



LIFE 10 NAT/IT/000239

ERADICATE INVASIVE LOUISIANA RED SWAMP AND PRESERVE NATIVE WHITE CLAWED CRAYFISH IN FRIULI VENEZIA GIULIA
ERADICAZIONE DEL GAMBERO ROSSO DELLA LOUISIANA E PROTEZIONE DEI GAMBERI DI FIUME DEL FRIULI VENEZIA GIULIA

LA NEWSLETTER RARITY

Siamo al terzo numero della Newsletter RARITY, anche questa volta ricco di informazioni e curiosità sui gamberi di acqua dolce. Ci auguriamo possano essere di vostro interesse.

Chi volesse ricevere la newsletter regolarmente potrà farne richiesta seguendo la facile procedura disponibile alla pagina www.life-rarity.eu/pagine/newsletter.htm.

Buona lettura!!!!

Il progetto RARITY è entrato nel pieno delle sue attività e ci sono già i primi importanti risultati, quali l'avvenuta riproduzione degli esemplari di *Austropotamobius pallipes* catturati in ambiente naturale. La schiusa è avvenuta a marzo nell'impianto ittico dell'Ente Tutela Pesca (ETP) di San Vito al Tagliamento e i nuovi individui verranno rilasciati in alcuni corsi d'acqua della Regione Friuli Venezia Giulia nei prossimi mesi nell'ambito delle attività di ripopolamento previste dal progetto.

Con le esercitazioni in campo, avvenute il 27 e 28 aprile 2012, si è conclusa la parte pratica dei corsi di formazione, iniziati a dicembre 2011, destinati prioritariamente al personale volontario dell'ETP, che ha visto la partecipazione anche di personale appartenente alla Protezione Civile e alle Guardie Forestali (Fig. 1).

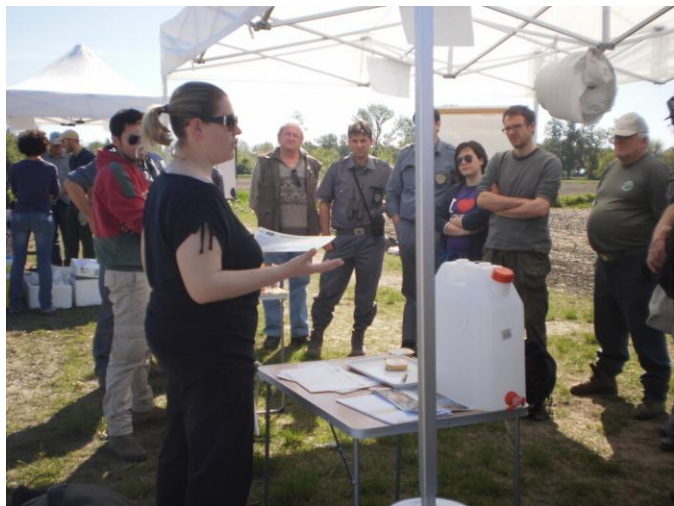


Fig. 1 – Gruppo di partecipanti all'esercitazione in campo nell'ambito del programma di formazione per il personale ETP tenutosi nei giorni 27 e 28 aprile in località Isola della Cona. A group of participants to the field activities, held on April 27-28 in "Isola della Cona", within the framework of training course for ETP staff.

Elenco dei contenuti

- De Luise G. (Consulente di Ente Tutela Pesca del Friuli Venezia Giulia) - L'allevamento del gambero di fiume *Austropotamobius pallipes* nell'impianto di San Vito al Tagliamento (Pordenone).
- De Luise G., Zanetti M. (Ente Tutela Pesca del Friuli Venezia Giulia) - Operazione di salvaguardia di gamberi di fiume *Austropotamobius pallipes* all'interno del SIC Risorgive dello Stella.
- Aquiloni L., Mazza G., Gherardi F. (Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università di Firenze) - Monitoraggio dei gamberi di fiume: come farlo e a che scopo.
- Bertucci V. (Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste) - Potrà la genetica aiutarci a salvare le popolazioni autoctone di *Austropotamobius pallipes*?
- Manfrin A. (Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova) - White Spot Disease nel gambero della Louisiana (*Procambarus clarkii*).

THE RARITY NEWSLETTER

Here is the third number of the RARITY Newsletter, once again full of news and curiosities on freshwater crayfish. We hope it may be of interest.

Anyone wishing to receive the quarterly newsletter may follow the easy steps procedure available at the address:

www.life-rarity.eu/pagine/newsletter.htm.

Happy reading!!

The RARITY project became fully operational and the first important results were achieved. The reproduction of *Austropotamobius pallipes* populations, collected in natural environment, was successfully performed. The hatching took place in March within the fish farming plant of San Vito al Tagliamento, belonging to Ente Tutela Pesca (ETP). The offspring will be released in some rivers of the Friuli Venezia Giulia Region in the coming months, within the framework of the Project restocking activities.

With the field excursions, which took place on 27 and 28 April in the "Isola della Cona", the practical part of training activities were completed. These activities, started in December 2011, were aimed primarily at ETP staff training, but also forest guards and civil defence personnel attended the courses (Fig. 1).

List of contents

- De Luise G. (Consultant of Ente Tutela Pesca of Friuli Venezia Giulia) - Breeding of crayfish *Austropotamobius pallipes* in fish farming plant of San Vito al Tagliamento.
- De Luise G., Zanetti M. (Ente Tutela Pesca of Friuli Venezia Giulia) - Safeguard action of crayfish *Austropotamobius pallipes* within the Site of Community Importance (SCI) Resurgence of Stella river.
- Aquiloni L., Mazza G., Gherardi F. (Department of Evolutionary Biology, University of Florence) - Monitoring of the freshwater crayfish: how to do it and for what purpose
- Bertucci V. (Department of Life Science, University of Trieste) - Can genetics help us to save the indigenous populations of *Austropotamobius pallipes*?
- Manfrin A. (Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padoa) - White Spot Disease in Louisiana crayfish (*Procambarus clarkii*)



REGIONE AUTONOMA
FRIULI VENEZIA GIULIA



ALLEVAMENTO DEL GAMBERO DI FIUME *AUSTROPOTAMOBIOUS PALLIPES* NELL'IMPIANTO DI SAN VITO AL TAGLIAMENTO (PORDENONE)

Nell'ambito del progetto RARITY, sono stati individuati due impianti per l'allevamento del gambero di fiume *Austropotamobius pallipes*, uno ad Amaro (UD) ed uno a San Vito al Tagliamento (PN). Il primo è in corso di ristrutturazione e verrà attivato nel corso del 2012, mentre il secondo è operativo da novembre del 2011.

L'impianto di San Vito al Tagliamento è interamente al coperto ed è dotato di vasche in vetroresina (10 rettangolari 2x0,60 m e 4 circolari diametro 1,5 m) alimentate da acqua di pozzo a temperatura costante di 12,4°C (Fig. 1).

Ogni vasca è stata corredata da ricoveri artificiali costituiti da tubi in PVC, indispensabili per la stabulazione dei gamberi, che sostituiscono egregiamente le tane naturali. Non bisogna infatti dimenticare che la maggior parte delle specie di gamberi d'acqua dolce è lucifuga ed ha quindi necessità di riparo, utile anche ad evitare aggressioni dai propri simili, soprattutto in occasione della muta. Le tane artificiali sono anche di agevole controllo poiché gli animali non "scappano" anche se estratti dall'acqua e, data l'assenza di asperità, possono essere estratti delicatamente e senza danni semplicemente inclinando i tubi.



Fig. 1 – Vasche per l'allevamento di *A. pallipes* presenti nell'impianto di S. Vito al Tagliamento. Tanks for the rearing of *A. pallipes* within S. Vito al Tagliamento fish farming plant.

