

# RECUPERO DI CEPPI AUTOCTONI DI TROTA FARIO *SALMO (TRUTTA) TRUTTA* L. NEL BACINO UMBRO DEL F. NERA: SCHEMA METODOLOGICO E RISULTATI PRELIMINARI

Mario Mearelli<sup>1</sup>, Giancarlo Giovinazzo<sup>1</sup>, Massimo Lorenzoni<sup>1</sup>, Antonella Carosi<sup>1</sup>,  
Maria Letizia Petesse<sup>1</sup>, Giorgio Fanò<sup>2</sup>, Stefania Fulle<sup>2</sup>, Monica Lisciarelli<sup>2</sup>

## RIASSUNTO

Viene illustrato lo schema metodologico di una ricerca volta all'individuazione e caratterizzazione delle forme indigene di Trota fario, *Salmo (trutta) trutta*, presenti nel bacino umbro del F. Nera. Inoltre vengono discusse le prime indicazioni emerse e presentati i risultati preliminari della ricerca che sembrano evidenziare come la combinazione di tecniche meristiche, morfometriche e di biologia molecolare possa essere utilizzata con successo per l'identificazione delle popolazioni ittiche.

## SCOPO DEL LAVORO

In Umbria, così come avviene nella maggior parte delle regioni italiane, l'attuale gestione delle acque a salmonidi è caratterizzata da pratiche di ripopolamento che prevedono l'utilizzo prevalente ed esclusivo di materiale di allevamento (Tab. 1).

Nella quasi totalità dei casi tale materiale immesso è di origine alloctona e ciò comporta delle conseguenze negative per le popolazioni indigene di trota fario. Infatti è noto che le usuali pratiche di allevamento determinano la perdita di variabilità genetica nelle popolazioni addomesticate e la selezione di numerosi caratteri che possono risultare svantaggiosi in natura (ALLENDORF e PHELPS, 1980; RYMAN e STAHL, 1980; VUORINEN, 1984; GARCIA-MARIN *et al.*, 1991; THORPE, 1991). Numerose ricerche hanno inoltre di-

mostrato che nei salmonidi popolazioni diverse sono spesso geneticamente distinte ed adattate alle particolari condizioni locali (ALLENDORF e UTTER, 1979; RYMAN *et al.*, 1979; GUYOMARD, 1989; SAUNDERS, 1991; TAYLOR, 1991), così che l'incrocio fra esemplari alloctoni ed indigeni è generalmente svantaggioso per le popolazioni selvatiche (HINDAR *et al.*, 1991; HUTCHINGS, 1991).

Per tali motivi anche in Umbria una corretta e razionale gestione delle risorse ittiche delle acque a salmonidi non può che essere impostata sul recupero delle popolazioni selvatiche di trota fario. Ciò impone la sostituzione delle pratiche di ripopolamento finora adottate con metodiche che prevedano la rinuncia alla semina di materiale adulto e l'utilizzo di esemplari allo stadio giovanile ottenuti a partire da riproduttori selvatici, con metodi di allevamento meno selettivi ed in condizioni più vicine a quelle naturali.

Tuttavia l'estrema incompletezza e frammentarietà delle conoscenze sulle popolazioni dell'Italia centrale ed il polimorfismo che tipicamente caratterizza

1 Istituto di Idrobiologia e Piscicoltura - Università di Perugia.

2 Dipartimento di Biologia Cellulare e Molecolare - sezione di Fisiologia e Biofisica - Università di Perugia.

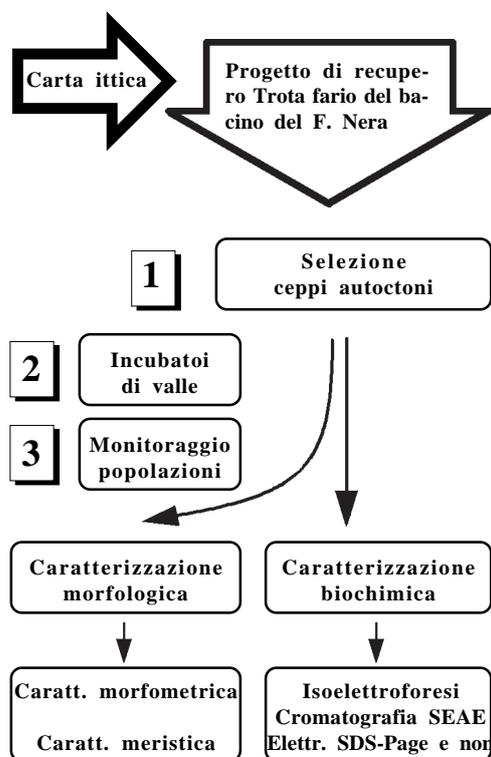
**Tab. 1** - Valori e caratteristiche del materiale seminato nelle acque a salmonidi del bacino del F. Nera dalle amministrazioni provinciali di Perugia e Terni.

