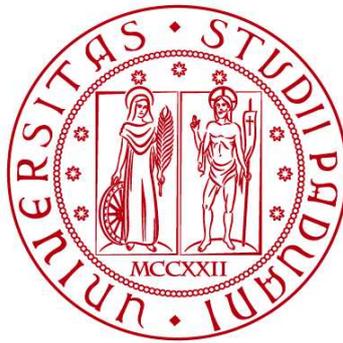


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**

**Corso di Laurea in Scienze Naturali**



**ELABORATO DI LAUREA**

**Mappatura del gambero rosso della Louisiana nel Parco Palude di Onara,  
una potenziale minaccia per la biodiversità locale**

**Tutor: Prof. Alberto Barausse  
Dipartimento di Biologia**

**Laureanda: Eleonora Bordin**

**ANNO ACCADEMICO 2023/2024**





## SOMMARIO

<b>CAPITOLO 1 - INTRODUZIONE .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 SPECIE AUTOCTONE DI GAMBERI D'ACQUA DOLCE IN EUROPA.....</b>	<b>4</b>
1.1.1 Austropotamobius pallipes (Lereboullet, 1858).....	5
1.1.2 Astacus astacus (L. 1758) .....	6
<b>1.2 SPECIE ALLOCTONE DI GAMBERI D'ACQUA DOLCE IN EUROPA.....</b>	<b>6</b>
1.2.1 Astacus leptodactylus (Eschscholtz, 1823).....	7
1.2.2 Orconectes limosus (Rafinesque, 1817).....	8
1.2.3 Pacifastacus leniusculus (Dana, 1852) .....	9
<b>1.3 IL GAMBERO ROSSO DELLA LOUISIANA.....</b>	<b>10</b>
1.3.1 Procambarus clarkii (Girard, 1852) .....	10
1.3.2 PRINCIPALI ASPETTI ECOLOGICI E COMPORTAMENTALI DI P. CLARKII .....	11
1.3.3 UN INVASORE DI SUCCESSO.....	11
1.3.4 L'IMPATTANTE ATTIVITÀ DI SCAVO.....	13
1.3.5 VETTORE DI PATOGENI .....	13
1.3.6 PESTE DEL GAMBERO.....	13
1.3.7 RISCHI PER LA SALUTE UMANA.....	14
1.3.8 DANNI AGLI ECOSISTEMI.....	15
1.3.9 AGGRESSIVITÀ E COMPETITIVITÀ.....	15
<b>1.4 SCOPO DELLA TESI .....</b>	<b>15</b>
<b>CAPITOLO 2 - MATERIALI E METODI.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 IL SITO DI ONARA.....</b>	<b>17</b>
2.1.2 PRESSIONI AMBIENTALI .....	19
<b>2.2 CAMPIONAMENTO .....</b>	<b>20</b>
2.2.1 CAMPIONAMENTO CON NASSE .....	20
2.2.2 CAMPIONAMENTO CATTURA ATTIVA.....	22
<b>2.3 RACCOLTA DATI SU P. CLARKII .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4 CAMPIONAMENTO DI ALTRI PARAMETRI.....</b>	<b>23</b>
2.4.1 DNA AMBIENTALE .....	23
<b>2.5 DATI METEOROLOGICI .....</b>	<b>24</b>
<b>2.6 QUALITÀ DELLE ACQUE .....</b>	<b>24</b>
<b>CAPITOLO 3 - RISULTATI.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 CATTURE PER SFORZO DI CAMPIONAMENTO.....</b>	<b>25</b>
3.1.1 ABBONDANZA DEI SITI .....	25
<b>3.2 MONITORAGGIO CON CATTURA ATTIVA.....</b>	<b>27</b>
3.3.1 PESO E LUNGHEZZA TOTALE .....	28
3.3.2 CARAPACE .....	29
3.3.3 CHELA.....	31
<b>3.4 ESCA PIÙ EFFICACE.....</b>	<b>33</b>
<b>3.5 RISULTATI DELLE ANALISI DEL DNA AMBIENTALE .....</b>	<b>33</b>
<b>3.6 DATI METEOROLOGICI .....</b>	<b>34</b>
<b>CAPITOLO 4 - DISCUSSIONE.....</b>	<b>37</b>

<b><i>CAPITOLO 5 – CONCLUSIONI</i></b> .....	<b>39</b>
<b><i>5.1 PER STUDI FUTURI</i></b> .....	<b>39</b>
<b><i>BIBLIOGRAFIA</i></b> .....	<b>41</b>
<b><i>SITOGRAFIA</i></b> .....	<b>42</b>