Ogni vasca è dotata di una scheda per l'annotazione delle operazioni, di un set per la pulizia, e di mangiatoie costituite da un piatto colorato dove viene depositato l'alimento artificiale in modo da tener agevolmente controllata e "tarata" la somministrazione del cibo e così evitare di sporcare eccessivamente il fondo della vasca.

La dieta somministrata è costituita da un mangime commerciale completo e bilanciato rispetto alle esigenze nutritive della specie, di consistenza tale da mantenersi compatto per almeno 48 ore. L'alimento viene distribuito giornalmente in quantità pari al 5% della biomassa dei maschi presenti e all'1% di quella delle femmine ovigere, sotto forma di pellet di diversa granulometria che si è dimostrato ben apprezzato.

Ad integrazione della dieta dei gamberi, in ciascuna vasca sono state posizionate piante acquatiche (*Ranunculus*, *Helodea*, *Fontinalis* e *Myriophyllum*) prelevate precedentemente in ambiente naturale, che servono da ripari aggiuntivi ai gamberi, ma anche come fonte alternativa di ossigeno ed alimento (costituito dai vegetali stessi e dal nectoplancton e benthos sviluppatosi come: Cladoceri: *Daphniae*, Ciclopodi: Copepodi, Anfipodi: *Gammarus*, Efemeroteri: *Ephemera*, Gasteropodi: *Planorbis*, *Lymnaeae*) ed in particolare come fonte di calcio, molto utile nel processo di ecdisi.

L'esperienza pratica ha infatti dimostrato che, accanto all'apporto minerale fornito dal mangime, il saltuario consumo di molluschi acquatici (*Lymnaeae* 1, *Planorbis* 2) (Fig. 2) consente una

integrazione nutritiva di sostanze proteiche e, con la loro conchiglia calcarea, della disponibilità di carbonato di calcio.

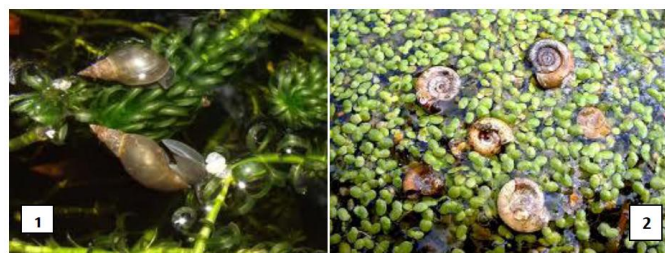


Fig. 2 – Particolare di alcuni vegetali e loro "inquilini" presenti nelle vasche di allevamento (1 *Lymnaeae*, 2 *Planorbis*). Details of some plants and their "guests" living in rearing tanks (1 *Lymnaeae*, 2 *Planorbis*).

I gamberi che sono stati utilizzati per la riproduzione, sono stati raccolti in più riprese da due specifici corsi d'acqua: il rio Ingliana ed il rio Gorgons (entrambi in Provincia di Pordenone), poco prima che tali corsi venissero fatti oggetto di interventi straordinari di escavazione dell'alveo che avrebbero causato lo sconvolgimento dell'ecosistema locale ricco di gamberi, già penalizzati da persistenti magre. Si è pertanto ritenuto utile, al fine di salvaguardare le popolazioni dei due siti, trasferire nelle vasche dell'impianto tutti gli individui recuperati, sia maschi che femmine. Di queste alcune erano appena state fecondate ed altre erano già ovigere. Si è così deciso di destinare l'allevamento a due linee produttive, suddividendo le femmine che presentavano le uova a diversi stadi di maturazione e separate per sito di prelievo in 8 delle vasche, destinando le altre 2 ad ospitare i maschi.

Il passo successivo è stato poi quello di stabulare le diverse femmine ovigere in adeguate strutture che consentissero, a schiuse avvenute, una sicurezza per i nascituri ponendoli al riparo dalla predazione delle loro madri. Sulla base delle pregresse esperienze, si è perciò ideata una struttura "da parto" che fosse idonea allo scopo, tecnologicamente più avanzata rispetto alle "gabbie" impiegate la prima volta nel 1986, e soprattutto sollevata dal fondo della vasca e dotata di opportuni fori dai quali le larve potessero, una volta pronte, allontanarsi dalle madri per iniziare la loro vita in modo indipendente.

Con la collaborazione di una Ditta specializzata sono state realizzate delle scatole in policarbonato trasparente, opportunamente forate e dotate di coperchio che, appoggiate ai bordi delle vasche in vetroresina e parzialmente immerse, rispondono pienamente alle esigenze (Fig. 3).

Anche in questo caso ogni struttura è stata attrezzata con un adeguato numero di ricoveri artificiali, una mangiatoia, vegetali e macroinvertebrati acquatici.

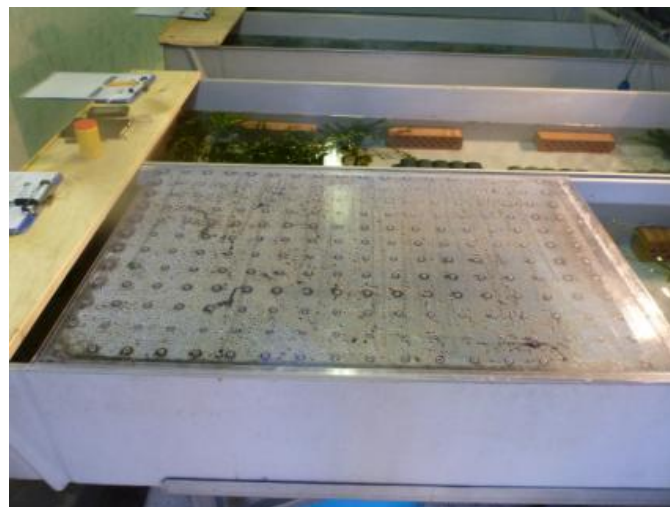


Fig. 3 - Particolare di una struttura "da parto". Detail of a "birth" box.

La vasca destinata ad allevare i piccoli gamberi fino al raggiungimento della taglia di cm 2, ritenuta tecnicamente idonea al loro rilascio in ambiente naturale, è stata equipaggiata con ricoveri artificiali rappresentati da mattoni forati posizionati lungo tutto il perimetro, unitamente ad altri tipi di nascondigli costituiti da tunnel cilindrici scavati in materiali plastici, da trucioli in PVC e, come sempre, da vegetazione acquatica reperita nei vicini corsi d'acqua e già disponibile all'interno dell'allevamento, riccamente popolata da macroinvertebrati.

Queste strutture rappresentano un fondamentale insieme di nascondigli che permettono ai piccoli crostacei (non più lunghi di 8-9 mm) di compiere al momento opportuno le mute e di ripararsi dalla predazione dei propri consimili nel corso di tutte le successive fasi dell'allevamento, abbassando notevolmente le perdite da cannibalismo. Ogni tre giorni si è proceduto alla verifica diretta delle femmine controllando la maturazione delle loro uova (Fig. 4). La temperatura costante dell'acqua ha consentito uno sviluppo molto più veloce rispetto a quello dei luoghi di prelievo, con un anticipo - stimato per confronto con dati pregressi raccolti nei luoghi di origine - di circa 3 mesi.

Le prime larve sono nate il 5 marzo 2012. La loro crescita viene attentamente controllata ogni giorno. Solo dopo tre mute (stadio L3) le larve lasciano la madre e iniziano una vita autonoma. Ad oggi solo alcune femmine hanno concluso il loro compito, "sgravandosi" della loro prole e sono state trasferite in una vasca più ampia dove, al riparo dai maschi, potranno esuviare. Solo in un secondo tempo esse saranno immerse assieme ai loro compagni, per continuare così il ciclo riproduttivo.