Provincia di TERNI			
Anno	Quantità	Tipo	Specie
1992	20 quintali	trote adulte (20-25 cm)	T. Fario
1992	10.000 esemplari	trotelle (8-15 cm)	T. Fario
1993	20 quintali	trote adulte (20-25 cm)	T. Fario
1993	8.000 esemplari	trotelle (12-15 cm)	T. Fario
Provincia di PERUGIA			
Anno	Quantità	Tipo	Specie
1992	60 quintali	trote adulte (20-25 cm)	T. Fario
1992	50.000 esemplari	trotelle (12-15 cm)	T. Fario
1992	10 quintali	trote adulte (20-25 cm)	T. Iridea
1993	60 quintali	trote adulte (20-25 cm)	T. Fario
1993	47.000 esemplari	trotelle (12-15 cm)	T. Fario

questa specie (LELEK, 1987; GANDOLFI *et al.*, 1991) rendono necessaria una fase preliminare di approfondimento sulle caratteristiche delle trote fario presenti nei corsi d'acqua umbri.

Si può infatti supporre che in alcune aree particolari, dove la morfologia del corso d'acqua non

consente uno sfruttamento dal punto di vista sportivo delle risorse ittiche, i fenomeni di ibridazione causati dai ripopolamenti possano essere stati meno frequenti e che l'isolamento di tali ambienti, anche a causa di vari ostacoli ai movimenti della fauna ittica, possa in qualche caso aver assicurato il mantenimento delle caratteristiche delle forme indigene. È stata quindi intrapresa una ricerca in collaborazione fra le Amministrazioni Provinciali di Perugia e Terni e l'Università di Perugia (Dipartimento di Biologia Cellulare, Istituto di Idrobiologia e Piscicoltura) mirata alla caratterizzazione morfometrica e biochimica ed al recupero delle popolazioni indigene del bacino del F. Nera, bacino che nell'ambito della Regione dell'Umbria è caratterizzato da una più spiccata vocazione salmonicola. Lo schema metodologico della ricerca è illustrato nella Fig. 1.

**Fig. 1** - Schema della ricerca.

#### MATERIALI E METODI

Nell'ambito del bacino F. Nera sono state individuate una serie di stazioni di campionamento che riguardano l'asta fluviale principale ed alcuni affluenti (Fig. 2). Per ogni stazione vengono rilevati alcuni importanti parametri ambientali:

- Larghezza media tratto campionato (m)
- Profondità media (m)
- Quota altimetrica (m s.l.m.).
- Temperatura acqua (° C)
- pH (unità di pH)
- Conducibilità (μS a 25 °C)