## CAPITOLO 1 - INTRODUZIONE

I gamberi d'acqua dolce sono crostacei decapodi appartenenti a due superfamiglie: gli Astacoidea e i Parastacoidea (Mazzoni et al., 2004) la cui storia filogenetica, risalente al Carbonifero, prevede come antenato comune *proto astacus* che successivamente ha dato vita alla linea evolutiva di Cambaridae e Astacidae (Mazzoni et al., 2004). Un enorme processo di radiazione adattativa, cominciato presumibilmente nel Triassico spiega la grande diversità di gamberi e i molteplici habitat da loro occupati, dalle acque dolci alle acque salmastre, dagli ambienti sotterranei agli ambienti semi terrestri e addirittura ambienti terrestri (Mazzoni et al., 2004). Alcune specie risultano potenzialmente invasive per alcune caratteristiche come fecondità elevata, plasticità fenotipica, politrofismo, resistenza a condizioni ambientali estreme, comportamenti competitivi e una rapida dispersione (Mazzoni et al., 2004). Le specie che occupano habitat nelle aree temperate risultano di dimensioni maggiori con una vita più longeva e molto frequentemente si rilevano popolazioni con grandi concentrazioni di individui (Gherardi, 2006). Dalla schiusa le uova non rilasciano larve bensì individui morfologicamente adulti di dimensioni minori, caratteristica dello sviluppo diretto (Mazzoni et al., 2004). Il corpo di un gambero è suddiviso in tre regioni: regione del capo, regione toracica e addome. La regione del capo è compresa tra rostro e solco cefalico, presenta occhi, antenne, antennule e apparato masticatore comprendente mandibola, prima e seconda mascella. La regione toracica è inserita tra il solco cefalico e il primo solco addominale e comprende tre appendici masticatorie, primo, secondo e terzo massillipede, cinque paia di appendici per la locomozione e cinque pereopodi dei quali il primo è provvisto di chela ben sviluppata, il secondo e il terzo con piccola chela, quarto e quinto sprovvisti di chela (Mazzoni et al., 2004). La chela consiste di due elementi: dattilopode e propodite, rispettivamente la componente mobile e quella fissa, entrambi articolati sul carpo (Mazzoni et al., 2004). Capo e torace sono uniti insieme a formare il cefalotorace protetto dal carapace, composto da chitina e sali di calcio che si rinnova periodicamente con le fasi di ecdisi, alternati da fasi di intermura (Mazzoni et al., 2004). La regione addominale, compresa tra regione toracica e telson è costituita da 6 segmenti anulari composti rispettivamente nella parte superiore dal tergite mentre in quella inferiore dallo sternite con cinque paia di arti addominali: i pleopodi (Mazzoni et al., 2004). L'apparato genitale si osserva sul lato ventrale del torace: nei maschi una coppia di pleopodi è modificata in gonopodi adibiti alla copula mentre nelle femmine tale struttura è rimasta rudimentale. A ricoprire la funzione di "pinna natatoria" è il ventaglio caudale, formato da uropodi e telson per attuare la tipica propulsione all'indietro (Mazzoni et al., 2004). La respirazione avviene grazie alle lamelle branchiali inserite nelle camere branchiali contenute all'interno del solco brachiocardico, lateralmente al cefalotorace e protette dal carapace (Mazzoni et al., 2004).