Fig. 4 - Immagine subacquea di un femmina di *A. pallipes* esaminata all'interno della struttura artificiale tra i vegetali presenti con le proprie larve prossime al naturale distacco materno. Underwater image within the "birth box" showing a female of *A. pallipes* with its larvae.

I piccoli gamberi, invece, rimarranno nelle rispettive vasche per proseguirne l'allevamento fino al raggiungimento della giusta taglia che sarà verosimilmente raggiunta, grazie al costante apporto di alimento artificiale autosufficiente, prima di settembre di quest'anno, periodo questo che di norma, in ambiente montano, vede i giovani nati misurare mediamente al massimo 1 cm.

Per quanto riguarda l'alimentazione dei nuovi nati, è in fase di prova l'impiego di diversi mangimi microgranulari tutti risultati ben apprezzati dalle larve: uno utilizzato nell'allevamento dei Peneidi (altri crostacei di acqua salmastra), e gli altri disponibili nei negozi di acquariologia per i crostacei d'acqua dolce tropicali. Tutte le fasi dell'allevamento e le operazioni quotidiane vengono seguite e realizzate grazie alla disponibilità di personale volontario dell'ETP. Un grazie particolare va a Renato Limati, Eligio Giusti e Giorgio Sut che garantiscono ogni giorno la presenza all'impianto e le cure necessarie alla buona riuscita di questo ambizioso progetto.

BREEDING OF THE CRAYFISH *AUSTROPOTAMOBIOUS PALLIPES* IN FISH FARMING PLANT OF SAN VITO AL TAGLIAMENTO (PORDENONE)

In the framework of RARITY project, two fish farming plants will be used for the rearing of the freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes*. One is located in Amaro (Udine) and the other in San Vito al Tagliamento (Pordenone). The first is being restructured and will be activated during 2012, whereas the second is operational since November 2011.

The fish farming plant located in San Vito al Tagliamento is entirely indoor and it is provided with a number of fiberglass tanks: 10 having rectangular shape (2x0.60 m) and 4 having circular shape (diameter of 1.5 m). They are supplied with well water at constant temperature of 12.4 °C (Fig. 1).

Each tank was equipped with artificial shelters, made of plastic pipes, useful for crayfish rearing as they replace their natural burrows. We must not forget that most species of freshwater crayfish are light fleeing and therefore they need to stay within shelters, which may be also useful to avoid aggression from other organisms, especially during the ecdysis. The artificial burrows are also easy to be inspected, because the animals do not "run away" even if they are extracted from the water and, due to the absence of roughness, they can be gently collected just by tilting the tubes. Each tank is equipped with a data sheet for annotations, a set for cleaning and some feeders, consisting of stained plates for feed deposition. The food given to organisms is kept well monitored and managed, in order to avoid the excessive soiling of the tank bottom.

The diet consists of a commercial, complete and balanced feed having a particular consistency able to remain compact for at least 48 hours. The food is distributed in pellet form, having different grain sizes, which has proved to be well appreciated by organisms. The daily amount of food corresponds to 5% of males biomass and 1% of females with eggs biomass. Aquatic plants (*Ranunculus*, *Helodea*, *Fontinalis* and *Myriophyllum*), previously collected from natural environment, were used to supplement the crayfish diet. The plants were placed in each tank where they may act both as additional shelters and as alternative oxygen and food source (consisting of the same plants and the settled nectoplankton and benthos organisms: *Daphniae*, copepods, *Gammarus*, *Ephemerella*, *Planorbis*, *Lymnoeae*), in particular they act as calcium source which is very useful for the ecdysis process. Practical experience has shown that in addition to the mineral salts contribution provided by the feed, the occasional consumption of aquatic molluscs (*Lymnaea* 1, *Planorbis* 2) provides an integration of proteins and carbonate calcium (Fig. 2). The crayfish used for breeding were repeatedly collected in two streams named Inglana and Gordons (both located in Pordenone District), shortly before these streams were subjected to dredging activities which would have caused the disruption of the local ecosystem. With the aim of safeguarding the populations of the two sites, both males and females were collected from the two streams and transferred to the tanks of the fish farming plant.

Two production lines were established, separating females in 8 tanks (in relation to both site of origin and egg maturation stage), and males in the other 2 tanks. The next step was to maintain the females with eggs within appropriate structures allowing safety conditions for larvae, placing them far from their mother predation. On the basis of previous experience, a "birth box" was therefore realized, suitable for the purpose and technologically advanced if compared to the "cages" used for the first time in 1986. This box is kept raised from the tank bottom and equipped with suitable holes from which larvae may move away from their mothers starting their independent life. These structures were realized in collaboration with a specialized firm. They are formed by transparent polycarbonate boxes, properly drilled and fitted with a lid, which were placed at the edges of fiberglass tanks and partially immersed in water (Fig. 3).

Even in this case, each box was equipped with an adequate number of man-made shelters, a feeder, aquatic plants and macroinvertebrates.

The tank used for small crayfish breeding (until they reach the size of 2 cm) was equipped with artificial shelters, represented by hollow bricks placed around the perimeter, hiding-places consisting of cylindrical burrows dug in plastic materials, plastic chips and aquatic vegetation collected in nearby streams.

These structures contain some hiding-places that allow small crustaceans (no longer than 8-9 mm) to make ecdysis and avoid predation during all subsequent breeding stages, lowering the losses due to cannibalism. The egg maturation stages were checked in female individuals every three days (Fig. 4). The constant temperature of water allowed a faster growth of new individuals with respect to natural population one, with an estimated advance of about three months.

The first larvae were born on 5th March, 2012. Their growth is carefully monitored every day. Only after three ecdysis (L3 stage) larvae leave their mothers and begin an independent life. Until now, only few females have released their offspring, and they were transferred into a dedicated larger tank. Only later, they will be transferred with males in another tank to continue their reproductive cycle. The small individuals remain in their rearing tanks up to the achievement of the proper size which will be probably reached before September 2012, thanks to the constant food supply. In that period, individuals from natural population are normally 1 cm long.

As regards larvae feeding, different microgranular feeds were tested: one is commonly used in penaeid breeding, and others are available in stores for freshwater tropical crustaceans. All diets resulted well appreciated by the organisms. All rearing steps and daily operations are followed and implemented thanks to the availability of volunteer staff of the ETP. A special thank goes to Renato Limati, Eligio Giusti and Giorgio Sut, for their constant help, necessary to guarantee the success of this ambitious project.

Giorgio De Luise, Massimo Zanetti

Ente Tutela Pesca del Friuli Venezia Giulia
e-mail massimo.zanetti@regione.fvg.it

OPERAZIONE DI SALVAGUARDIA DI GAMBERI DI FIUME (*AUSTROPOTAMOBIVUS PALLIPES*) ALL'INTERNO DEL SIC RISORGIVE DELLO STELLA

A causa della consistente siccità dell'inverno 2011-2012 molti corsi d'acqua hanno ridotto la loro portata d'acqua. In data 27/03/2012 il personale volontario di ETP è intervenuto all'interno del parco delle risorgive in Comune di Codroipo per effettuare un recupero di gamberi nativi (*Austropotamobius pallipes*) la cui sopravvivenza era minacciata dalla carenza d'acqua che ha colpito il sistema delle risorgive tributario della roggia S. Odorico, ed in particolare roggia nota con il toponimo locale Aghereal (Fig. 1).

La situazione è apparsa subito grave: in poche residue pozze sono stati trovati circa un centinaio di esemplari morti - tra i quali la maggior parte era rappresentata da femmine con uova. In una residua pozza ormai prossima ad asciugarsi, sono state recuperate 16 individui tra cui 8 femmine ovigeri. I pochi esemplari sopravvissuti sono stati immediatamente trasportati nell'impianto di allevamento di San Vito al Tagliamento ed ospitati in due vasche separate, dove tuttora risiedono.