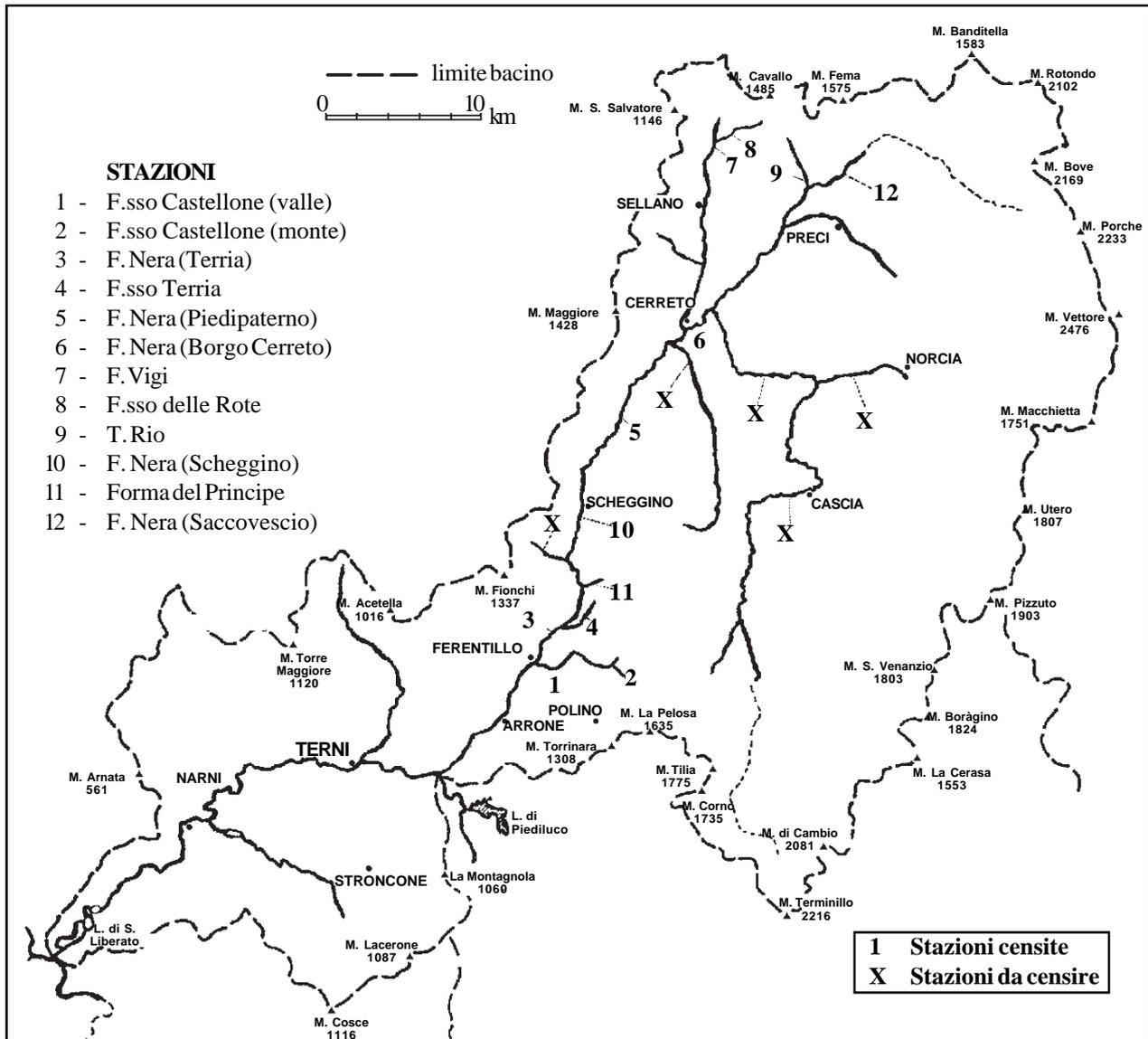


Fig. 2 - Bacino del F. Nera e localizzazione delle stazioni.

Velocità di corrente media (m/sec)

Tipo di fondo

Copertura arborea (%)

Copertura idrofite (%)

La cattura degli esemplari di trota fario viene effettuata con elettroscorditore a corrente continua; ad ogni esemplare catturato viene misurata sul posto la lunghezza totale ( $\pm 0.1$  cm), determinato il peso ( $\pm 1$  g) e prelevato un piccolo campione di scaglie, mediante le quali viene valutata l'età in laboratorio (VAN UTRECHT e SCHENKKAN, 1972). Per quanto riguarda la caratteriz-

zazione morfometrica e meristica un subcampione è fotografato sul posto e portato in laboratorio per le successive misurazioni; a 3 esemplari viene prelevato un campione di muscolo, conservato in azoto liquido e portato in laboratorio per la caratterizzazione biochimica.

### Caratterizzazione morfometrica e meristica

Lo studio viene effettuato misurando i principali caratteri morfometrici e meristici, il cui elenco è riportato di seguito:

*Parametri morfometrici*

Lunghezza totale  
 Lunghezza alla furca  
 Diametro dell'occhio  
 Lunghezza all'opercolo  
 Lunghezza all'occhio  
 Altezza massima del corpo  
 Altezza minima del corpo  
 Distanza interorbitale  
 Lunghezza mascellare  
 Altezza pinna pettorale  
 Altezza pinna ventrale  
 Altezza pinna anale  
 Altezza pinna dorsale

*Parametri meristici*

N° vertebre  
 N° ciechi pilorici  
 N° denti della testa del vomere  
 N° denti sullo stelo del vomere  
 N° scaglie sulla linea laterale  
 N° scaglie sotto alla linea laterale  
 N° scaglie sopra alla linea laterale  
 N° raggi ramificati p. dorsale  
 N° raggi ramificati p. anale  
 N° raggi ramificati p. pettorali  
 N° raggi ramificati p. ventrali  
 N° raggi ramificati p. caudale  
 N° macchie rosse sui fianchi  
 N° macchie rosse lungo la linea laterale  
 N° macchie nere sui fianchi  
 N° macchie parr  
 N° macchie rosse sulla p. dorsale  
 N° macchie nere sulla p. dorsale

Tutti i parametri morfometrici sono stati standardizzati mediante la formula:

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

dove:

$M_i$  = misura standardizzata;

$M_o$  = misura del carattere osservato;

$L$  = lunghezza standard media del campione complessivo;

$L_o$  = lunghezza standard di ciascun esemplare;

$b$  = coefficiente di regressione lineare tra  $\log M_o$  e

$\log L_o$  per ciascuno stock.

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

Per evidenziare la variabilità morfologica all'interno di ciascun gruppo e tra i gruppi stessi, è stata stimata per ogni stock la trasformazione del coefficiente di variazione (VAN VALEN, 1978) nei parametri morfometrici, trasformati e non, ed in quelli meristici, secondo la formula:

$$C.V._p = 100 \sqrt{\frac{\sum s_j^2}{\sum x_j^2}}$$

dove  $\sum s_j^2$  e  $\sum x_j^2$  sono rispettivamente la sommatoria delle varianze e dei quadrati delle medie.