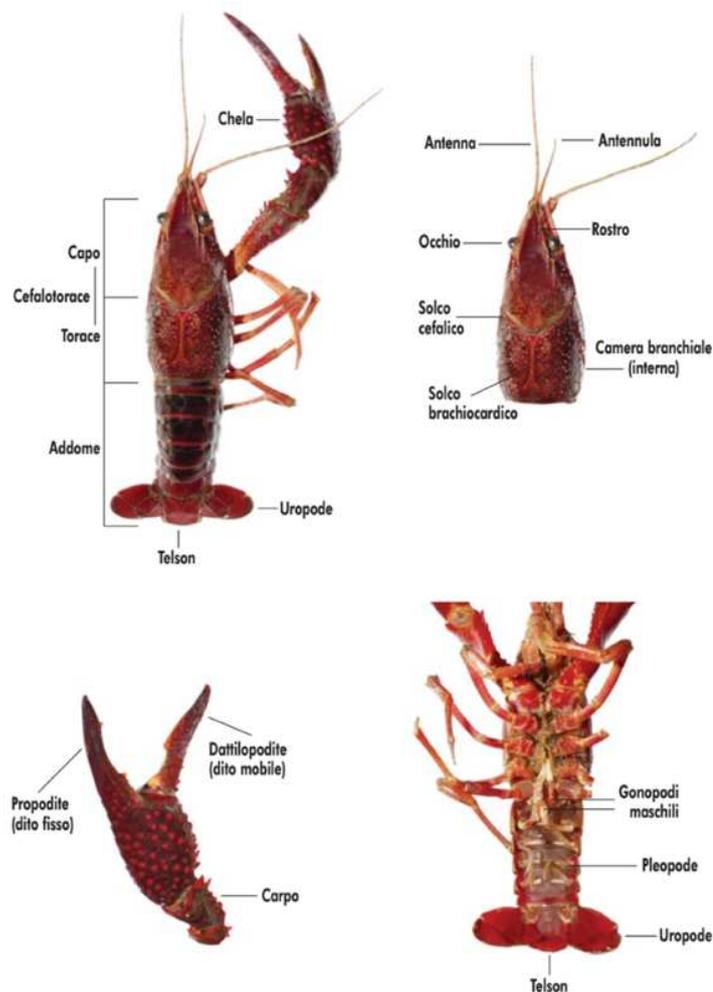


Figura 1: Morfologia di *Procambarus clarkii*, foto prelevata da "Guida al riconoscimento dei gamberi di acqua dolce" Mazzoni et. al, 2004.

### 1.1 SPECIE AUTOCTONE DI GAMBERI D'ACQUA DOLCE IN EUROPA

Le specie di gamberi autoctoni in Europa appartengono al genere *Astacus* e *Austropotamobius* (Mazzoni et al., 2004). Sebbene *Austropotamobius pallipes* sia ancora ampiamente diffuso, specie come *Astacus astacus* stanno subendo un forte declino con alcune popolazioni a rischio di estinzione; le cause principali di questo declino, specialmente nel nord Italia, sono attribuibili all'utilizzo del suolo per opere di urbanizzazione, drenaggio e canalizzazione, costruzione di dighe, uso intensivo di acqua per scopi industriali, agricoli e civili, lo scarico di acque calde e di rifiuti industriali e domestici, l'acidificazione delle acque e l'introduzione accidentale di specie alloctone (Morpugno et al., 2010). *Austropotamobius pallipes* è considerata come specie vulnerabile ed è stata inserita nella Lista Rossa dell'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN) come "endangered"; il nome di questa specie è presente anche nella Direttiva Habitat dell'Unione Europea (Caprioli et al., 2013).



Figura 2: visione dorsale di *A. pallipes*, immagine ricavata dalla guida al riconoscimento dei gamberi di acqua dolce di Mazzoni et. al 2004

### 1.1.1 *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858)

*A. pallipes* (Figura 2), noto come gambero di fiume, è una specie appartenente alla famiglia degli Astacidae. Vive in habitat caratterizzati da acque correnti, limpide, fresche e ben ossigenate, risultando un ottimo indicatore della qualità dell'acqua e quindi estremamente sensibile sia all'inquinamento che alla peste del gambero (Mazzoni et al., 2004). Predilige fondali duri con substrato limoso, ma può adattarsi anche a fondali fangosi e ad ambienti lacustri. Per ridurre i rischi della predazione, questa specie ha sviluppato abitudini prevalentemente crepuscolari e notturne, preferendo ripari naturali come pietre, radici e gallerie scavate lungo gli argini (Caprioli et al., 2013). Non tollera temperature superiori ai 24-25 °C e si trova in ambienti ad altitudini comprese tra i 90 e i 1050 m s.l.m. su tutta l'areale della penisola italiana escluse le isole (Mazzoni et al., 2004; Morigio et al., 2010). *Austropotamobius pallipes* ha una dieta onnivora ma essenzialmente zoofaga e detritivora. Questa specie ha un lungo ciclo vitale poichè un individuo può superare i dieci anni di vita; tuttavia bassa fecondità, crescita lenta, scarsa probabilità di sopravvivenza degli stadi giovanili e il raggiungimento della maturità dopo il terzo o quarto anno di vita accentuano la precarietà di questa specie autoctona (Caprioli et al., 2013). Il periodo riproduttivo è compreso tra la fine dell'autunno fino a fine primavera con la schiusa delle uova. A seconda della taglia una femmina può produrre dalle 50 alle 100 uova che mantiene attraverso i pleopodi fino alla schiusa (Caprioli et al., 2013). Gli esemplari di *Austropotamobius pallipes* raggiungono dimensioni di 100-120 mm, colorazioni bruno-verdastre solitamente più chiari nella zona ventrale e con carapace prevalentemente granuloso e chela robuste e granulose dove risultano più sviluppate nei maschi (Mazzoni et al., 2004).