Le loro uova si presentavano in una fase ancora lontana dalla comparsa degli embrioni e, nonostante fossero di maggior taglia rispetto a quelle degli altri esemplari presenti in impianto, portavano uova in quantità decisamente esigue rispetto alla loro corporatura ed alcune, addirittura, presentavano pochissime uova (Fig.2). Tale fatto è da ricercarsi con tutta probabilità nello stress subito dagli animali a seguito della carenza d'acqua.

L'intervento si prefigge di salvaguardare la popolazione del Sito, biotopo naturale istituito ai sensi della legge regionale 42/1996 per salvaguardare emergenze naturalistiche e compreso nel Sito di Importanza Comunitaria (SIC), risorgive dello Stella (IT3320026).

Già nei primi giorni di stabulazione in impianto tutti i maschi e due femmine sono morti, senza apparenti patologie. La causa è quasi certamente riconducibile allo stress causato dall'evento siccitoso.



Fig. 1 - Area dove è stato eseguito il recupero degli animali qui concentratisi dalla veloce scomparsa dell'acqua. Area where animals were collected after water disappearance.

Per tentare di recuperare le uova delle femmine, in caso di ulteriori morti, è stato realizzato con i materiali disponibili un prototipo artigianale di incubatore artificiale adatto allo scopo e realizzato secondo le esperienze maturate con successo in altri Paesi (Carral et al., 2003; Policar et al., 2006). Tale sistema consente di garantire la maturazione e la schiusa delle uova anche senza la presenza della madre.



Fig. 2 - Esemplare di femmina con poche uova. Female specimen with a low number of eggs.

È al momento un intervento sperimentale ma di grande importanza per la salvaguardia della popolazione di gamberi della roggia Aghereal di Codroipo, gravemente decimata dalle condizioni climatiche di quest'anno. L'intervento anticipa le operazioni di ripopolamento che sono previste nel progetto all'interno del medesimo Sito di Importanza Comunitaria.

Bibliografia / References

1. Carral J.M., Sàez-Royuela M., Celada J.D., Pérez J.R., Melendre P.M., Aguilera A., 2003. Advantages of artificial reproduction techniques for white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes* Lereboullet). Bull. Fr. Pêche Piscic. 370-371, 181-184.
2. Policar T., Kozák P., Martin J., 2006. Effects of egg bath and daily removal of dead eggs on hatching success and production of stage 2 juveniles during artificial incubation in noble crayfish (*Astacus astacus* L.). Bull. Fr. Pêche Piscic. 380-381, 1197-1206.

SAFEGUARD ACTION OF CRAYFISH *AUSTROPOTAMOBIOUS PALLIPES* WITHIN THE SITE OF COMMUNITY IMPORTANCE (SCI) RESURGENCE OF STELLA RIVER

During the 2011-2012 winter many rivers have reduced their water flow. On 27th March 2012 in Codroipo Resurgence Park ETP volunteer staff saved some native crayfish (*Austropotamobius pallipes*) whose survival was threatened by water shortage that hits the resurgence system of S. Odorico ditch, and in particular the one known as Aghereal (Fig. 1). The situation appeared immediately serious: in few residual pools about a hundred dead crayfish were found and most of them were represented by females with eggs. In a residual puddle, 16 individuals including 8 females with eggs were found. The surviving crayfish were immediately carried to the San Vito al Tagliamento fish farming plant and placed into two separated tanks, where they are still living. The eggs were immature and, despite the large size of the females, the egg number was very low (Fig. 2). This phenomenon was probably due to the stress suffered by animals because of water shortage. The intervention was aimed to safeguard the population of the site, a natural biotope being part of the Site of Community Importance (SCI), Resurgence of the Stella river (IT3320026). In the early days of rearing within the fish farming plant all males and two females died, showing no apparent disease. The cause is certainly the stress caused by the drought event. In order to save the eggs in case of further deaths, we realized a prototype of an artificial incubator, manufactured according to the experiences gained with success in other Countries (Carral et al., 2003; Policar et al., 2006). This system allows the maturation and hatching of eggs even without the mother presence. Notwithstanding this is only an experimental activity, it resulted of great importance for the protection of the Site crayfish population, decimated by the severe weather conditions of this year. This action anticipates the restocking activities that Rarity project planned within the same SCI.

Laura Aquiloni, Giuseppe Mazza, Francesca GherardiDipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università di Firenze
e-mail laura.aquiloni@unifi.it**MONITORAGGIO DEI GAMBERI DI FIUME: COME FARLO E A CHE SCOPO**

Per attuare una efficace gestione delle popolazioni selvatiche è indispensabile conoscerne la distribuzione sul territorio, la struttura della popolazione e le caratteristiche dell'habitat occupato, in altre parole, è necessario effettuare un monitoraggio. Anche per la gestione di gamberi indigeni, quali *Austropotamobius pallipes*, o invasivi, come il gambero nord-americano *Procambarus clarkii*, il monitoraggio costituisce il punto di partenza di ogni attività sul campo. In seguito all'acquisizione e all'organizzazione di tutte le informazioni raccolte tramite il monitoraggio e alla loro elaborazione statistica è, infatti, possibile individuare strumenti e tecniche idonee ad una efficace gestione delle singole specie. Per questo motivo nell'ambito del progetto RARITY è stato predisposto un accurato monitoraggio su 216 stazioni distribuite in tutto il territorio del FVG. Il monitoraggio, che partirà nei prossimi giorni e si protrarrà per tutta l'estate, sarà effettuato da personale volontario dell'ETP secondo i protocolli di lavoro messi a punto dall'Università degli Studi di Firenze, in collaborazione con ETP, sarà ripetuto ogni anno per tre anni in modo da riuscire a descrivere un quadro il più possibile esaustivo dello status delle popolazioni.

Esistono vari metodi riconosciuti a livello internazionale per il monitoraggio di gamberi (Peay 2003; Reynolds 2006; Reynolds 2010) la cui efficacia cambia in modo piuttosto pronunciato in relazione alle caratteristiche dell'habitat di campionamento e, in particolare, alla tipologia di substrato e alla visibilità (Tab. 1).

O'Connor et al. (2009) riportano un esempio utile per capire questo concetto: in un sito, caratterizzato da una abbondante vegetazione ripariale e substrato sabbioso, sono stati catturati 7 individui a mano, 35 utilizzando il retino e 39 con trappole. Diversamente, lavorando su