**Caratterizzazione biochimica**

La classificazione effettuata essenzialmente su aspetti osteologici e utilizzando le differenze osservate dei caratteri meristici e/o morfometrici, molte volte può dare delle riposte ambigue soprattutto se si vogliono identificare soggetti appartenenti a subspecie.

Negli anni passati, la tecnica dell'elettroforesi delle proteine, così come studi delle forme isoenzimatiche, sono stati usati estensivamente per delineare i caratteri della specie e le differenze all'interno delle popolazioni di pesci, anche se con questi metodi non è sempre possibile discriminare tra diverse subspecie che hanno identici alleli (UTTER, 1987).

A partire dalla metà della passata decade, la tecnica dell'analisi con endonucleasi di restrizione del DNA mitocondriale è stata sperimentata con successo in popolazioni di pesci (WILSON *et al.*, 1985). Questo substrato rappresenta un eccellente sistema per l'analisi delle popolazioni poiché ha una relativamente piccola taglia, una sostanziale omologia tassonomica e mostra completa assenza di siti di ricombinazione (CARR e GRIFFITH, 1987).

Recentemente le tecniche biotecnologiche hanno messo a punto il metodo dell'automazione della 'polymerase chain reaction' (PCR) e, attraverso essa, è diventato possibile analizzare la sequenza di specifiche sezioni di DNA. Un importante vantaggio di questo metodo, oltre la sua estrema sensibilità, deriva dal fatto che sono necessarie solo minime quantità di tessuto senza che sia necessario arrivare al sacrificio

dell'animale (McVEIGH ET AL., 1991). Inoltre la PCR può essere effettuata sul DNA totale il quale è sicuramente più facilmente e rapidamente estraibile di quello mitocondriale.

In sintesi, quindi, le differenze inter e intraspecifiche delle popolazioni di pesci possono essere determinate anche attraverso metodi che si avvalgono di tecniche elettroforetiche e di biologia molecolare. Con le prime la possibilità di riconoscere subpopolazioni deriva dal fatto che eventuali mutazioni possono aver indotto modificazioni relativamente estese delle proteine analizzate. Attraverso l'analisi del DNA con tecniche di PCR è invece possibile riuscire ad evidenziare anche quelle modificazioni che sfuggono ad altri sistemi di indagine.

La metodologia utilizzata prevede essenzialmente 3 fasi (CARR e GRIFFITH 1987; BARLETTE e DAVIDSON, 1991; FOCANT *et al.*, 1981; McVEIGH *et al.*, 1991; CUTLER *et al.*, 1991):

- 1-Prelievo: sono stati prelevati campioni di 4-5 g nell'area muscolare inferiore compresa tra la pinna pettorale e quella ventrale su soggetti appena pescati mediante elettrostorditore e utilizzati per i rilievi morfologici. Il tessuto prelevato era ulteriormente suddiviso in quattro frazioni e immediatamente congelato in aria liquida per il trasporto in laboratorio e le successive manipolazioni
- 2-Elettroforesi: i campioni erano tritutati in aria liquida e quindi omogenati in potter (30-40 sec a 4 °C) dopo essere stati risospesi in tampone fosfato a pH 7.0. Gli omogenati venivano, quindi, centrifugati a 1000 x g per la precipitazione di nuclei e proteine contrattili e, successivamente a 9000 x g per la separazione dei mitocondri. I campioni, provenienti dai sovrinatanti delle due centrifugazioni (il pellet della prima era saltuariamente analizzato come controllo interno), erano dializzati overnight contro Tris/PO<sub>4</sub> 1 mM a pH 7.0.
  - 2a) isoelettroforesi: aliquote di 50 ml erano seminate e fatti correre su gel di acrilamide (pH 3-9) per 60 min a 1500 volt. A fine corsa il gel era colorato con Comassie-blu (G-250) per 30 minuti.
  - 2b) elettroforesi SDS-Page: 20 mg di proteine provenienti dal 2° sovrinatante erano caricati su gel al 12.5% di acrilamide e fatti correre in Tris-glicina (pH 8.3).
- 3-Analisi del DNA: il DNA totale era estratto a partire

da 5-10 mg di muscolo conservato in aria liquida dopo digestione overnight (50-60 °C) con proteinasi-K (0.5 mg/ml) in presenza di Tris-HCl 100 mM (pH 8.0), EDTA 10 mM, NaCl 100 mM, SDS 1% e DTT 50 mM. Il materiale reso disponibile veniva, quindi, purificato mediante una doppia estrazione con Tris-fenolo ed un passaggio in una miscela (1:24) di cloroformio ed alcol isoamilico. Infine il DNA veniva concentrato mediante precipitazione con etanolo. La amplificazione via PCR è stata eseguita mediante le tecniche disponibili sul kit commerciale.

