematics of European *Hyalodaphnia*: the role of contemporary hybridization in ancient species. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **267**: 1833-1842.
- SERRA L., MAGNANI A., DALL'ANTONIA P., BACCETTI N., 1997. *Risultati dei censimenti degli uccelli acquatici svernati in Italia, 1991-1995*. In: Biologia e Conservazione della Fauna, Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, **101**, 309 pp.
- SPAAK P., 1997. Hybridization in the *Daphnia galeata* complex. Are hybrids locally produced? *Hydrobiologia*, **360**: 127-133.
- TARTARI G. A., MOSELLO R., 1997. Metodologie analitiche e controlli di qualità nel laboratorio chimico dell'Istituto Italiano di Idrobiologia del Consiglio Nazionale delle Ricerche. *Documenta Ist. ital. Idrobiol.*, **60** : 160pp.
- WOLF H.G., MORT M., 1986. Interspecific hybridization underlies phenotypic variability in *Daphnia* populations. *Oecologia*, **68**: 507-511.
- WWF, 1986. Climate Change Threats to migratory birds. Available at <http://panda.org/resources/publications/migration.html>.