substrato roccioso, sono stati catturati 39 individui a mano, solo un gambero utilizzando il retino e 8 con trappole. Ciascun metodo presenta vantaggi e svantaggi che devono essere tenuti in considerazione in fase di progettazione del campionamento. Per consentire la massima sicurezza degli operatori impegnati nel monitoraggio nonché la confrontabilità dei dati raccolti in stazioni diverse, in RARITY abbiamo deciso di utilizzare due sole tecniche di campionamento della fauna a decapodi: il trappolaggio e il campionamento a mano. Il trappolaggio, o campionamento con trappole, è il più utilizzato perché può essere applicato nella maggior parte delle tipologie di corso d'acqua e, soprattutto, perché assicura una facile standardizzazione della raccolta dei dati anche lavorando su ampie regioni e in un elevato numero di stazioni con operatori diversi. Tuttavia, occorre tenere in considerazione che le classi di taglia più piccole non vengono campionate con il trappolaggio, perché sfuggono dalle maglie della rete (Brown & Brewis, 1979; Matthews & Reynolds, 1995; Byrne et al., 1999; Reynolds et al. 2010) e dagli adulti, eventualmente già presenti nelle trappole, che li predano oppure perché tendono ad aggregarsi vicino agli argini in prossimità delle radici dove difficilmente vengono posizionate le nasse. In alternativa al trappolaggio, esclusivamente nei siti dove l'acqua è limpida, con corrente moderata e poco profonda (tanto da non consentire l'immersione degli inganni della trappola) può essere utilizzata la cattura a mano che permette di raccogliere anche gli individui di classe più piccola (Smith et al., 1996; Byrne et al., 1999); d'altra parte, però, questo metodo presenta lo svantaggio di essere molto influenzato dall'abilità dello sperimentatore e quindi l'analisi dei dati non consente né un confronto rigoroso tra popolazioni né una analisi predittiva esaustiva sulle popolazioni nel tempo. Per questo motivo, il campionamento a mano sarà utilizzato nel minor numero di stazioni possibile. Entrambi i metodi previsti per la cattura dei gamberi, trappolaggio e catture a mano, seguiranno procedure semplici e standardizzate in modo da garantire la confrontabilità dei dati raccolti su tutto il territorio da squadre diverse. Questo darà la possibilità di: (1) confrontare popolazioni diverse, (2) confrontare popolazioni nel tempo e (3) individuare la relazione tra stato delle popolazioni e caratteristiche dell'habitat. In seguito all'elaborazione dei dati ottenuti da questo monitoraggio saremo in grado di definire le aree per la conservazione del gambero indigeno minacciato, *A. pallipes*, e per il controllo della specie invasiva *P. clarkii*, secondo quanto previsto dagli obiettivi del progetto RARITY.

Bibliografia / References

1. Brown D.J., Brewis J.M., 1979. A critical look at trapping a method of sampling a population of *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) in a mark and recapture study. *Freshwater Crayfish* 4, 159-164.
2. Byrne C.F., Lynch J.M., Bracken J.J., 1999. A sampling strategy for stream populations of white-clawed, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) (Crustacea, Astacidae). *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* 99B(2), 89-94.
3. Matthews M.A., Reynolds J.D., 1995. A population study of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) in an Irish reservoir. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* 95B, 99-109.
4. O'Connor W., Hayes G., O'Keeffe C., Lynn D., 2009. Monitoring of white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* in Irish lakes. *Irish Wildlife Manuals*, No 37. National Parks and Wildlife Service, Department of the Environment, Heritage and Local Government, Dublin.
5. Peay S., 2003. Monitoring the White-clawed Crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Conserving Natura 2000 Rivers Monitoring Series No. 1*, English Nature, Peterborough.
6. Reynolds J.D., O'Connor W., O'Keeffe C., Lynn D., 2010. A technical manual for monitoring white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* in Irish lakes. *Irish Wildlife Manuals*, No 45, National Parks and Wildlife Service, Department of the Environment, Heritage and Local Government, Dublin.
7. Smith G.R.T., Learner M.A., Slater F.M., Foster J., 1996. Habitat features important for the conservation of the native crayfish *Austropotamobius pallipes* in Britain. *Biological Conservation* 75, 239-246.

Tab. 1 – Tecniche di monitoraggio (modificato da Reynolds et al. 2010).

Metodo	Equipaggiamento richiesto	Caratteristiche del sito dove il metodo è appropriato	Vantaggi	Limitazioni/Svantaggi
Ricerca tramite snorkelling (nuoto in superficie)	Muta stagna o semistagna, maschera, retino (quello usato per gli acquari è ideale), scarpe da snorkelling, secchio, asciugamano, disinfettante. Cappuccio e guanti per muta forniscono una buona protezione.	Tratti poco profondi e profondi, substrati disturbati, laghi con sponde ripide, instabili, fangose e rocciose.	Adatto per specie bersaglio; aumento della galleggiabilità in acque profonde; capacità di esaminare il substrato in profondità (fino a 1 metro); utilizzo di entrambe le mani; i gamberi possono essere visti facilmente; minor disturbo del substrato; assenza di riverbero; vento e pioggia non rappresentano fattori di disturbo.	Impiego di molto tempo; il metodo è valido in acque limpide; disinfezione e essiccamento del materiale utilizzato prima del passaggio ad un altro sito; può essere difficile in acque basse; la nuvolosità può ridurre le condizioni di visibilità; richiede esperienza per identificare i siti idonei e per la ricerca.
Ricerca a mano	Stivali impermeabili, secchi con fondo in plexiglass o piccole faune box usate in acquariofilia, retini per acquari, disinfettante.	Tratti poco profondi, rocciosi o con sponde compatte.	Veloce; equipaggiamento necessario minimo; facilmente utilizzabile per campionamenti sotto rocce e pietre.	Limitato in acque profonde per l'impossibilità di girare le pietre; l'agitazione del fondo argilloso può rappresentare un problema; può essere un problema catturare gamberi che nuotano velocemente. metodo difficilmente standardizzabile perché dipendente dall'abilità dell'operatore
Retino da acqua	Retino da acqua, stivali, giubbotto salvagente, disinfettante.	Presenza di vegetazione, substrati di argilla, sabbia o ghiaia.	Veloce; equipaggiamento necessario minimo; sono facilmente catturabili gamberi di piccole dimensioni (giovani); la trasparenza dell'acqua non è un problema; si possono utilizzare retini con manici lunghi in acque profonde; equipaggiamento facile da disinfettare.	Metodo non utilizzabile dove sono presenti rocce, massi, ciottoli.
Trappolaggio	Nasse tipo bertovello, esche adeguate, corda, disinfettante, giubbotto salvagente, secchi, paletti.	Siti profondi, con molta vegetazione e visibilità limitata.	Indipendente dal meteo; la trasparenza dell'acqua non è un problema; può essere utilizzato durante tutto l'anno e a ogni profondità (può richiedere una barca).	Ritorno al sito per il controllo delle trappole; i gamberi di piccole dimensioni possono scappare dalle trappole; le trappole vanno incontro a usura; cattura di specie non-target. ATTENZIONE: mantenere la trappola semi-emersa per permettere la sopravvivenza di specie non target (anfibi e rettili).
Ricerca di notte	Torcia, batterie di scorta, stivali, giubbotto salvagente, secchi, retino.	Tutti i siti con facile accesso e acque non molto profonde. ATTENZIONE: si consiglia di essere sempre in coppia, soprattutto durante i monitoraggi notturni.	Metodo semplice per verificare la presenza dei gamberi; nessun rischio per specie non-target.	I siti da campionare necessitano di essere visitati prima durante il giorno; metodo difficilmente standardizzabile perché dipendente dall'abilità dell'operatore; i gamberi piccoli sono più difficili da catturare; il metodo è valido solo in acque limpide.

Laura Aquiloni, Giuseppe Mazza, Francesca Gherardi

Department of Evolutionary Biology, University of Florence
e-mail laura.aquiloni@unifi.it

MONITORING OF THE FRESHWATER CRAYFISH: HOW TO DO IT AND FOR WHAT PURPOSE

To implement an effective management of wild populations it is essential to know their spatial distribution, their population structure and the characteristics of their habitat, that is, monitoring is needed. It is the starting point of all field activities for the management of both indigenous crayfish, as *Austopotamobius pallipes*, and invasive ones, as the North-American *Procambarus clarkii*. The acquisition of data, their organization, and their statistical processing allow the identification of tools and techniques for an effective management of individual species.

For this reason, the project RARITY plans an accurate monitoring activity in 216 stations throughout the territory of Friuli Venezia Giulia.