## RISULTATI

Tutti i dati raccolti entreranno a far parte di un archivio (database) con il quale sarà possibile mettere in connessione per ogni esemplare i dati ambientali della stazione in cui è stato catturato, i parametri morfometrici e meristici, i dati biochimici e l'immagine fotografica dell'esemplare stesso. L'elaborazione dei dati ha come obiettivo principale l'individuazione e la caratterizzazione delle popolazioni autoctone, permettendone il riconoscimento e l'adozione di misure idonee al loro recupero. Tuttavia tra gli scopi non secondari della ricerca vi è anche la possibilità di approfondire le conoscenze sulla variabilità morfologica delle trote fario del bacino del F. Nera ad es. evidenziando l'influenza dell'accrescimento e dei fattori ambientali sulla variabilità morfologica ed analizzando i rapporti che intercorrono fra variabilità morfologica e variabilità biochimica.

Una prima elaborazione dei dati morfometrici e meristici non è stata ancora possibile, tuttavia alcune utili indicazioni possono derivare dai risultati di una precedente ricerca condotta sulle trote fario del bacino del F. Nera (GIOVINAZZO *et al.*, in stampa). Lo studio è stato effettuato su di un campione di 89 esemplari suddiviso in 6 subcampioni comprendenti l'alto (Nera1), il medio (Nera2) ed il basso corso del F. Nera (Nera3), il F. Vigi, il F.so del Principe e il F.so del Castellone.

Dall'analisi dei dati emerge che le trote fario del bacino del F. Nera sono caratterizzate da un'elevata variabilità morfologica che si evidenzia sia all'interno dei gruppi che nel confronto degli stessi: i coefficienti di variazione ( $C.V._p$ ) appaiono elevati soprattutto per quanto riguarda i caratteri meristici (Tab. 2); minori

sono nel caso dei parametri morfometrici non trasformati. Alti valori del coefficiente di variazione possono essere dovuti a diversi fattori, tra i quali assumono sicuramente un maggiore rilievo la possibilità di crescita allometrica, la presenza di più popolazioni in ogni corso d'acqua e di fenotipi diversi all'interno della stessa popolazione. I valori relativi ai parametri morfometrici trasformati sono notevolmente inferiori ai non trasformati, evidenziando in tal modo l'effetto di una crescita allometrica; la standardizzazione operata mediante la trasformazione dei dati morfometrici ha tuttavia permesso di minimizzare tale variabilità (BEACHAM, 1985; REIST, 1985).

Sottoponendo ad analisi discriminante (SAS INSTITUTE INC, 1989) l'insieme dei caratteri meristici e morfometrici trasformati è possibile evidenziare il grado di differenziazione fra i gruppi. Nel grafico della Fig. 3 gli assi sono costituiti dalle prime due variabili canoniche (Tab. 3), i poligoni raffigurano i limiti della

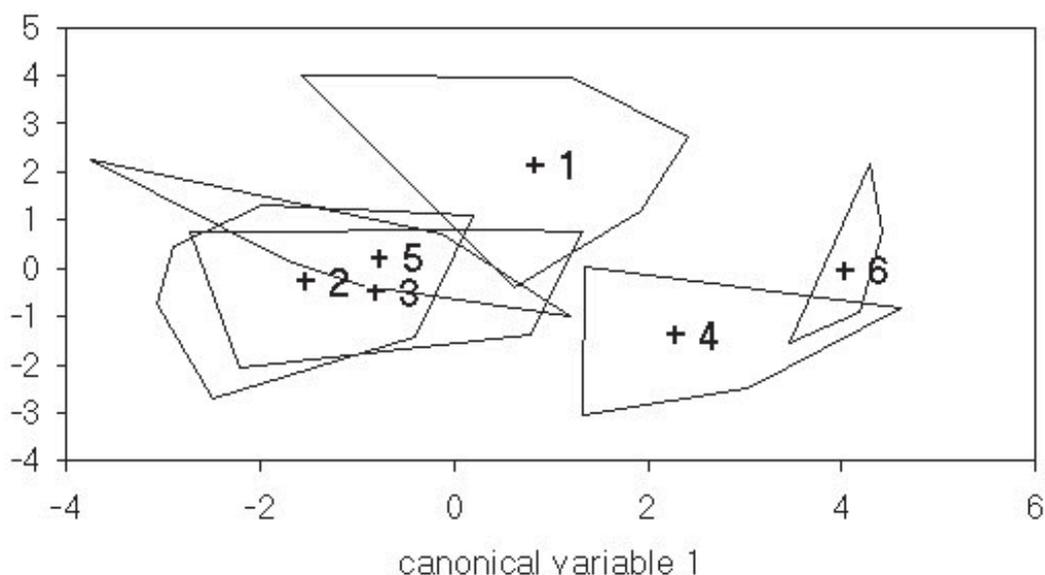
distribuzione nello spazio degli esemplari di ogni gruppo, mentre i valori numerici rappresentano i centroidi dei gruppi.