Monitoring will start in the next few days and will continue during the summer season. It will be carried out by volunteers of ETP who will follow the protocols developed by the University of Florence, in collaboration with ETP, and will be repeated annually for three years, in order to describe an exhaustive picture of the status of crayfish populations in Friuli Venezia Giulia. There are several internationally recognized methods for crayfish monitoring (Peay 2003; Reynolds 2006; Reynolds 2010), but their efficacy varies greatly between habitats, in particular, in relation to the substrate and visibility (Table 1). O'Connor et al. (2009) show a clear example of this: in a sampling site, characterized by abundant riparian vegetation and sandy bottom, 7 individuals were captured by hand, 35 by sweep net, and 39 by trapping. In another site, working on bedrock with the same catch effort, 39 individuals were captured by hand, 1 by sweep net and 8 by trapping. Each method has advantages and disadvantages that must be taken into account when designing

sampling. To ensure the safety of volunteers in monitoring and the comparability of the data collected at different stations, two sampling techniques will be used in RARITY: trapping and captures by hand. Trapping, or sampling with traps, is the most used method since it can be applied in the majority of water bodies and, above all, since it ensures an easy standardization of the data collection also working on a wide territory and in a high number of stations with several operators. However, it should be taken into account that juveniles cannot be sampled by trapping, since they escape from net meshes (Brown & Brewis, 1979; Matthews & Reynolds, 1995; Byrne et al., 1999; Reynolds et al. 2010) and from the adults already present in the traps (which prey on them) or since they typically live near the river banks and the roots where it is difficult to place the traps. As an alternative to trapping, capture by hand can be used but exclusively in those sites where the water is limpid, with moderate current and shallow (so that does not allow an efficacious immersion of the trap). This method permits the collection of juveniles too (Smith et al., 1996; Byrne et al., 1999), but it is biased by the ability of the operators. For this reason, data analysis does not allow for either a strong comparison between populations or a projection of the population size over time.

Therefore, sampling by hand will be used in the least number of stations as possible.

Both the proposed methods for sampling crayfish, catches by traps or by hand, follow a simple and standardized procedure to ensure the comparability of the data gathered from different stations and the different operators. This will give the opportunity to: (1) compare different populations, (2) compare populations over time, and (3) identify the relationship between status of population and habitat characteristics. Following the processing of the data obtained from this monitoring, we will be able to define both the areas for the conservation of the native threatened crayfish, *A. pallipes*, and the areas of intervention for the control of the invasive *P. clarkii*, in accordance with the RARITY aims.

Tab.1 – Sampling techniques (modified from Reynolds et al., 2010).

Method	Equipment required	Site characteristics where the method is suitable	Advantages	Limitations/Disadvantages
Snorkelling Hand Search (SHS)	Wet suit or dry suit, snorkelling mask, small fish net (those used for aquarium fish are ideal), snorkelling boots, bucket, towel, disinfectant. Snorkelling hood and gloves provide extra insulation.	Shallow and deep stretches, easily disturbed substrate, lakes that shelf off abruptly, lakes with marshy / unstable margins, stony shores.	Closer to the target species, increased buoyancy in deeper water, ability to survey deeper (up to 1 m), can use both hands, crayfish easily seen / wide field of view / fewer escapees, less disturbance of the substrate, zero glare, wind and rain doesn't significantly impair ability to survey.	Time consuming changing into snorkelling gear, need clear water, drying out time / disinfecting of equipment prior to entering a different water body, can be difficult in very shallow water, overcast conditions can reduce visibility somewhat. Requires experience to identify appropriate habitats and for searching.
Hand Search	Waders, perspex bottomed bucket or small plastic aquarium, small net, disinfectant.	Shallow stretch of stony or firm-bottomed shorelines.	Fast, little equipment needed, can easily survey under rocks and stones.	Depth limited by need to reach down into water to turn over stones. Stirred up silt can be a problem. Can be difficult to catch fast swimming crayfish.
Sweep Netting (SN)	Sweep net, waders, lifejacket, disinfectant.	Vegetated sites, sites with a substratum of silt, sand or gravel.	Fast, little equipment needed, smaller crayfish (hatchlings, juveniles) are easily caught, water clarity not an issue. Can survey to depths according to the length of the net handle and waterproof gear. Easy to disinfect the equipment used.	Method not suited to shores of larger substrate size (cobbles, rocks, boulders).
Trapping (T)	Crayfish traps, bait, rope, cable ties or alternative for attaching traps to rope, disinfectant, life jacket, tinned liver cat food.	Deep site, sites with lots of vegetation and limited visibility.	Weather independent, water clarity not an issue, can be deployed any time of year to any depth (may require a boat).	Have to return to lake to retrieve traps, smaller crayfish can escape from traps especially if not modified, traps could be interfered with, time consuming. ATTENTION: maintain the trap semi-emerged for the survival of non-target species (amphibians and reptiles).
Night Search (NS)	LED security torch with a narrow beam, spare batteries, waders, lifejacket.	All site with easy access. ATTENTION: you should always be in pairs, especially during the nocturnal monitoring.	Least labour intensive method as crayfish are only counted, quick way to assess the presence of crayfish in a water-body. No risk to non-target species.	Survey area needs to be visited during daylight hours prior to night searching, calm conditions, required for observation of crayfish, crayfish characteristics not recorded. Smaller crayfish can be easily missed. Dependent on good water clarity.

Victoria Bertucci

Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste
e-mail victoria.bertucci@libero.it

POTRÀ LA GENETICA AIUTARCI A SALVARE LE POPOLAZIONI AUTOCTONE DI *AUSTROPOTAMOBIOUS PALLIPES*?

Lo stato dei gamberi d'acqua dolce autoctoni in Italia appare gravemente compromesso negli ultimi 50 anni a causa del moltiplicarsi delle minacce alla loro sopravvivenza, in gran parte associate all'intervento antropico, nelle sue svariate forme.

Il gambero di fiume *Austropotamobius pallipes* è la specie autoctona più diffusa in Italia. La sua distribuzione appare notevolmente contratta rispetto al secolo scorso, e le altre due specie di gamberi autoctoni presenti in Italia il gambero nobile, *Astacus astacus*, e il gambero di torrente, *Austropotamobius torrentium*, sono ad oggi rappresentate in Italia da un numero esiguo di popolazioni altamente minacciate.

La diversità a livello genetico è riconosciuta come uno dei tre livelli ai quali si organizza la biodiversità, insieme a quelli di specie e di ecosistema, sia dal mondo scientifico sia da chi si occupa di conservazione come ad esempio IUCN (Unione Internazionale per la Conservazione della Natura). Il mantenimento di adeguati livelli di variabilità genetica è infatti fondamentale per la persistenza a lungo termine delle popolazioni, poiché garantisce loro la possibilità di risposta agli inevitabili mutamenti ambientali. La genetica della conservazione è l'applicazione della genetica per preservare le specie. In altre parole utilizza come strumento le tecniche dell'analisi molecolare per fornire maggiori informazioni riguardanti l'identificazione della specie, la sua biologia, etologia, gli eventi demografici che l'hanno caratterizzata, la sua evoluzione nel tempo e distribuzione nello spazio.