L'analisi discriminante stepwise (SAS INSTITUTE INC, 1989) ha permesso di selezionare fra tutti i parametri quelli che meglio consentono una separazione dei 6 gruppi: i risultati sono riportati nella Tab. 4. Si evidenzia un set di 11 parametri estremamente importanti per l'identificazione di popolazioni, che può costituire una buona premessa per ulteriori ricerche, indirizzate soprattutto ad individuare i parametri meno influenzati dalle condizioni ambientali e quindi di maggiore importanza ai fini di una caratterizzazione delle forme autoctone.

Per quanto riguarda l'analisi dei dati ottenuti con tecniche biochimiche è possibile fornire già da ora i risultati di una prima parziale elaborazione. Tali risultati sembrano evidenziare l'esistenza di un possibile frazionamento della popolazione di trote nelle tre sta-

**Tab. 2** - Coefficiente di variazione dei caratteri meristici, morfometrici e morfometrici trasformati.

	Nera1 (n=16)	Nera2 (n=30)	Nera3 (n=15)	Vigi (n=14)	Principe (n=9)	Castellone (n=5)
CVp caratteri meristici	40	43.88	27.82	32.48	44.25	59.02
CVp caratteri morfometrici	29.16	20.06	28.11	12.93	29.93	24.52
CVp caratteri morfometrici trasformati	6.95	5.84	3.86	3.9	3.67	3.48



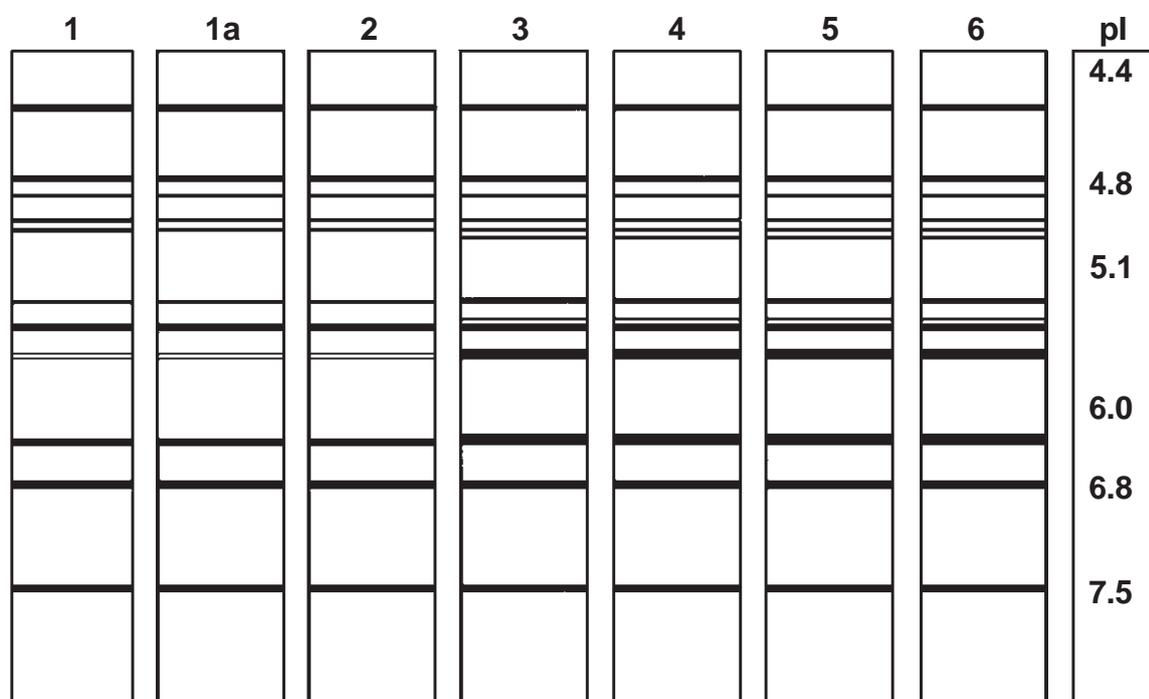
**Fig. 3** - Grafico dell'analisi discriminante. I poligoni rappresentano i limiti dei sottogruppi, i valori numerici i centroidi. 1=Nera1, 2=Nera2, 3=Nera3, 4=F. Vigi, 5=F.so del Principe, 6=F.so del Castellone.

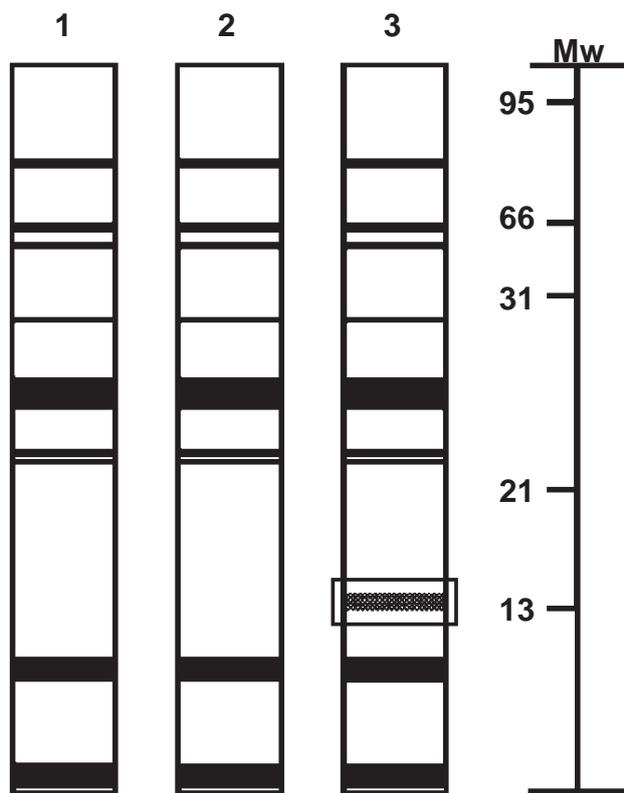
**Tab. 3** - Analisi discriminante. Capacità discriminante delle funzioni

	Canonical Correlation	Approx Standard Error	Squared Canonical Correlation	Eigenvalue	Cumulative	Num DF	Pr>F
1	0.868	0.026	0.753	3.047	0.492	155	0.001
2	0.751	0.046	0.564	1.294	0.701	120	0.022
3	0.685	0.057	0.0566	0.884	0.844	87	0.221
4	0.608	0.067	0.369	0.586	0.939	56	0.566
5	0.523	0.077	0.274	0.377	1.00	27	0.737

**Tab. 4** - Analisi discriminante stepwise. Elenco dei parametri che meglio discriminano fra i 6 gruppi

Step	Variable Entered	Partial R <sup>2</sup>	Prob > F	Prob < Lambda
1	N°. CIECHIPILORICI	0.2297	0.0005	0.0005
2	ALTEZZA MINIMA DEL CORPO	0.2479	0.0002	0.0001
3	ALTEZZA P. VENTRALE	0.2677	0.0001	0.0001
4	N°. MACCHIE NERE SULLA P. DORSALE	0.1776	0.007	0.0001
5	N°. MACCHIE ROSSE SULLA P. DORSALE	0.1874	0.0051	0.0001
6	N°. SCAGLIE SOTTO LA LINEA LATERALE	0.1892	0.0052	0.0001
7	ALTEZZA DELLA PINNA DORSALE	0.1398	0.0374	0.0001
8	N°. SCAGLIE SULLA LINEA LATERALE	0.1307	0.0545	0.0001
9	N°. RAGGIRAMIFICATI DELLA P. PETTORALE	0.138	0.0447	0.0001
10	N°. RAGGIRAMIFICATI DELLA P. DORSALE	0.1853	0.0085	0.0001
11	N°. DENTISULLO STELO DEL VOMERE	0.1213	0.0865	0.0001

**Fig. 4** - Isoelettroforesi degli estratti muscolari.



**Fig. 5** - Elettroforesi in SDS-Page.

zioni considerate (Staz. 1-3) (Fig. 2). Come appare evidente in Fig. 4, l'isoelettroforesi degli estratti muscolari ha messo in evidenza, negli animali prelevati nella Staz. 3, l'esistenza di un'area di variabilità nel range di pI compreso tra 4.8 e 5.5 con una presenza di bande anomale che non trova riscontro nei campioni prelevati nelle stazioni vicine. Anche l'elettroforesi in SDS-Page (Fig. 5) mostra l'esistenza di alcune peculiarità rilevabili come presenza nei campioni provenienti dalla stazione 3, di una banda di pm intorno a 13,000 dalton. I dati elettroforetici sembrano quindi confermare quanto emerso dall'analisi morfologica e cioè la possibilità di una differenziazione della popolazione del F.sso del Castellone rispetto alle trote presenti nel F. Nera.

I dati, molto preliminari, dell'analisi del DNA mediante PCR non sono ancora in grado di aggiungere ulteriori informazioni e, per questo motivo, non sono riportati in maniera analitica.

In conclusione, i dati in nostro possesso a questo punto, lasciano prospettare la possibilità che esista un

nucleo di individui residuali di un processo di segregazione che potrebbero essere utilizzati, dopo ulteriori e specifiche conferme, come indicatori autoctoni della specie oggetto di indagine.