La variabilità genetica delle popolazioni naturali è misurata mediante l'uso di marcatori genetici. I marcatori genetici sono delle regioni di DNA che presentano un certo grado di variabilità, e che quindi permettono di analizzare la diversità genetica tra individui, popolazioni, specie differenti. I marcatori genetici si sono dimostrati uno strumento utile per documentare lo stato di conservazione di popolazioni e specie e per indirizzare strategie di conservazione. Allo stesso tempo l'analisi della diversità genetica si è rivelata un utile supporto per indirizzare e supportare la gestione sostenibile di specie di interesse commerciale, contribuendo all'identificazione di riproduttori adatti per l'acquacoltura e per il ripopolamento attivo. Attualmente, l'applicazione delle conoscenze e metodologie della genetica di popolazione permette di pianificare la costituzione di stock di riproduttori ad elevata variabilità genetica, mediante l'utilizzo di riproduttori provenienti da popolazioni naturali ad alta variabilità, controllandone poi i livelli ad ogni generazione. Le stesse tecniche molecolari permettono anche di confrontare la similarità genetica dei giovanili allevati con la popolazione naturale presente all'interno dell'areale nel quale verranno rilasciati, al fine di evitare problemi di alterazione del pool genico delle popolazioni naturali e/o la perdita di adattamento a livello locale. Un'applicazione di queste metodiche in regione FVG è ampiamente utilizzata per il ripopolamento della trota marmorata (Battistella et al., 2010). Per poter attuare misure di gestione e di tutela efficaci è molto importante verificare in primo luogo l'identità della specie/sottospecie/popolazione che si vuole proteggere. Sembra cosa ovvia e banale ma spesso non è così: è il caso delle specie "criptiche", così chiamate perché sono quasi identiche dal punto di vista morfologico e quindi difficilmente distinguibili con i tradizionali metodi della tassonomia, ma significativamente distanti dal punto di vista genetico, tanto da essere considerate appunto specie diverse. Per esempio a livello europeo lo studio della morfologia dei crostacei d'acqua dolce è, per i diversi taxa presenti, tuttora contraddittoria, e

l'avvento di tecniche di biologia molecolare ha permesso una maggior chiarezza sullo status tassonomico di numerose specie.

L'identità sistematica di *A. pallipes* è tuttora controversa e il taxon è attualmente considerato come un complesso di specie (*A. pallipes* complex), sulla base delle indicazioni fornite da recenti studi molecolari. Sono state infatti identificate due specie o linee evolutive geneticamente ben differenziate: *A. pallipes* e *A. italicus* (in realtà non è ancora stato deciso ufficialmente il nome per la seconda specie), entrambe presenti nel territorio italiano, la prima confinata nelle regioni nord occidentali, la seconda distribuita lungo l'intera penisola. La diversità genetica delle popolazioni di gamberi autoctoni italiani è apparsa ancora più marcata quando l'analisi genetica si è estesa a popolazioni provenienti da varie regioni italiane. Il taxon *A. italicus* appare infatti costituito da quattro sottospecie, *A. i. italicus* nell'appennino tosco-emiliano, *A. i. carsicus* nelle regioni nord-orientali, *A. i. carinthiacus* nelle regioni centrali e nord occidentali e *A. i. meridionalis* nelle regioni centro-meridionali (Fig. 1).

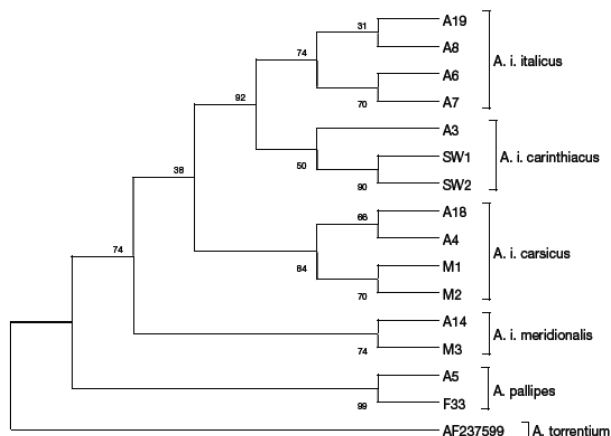


Fig. 1 - Albero filogenetico di *Austropotamobius* spp. (da Cataudella et al., 2010) che mostra la suddivisione del complesso di specie in gruppi geneticamente ben distinti. *A. torrentium* è un'altra specie di gambero autoctono, del genere *Austropotamobius*. Phylogenetic tree of *Austropotamobius* spp. (from Cataudella et al., 2010) showing the subdivision of the species complex in different sub-groups, genetically distinct.

Diversi studi genetici sono stati condotti negli ultimi anni sul gambero di fiume in Italia, in particolare nelle regioni nord-occidentali e centrali (Fratini et al., 2005; Cataudella et al., 2010; Stefani et al., 2011), evidenziando una struttura genetica molto complessa e diversificata su scala geografica. In Friuli Venezia Giulia d'altro canto ci sono numerosi e approfonditi studi sulla biologia, ecologia, distribuzione e comportamento del gambero di fiume (De Luise, 2006) ma non vi sono mai stati condotti studi sulla genetica di questo complesso di specie. Diviene quindi importante focalizzare l'attenzione sull'analisi genetica di queste popolazioni friulane. Ciò al fine di una loro corretta gestione che, per conservare la biodiversità, deve innanzitutto identificare le specie e/o sottospecie presenti nel territorio e in seguito tenere nella dovuta considerazione la loro variabilità genetica ed il loro naturale isolamento riproduttivo. Parte dell'impegno dell'Università di Trieste nel progetto RARITY è rivolto infatti alla caratterizzazione genetica delle varie popolazioni del complesso *Austropotamobius pallipes* nei siti di prelievo identificati in regione, nonché dei potenziali riproduttori da utilizzare per il ripopolamento. Per questo scopo è infatti fondamentale selezionare genitori che presentino il massimo grado di variabilità genetica al fine di assicurare una buona qualità dei giovanili prodotti per ripopolare le aree selezionate. Vista la complessa struttura genetica di *A. pallipes* in Italia, le operazioni di ripopolamento dovranno essere precedute dalla verifica della linea evolutiva presente nella zona in cui si vuole intervenire. L'immissione infatti di popolazioni appartenenti a linee evolutive diverse può comportare la perdita, a lungo termine, dell'identità genetica della popolazione, e a breve termine, il fallimento degli interventi e lo spreco delle risorse economiche allocate.

Bibliografia / References

1. Battistella S., Zanni G., Vicentini C., 2010. Indagini genetiche di linee riproduttive di trota marmorata, *Salmo [trutta] marmoratus* (Cuvier, 1817), ceppo Isonzo e ceppo Tagliamento ai fini gestionali e di salvaguardia. Studi Trent. Sci. Nat. 87, 73-76.
2. Cataudella, R., M. Paolucci, et al., 2010. Genetic variability of *Austropotamobius italicus* in the Marche's region: implications for conservation. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems 20(3), 261-268.
3. De Luise, G. (2006). I crostacei decapodi d'acqua dolce in Friuli Venezia Giulia. Recenti acquisizioni sul comportamento e sulla distribuzione nelle acque dolci della Regione. Venti anni di studi e ricerche. Ente Tutela Pesca - Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia: 94 pp.
4. Fratini, S., Zaccara S., et al., 2005. Phylogeography of the threatened crayfish (genus *Austropotamobius*) in Italy: implications for its taxonomy and conservation. Heredity 94(1), 108-118.
5. Stefani, F., S. Zaccara, et al., 2011. The endangered white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes* (Decapoda, Astacidae), east and west of the Maritime Alps: a result of human translocation? Conservation Genetics 12(1), 51-60.

Victoria Bertucci

Department of Life Sciences, University of Trieste
e-mail victoria.bertucci@unifi.it

CAN GENETICS HELP US TO SAVE THE INDIGENOUS POPULATIONS OF *AUSTROPOTAMOBIOUS PALLIPES*?

The distribution range of indigenous crayfish species in Italy has drastically decreased in the last 50 years, mainly due to the growing number of threats coming from anthropic influence. Specifically, this phenomenon has interested the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*, the most widespread indigenous crayfish species in Italy, along with *A. torrentium* and *A. astacus*, two other indigenous species, now living in small and highly fragmented populations.

Genetic variation is recognized as one of the three fundamental levels of biodiversity (ecosystem, species, genes) both by scientists and Institutions involved in conservation programs (IUCN- International Union for Conservation of Nature). The maintenance of high levels of genetic variability is important for biodiversity and for the long-term survival of populations, because it allows populations to adapt to the inevitable environmental changes.