### Bibliografia

- ALLENORF F.W., PHELPS S.R. - 1980. Loss of genetics variation in a hatchery stock of cutthroat trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **109**: 537-543.
- ALLENORF F.W., UTTER F.M. - 1979. Population genetics. Hoar W.S., Randall D.J., Brett J.R. Editors, Academic Press, New York.
- BARLETT S.E., DAVIDSON W.S. - 1991. Identification of tuna species in the genus *Thunnus* by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of their mitochondrial cytochrome b genes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**:309-317.
- BEACHAM T.D. - 1985. Meristic and morphometric variation in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in southern British Columbia and Puget Sound. *Can. J. Zool.*, **63**: 366-372.
- CARR S.M., GRIFFITH O.M. - 1987. Rapid isolation of animal mitochondrial DNA in a small fixed-angle rotor at ultrahigh speed. *Biochem. Genetics*, **25**: 385-390.
- CUTLER M. G., BARTLETT S.E., HARTLEY S.E., DAVIDSON W.S. - 1991. A polymorphism in the ribosomal genes distinguishes atlantic salmon (*Salmo salar*) from North America and Europe. *Can. Fish. Aquatic. Sci.*, **48**:1655-1661.
- FOCANT B., JACOB M.F., HURIAUX F. - 1981. Electrophoretic comparison of the proteins of some perch (*Perca fluviatilis*) head muscles. *J. muscle res. cell Mot.*, **2**:295-305.
- GANDOLFI G., ZERUNIAN S., TORRICELLI P., MARCONATO A. - 1991. I pesci delle acque interne italiane. *Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato*, 617 pp.
- GARCIA-MARIN J.L., JORDE P.E., RYMAN R., UTTER F., PLA C. - 1991. Management implications of genetic differentiation between native and hatchery populations of brown trout (*Salmo trutta*) in Spain. *Aquaculture*, **95**: 235-249.
- GIOVINAZZO G., BALLERINI M., LORENZONI M., MEARELLI M. - in stampa. Variabilità morfometrica e meristica in *Salmo trutta* L. del bacino del F. Nera. *Atti IV Convegno AIIAD*, Riva del Garda, Trento.
- GUYOMARD R. - 1989. Diversité génétique de la truite commune. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, **314**: 118-135.

- HINDAR K., RYMAN N., UTTER F. - 1991. Genetic effects of cultured fish on natural fish populations. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **48**: 945-957.
- HUTCHINGS J.A. - 1991. The threat of extinction to native populations experiencing spawning intrusions by cultured Atlantic salmon. *Aquaculture*, **98**: 119-132.
- LELEK A. - 1987. The freshwater fishes of Europe. Threatened fishes of Europe. *Aula-Verlag*, Wiensbaden, 343 pp.
- MC VEIGH H.P., BARTLETT S.E., DAVIDSON W.S. - 1991. Polymerase chain reaction/direct sequence analysis of the cytochrome b gene in *Salmo salar*. *Aquaculture*, **95**: 225-233.
- REIST J. - 1985. An empirical evaluation of several univariate methods that adjust for size variation in morphometric data. *Can. J. Zool.*, **63**: 1429-1439.
- RYMAN N., ALLENDORF F.W., STAHL G. - 1979. Reproductive isolation with little genetics divergence in sympatric populations of brown trout. *Genetics*, **92**: 247-262.
- RYMAN N., STAHL G. - 1980. Genetic changes in hatchery stocks of brown trout (*Salmo trutta*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **37**: 82-87.
- SAS INSTITUTE INC. - 1989. SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volume 1. Cary, NC: Sas Institute Inc., 943 pp.
- SAUNDERS R.L. - 1991. Potential interaction between cultured and wild Atlantic salmon. *Aquaculture*, **98**: 51-60.
- TAYLOR E.B. - 1991. A review of local adaptation in Salmonidae, with particular reference to Pacific and Atlantic salmon. *Aquaculture*, **98**: 185-207.
- THORPE J.E. - 1991. Acceleration and deceleration effects of hatchery rearing on salmonid development, and their consequences for wild stocks. *Aquaculture*, **98**: 111-118.
- UTTER F. - 1987. Protein electrophoresis and stock identifications in fishes. Vaught R.N., Grimes C.B., Johnson A.G., Nakamura E.L. Editors, NOAA Technical memorandum NMFS-SEFC.
- VAN VALEN L. - 1978. The statistics of variation. *Evolutionary Theory*, **4**: 35-43.
- VAN UTRECHT W.L., SCHENKKAN E.J. - 1972. On the periodicity in the growth of scales vertebrae and other hard structures in a teleost. *Aquaculture*, **1**: 293-316.
- VUORINEN J. - 1984. Reduction of genetic variability in a hatchery stock of brown trout, *Salmo trutta* L. *J. Fish. Biol.*, **24**: 339-348.
- WILSON A.C., CANN R.L., CARR R.L. - 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biol. J. Linn. Soc.*, **26**: 375.