Conservation genetics is the application of traditional genetics to species preservation. In other words molecular techniques are used as tools to address diverse questions concerning taxonomic uncertainties, life history traits, behavior, demography and biogeographic history of threatened populations and species.

Genetic variability of natural populations is measured through the use of genetic markers. Genetic markers are DNA regions showing a certain degree of variability, and therefore allow us to analyze the genetic diversity among individuals, populations and species.

Molecular markers are a useful tool to evaluate the conservation status of species and populations and to address appropriate conservation strategies. The study of genetic diversity gives a strong support to address and implement also sustainable management of species of commercial interest, by identifying suitable brood stocks for aquaculture breeding practices and active re-introduction programs.

Currently, the applications of population genetics allow us to plan the establishment of high variability breeding stocks, selecting individuals from natural populations with high genetic diversity for reproduction plans. Furthermore these techniques enable us to compare the genetic similarity of the bred offspring with the natural populations present within the area where they would be released, to avoid the gene pool alteration of the wild population and/or the loss of local adaptation.

The correct taxonomic identification of a species / subspecies / population is the first step to undertake effective management strategies. It appears to be obvious, but often it's not so: it's the case of cryptic species, so called because they are almost morphologically indistinguishable, but so genetically distant as to be indeed considered different species.

For example the study of the morphology of European freshwater crustaceans is, for the different taxa, still controversial and the advent of molecular biology techniques shed some light on the taxonomic status of many species.

The taxonomic identity of *A. pallipes* is still under debate, and the taxon is currently considered a species complex (*A. pallipes* complex), as recent molecular studies suggest. The complex is formed of two genetically well distinct species, *A. pallipes* and *A. italicus*, both present in Italy, the former confined to North-Western Italy and the latter distributed along the entire peninsula. Genetic diversities within the white-clawed crayfish complex appeared even more pronounced when studies were conducted on populations from different Italian regions. *A. italicus* taxon appears to be divided into 4 subspecies *A. i. italicus* in the North-Central Apennines, *A. i. carsicus* in North-Eastern Italy, *A. i. carinthiacus* in the Central and North Western regions, and *A. italicus meridionalis* in the Central and Southern Italy (Fig.1)

In the last decade several genetic studies have been conducted on the native white-clawed crayfish throughout the Italian peninsula, particularly in the North Western and Central regions (Fratini et al., 2005; Cautadella et al., 2010; Stefani et al., 2011), revealing a strong genetic structure on fine geographical scale. In Friuli Venezia Giulia several detailed studies exist on biology, ecology, behavior and distribution of the white-clawed crayfish (De Luise, 2006), but no genetic studies have yet been attempted on this species complex in this region. It becomes important to focus the attention on the genetics of these populations, in the first place to identify the species/subspecies present in the territory and then to assess their genetic variability and natural reproductive isolation in order to undertake appropriate management strategies.

Part of the role that the University of Trieste plays in the RARITY project aims at characterizing genetically the extant several populations of the *Austropotamobius pallipes (italicus)* complex collected in the sampling sites in FVG, and identifying the potential breeding stock to produce juveniles. To this aim it is mandatory to select reproducing individuals possessing the maximum of genetic diversity which can guarantee an optimal quality of the juveniles to be released. Given the complex genetic structure of *A. pallipes* in Italy, recovery operations must be preceded by verification of the extant genetic lineages in the area where we want to intervene. Indeed the introduction of individuals belonging to a different genetic lineage can lead to the long-term loss of the genetic identity of the native population, and in the short-term, to the failure of intervention and the waste of the allocated economic resources.

Amedeo Manfrin

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova
e-mail manfrin@izsvenezie.it

WHITE SPOT DISEASE NEL GAMBERO DELLA LOUISIANA (*PROCAMBARUS CLARKII*)

Negli ultimi 16 anni il virus della White Spot Syndrome (WSSV) è stato uno dei patogeni più importanti che ha colpito i gamberi allevati in tutto il mondo, diffondendosi da Taiwan a tutta l'Asia e quindi al Centro, Nord e Sud America. WSSV può colpire oltre il 90 % dei crostacei, ma mentre nei Peneidi può causare anche il 100 % della mortalità in 7-10 giorni. Indagini svolte in altre specie hanno dimostrato che non sempre gli animali muoiono, ma spesso resistono come serbatoi del patogeno nell'ecosistema.

Ci sono alcune pubblicazioni relative ad infezioni sperimentali in gamberi d'acqua dolce (*Procambarus clarkii*, *Cherax destructor albidus*, *Pacifastacus leniusculus* e *Astacus astacus*) che dimostrerebbero come WSSV sia in grado di determinare elevata mortalità.

C'è una sola segnalazione di un focolaio naturale in *P. clarkii* e *Orconectes punctimanus* nel Parco Zoologico Nazionale di Washington. Recentemente, nella primavera del 2007, sono stati segnalati 3 gravi episodi in allevamenti della Louisiana, con mortalità superiore al 90 % nelle trappole di cattura degli adulti. I soggetti sopravvissuti erano letargici e moribondi. Solo alcuni soggetti presentavano le tipiche macchie biancastre sulla porzione dorsale dell'addome (Fig. 1). Gli animali morti o agonizzanti delle specie

Procambarus clarkii e *P. zonangulus* sono stati inviati al Laboratorio di diagnostica degli organismi acquatici della Scuola di Medicina Veterinaria della Louisiana per essere esaminati. I campioni sono stati esaminati a fresco, mediante la tecnica di ibridazione in situ, con infezioni sperimentali nei gamberetti e mediante nested PCR. Tutti i test sono risultati positivi per WSSV, confermando come anche queste specie d'acqua dolce possano ammalarsi e fungere da portatori della malattia per altri animali maggiormente sensibili alla malattia.



Fig. 1 - Gambero affetto da white spot disease (foto di D.V. Lightner). White Spot Disease in crayfish (photo by D.V. Lightner).

Amedeo Manfrin

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova
e-mail manfrin@izsvenezie.it

WHITE SPOT DISEASE IN LOUISIANA CRAYFISH (*PROCAMBARUS CLARKII*)

For the past 16 yrs, the white spot syndrome virus (WSSV) has been a serious and devastating pathogen of farmed shrimp worldwide, spreading from Taiwan to Asia, and then to Central, South, and North America. WSSV is currently the only member of the Whispovirus genus and can infect >90 species of aquatic crustaceans. While mortality in penaeid species can reach 100% within 7 to 10 d. Investigations in other crustacean species have determined that in many cases infected animals do not die, but may serve as reservoirs for the pathogen in ecosystems. There are published reports of experimental infection in various crayfish species (*Procambarus clarkii*, *Cherax destructor albidus*, *Pacifastacus leniusculus* and *Astacus astacus*), which indicate that WSSV is capable of significant mortality in crayfish. There is only 1 report of a natural WSSV outbreak in crayfish (*P. clarkii*, *Orconectes punctimanus*), at the National Zoological Park in Washington, D.C., USA. Recently, in the spring of 2007, 3 farms in Louisiana, USA, reported significant mortalities in their crayfish ponds characterized by > 90% mortality in traps, which are designed to capture large adults. Of the individuals still alive in the traps, all were lethargic and dying. Low numbers of crayfish were seen with white spots on the dorsal abdomen (Fig. 1). Dead and dying crayfish (*Procambarus clarkii* and *P. zonangulus*) were submitted to the Aquatic Diagnostic Laboratory of the Louisiana State University School of Veterinary Medicine for examination. Case samples were initially processed for light microscopy, in situ hybridization (ISH), shrimp bioassay, and nested PCR. All tests confirmed WSSV infection, confirming that these freshwater species could be susceptible or carrier.