### 1.1.2 *Astacus astacus* (L. 1758)

*A. astacus* (Figura 3), o gambero di fiume europeo, è una specie appartenente alla famiglia degli Astacidae proveniente da paesi dell'Europa centro orientale come Francia, Scandinavia, Paesi Baltici e successivamente introdotto nella penisola Iberica e in Gran Bretagna. (Mazzoni et al., 2004). Il gambero di fiume europeo risulta sensibile alla peste del gambero, all'inquinamento e alla scarsa qualità delle acque, soffrendo basse concentrazioni di ossigeno e temperature superiori ai 25 °C, seleziona corsi d'acqua a corso lento, laghi e stagni, apprezzando sia fondali fangosi che duri ricoperti di pietre e ciottoli (Mazzoni et al., 2004). *A. astacus* predilige una dieta onnivora basata su detriti e vegetali, nutrendosi tuttavia anche di molluschi, larve di insetti e altre prede di piccole dimensioni data la sua natura predatoria (Mazzoni et al., 2004). Gli individui di questa specie raggiungono lunghezze totali di 120-150 mm in media, sebbene si registrino alcuni individui maschi con taglie fino ai 250 mm. La livrea presenta colorazione variabile, dal marrone al verdastro al verde oliva, con tonalità più chiare ventralmente. Il carapace risulta liscio o leggermente granuloso e chela robuste con la faccia inferiore tendente al rossastro, diagnostico per questa specie (Mazzoni et al., 2004).



Figura 3: visione dorsale di *A. astacus*, immagine ricavata dalla guida al riconoscimento dei gamberi di acqua dolce, Mazzoni et. al 2004

## 1.2 SPECIE ALLOCTONE DI GAMBERI D'ACQUA DOLCE IN EUROPA

Per affrontare il declino delle popolazioni autoctone di gamberi d'acqua dolce, alcuni autori hanno suggerito l'introduzione di specie alloctone; tuttavia, queste raccomandazioni non hanno avuto l'effetto sperato e hanno contribuito ulteriormente ad aumentare il rischio di estinzione delle specie native (Morpugno et al., 2010). Le specie alloctone invasive rappresentano la seconda minaccia più grave per la biodiversità, superata solo dalla perdita e dalla degradazione degli habitat (Aquiloni et al., 2015). Vengono definite specie aliene quelle specie introdotte in un territorio al di fuori del loro areale di distribuzione originario, sia per azione volontaria che accidentale da parte dell'uomo, degli animali o delle piante. Queste specie possono sostituire le specie indigene, determinare importanti cambiamenti ecologici e provocare danni economici considerevoli qualora invasive (Aquiloni et al., 2015). Contrariamente ai gamberi autoctoni, le specie alloctone in Italia come *Astacus leptodactylus*, *Procambarus clarkii*, *Orconectes limosus* e *Pacifastacus leniusculus* sono in netta maggioranza numerica ed esistono in popolazioni riproduttive (Morpugno et al., 2010). Il successo delle specie alloctone invasive nella sopravvivenza è attribuibile alla loro rapidità di crescita, alla maturità precoce, all'alta prolificità, alla resistenza all'inquinamento chimico, alla tolleranza a riscaldamenti e situazioni di disseccamento dei bacini, e alla loro refrattarietà a patologie e parassiti (Morpugno et al., 2010). Queste specie competono con le specie di gamberi autoctone, come *Austropotamobius pallipes*, e

possono fungere da portatori asintomatici di patologie come la peste del gambero, contribuendo alla loro estinzione locale (Caprioli et al., 2013). In Europa, la presenza di gamberi non indigeni, soprannominabili con l'acronimo NICS (dall'inglese "Non Indigenous Crayfish Species") come *P. clarkii* e *P. leniusculus* ostacola il raggiungimento di un buono stato ecologico dei corpi idrici. I danni all'ecosistema sono tali che, nel 1992, il Summit di Rio de Janeiro della Convenzione delle Nazioni Unite sulla Diversità Biologica (CBD) ha visto i governi impegnarsi "a fare quanto possibile e appropriato per prevenire l'introduzione, controllare o eradicare quelle specie aliene che minacciano gli ecosistemi, gli habitat e le specie" (Aquiloni et al., 2015). Queste specie invasive possono essere prede di mammiferi come le lontre, pesci e uccelli, e la "Strategia Europea sulle Specie Aliene Invasive" affronta la loro gestione e controllo (Gherardi et al. 2013).

#### 1.2.1 *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823)



Figura 4: visione dorsale di *A. leptodactylus*, immagine ricavata da guida al riconoscimento dei gamberi di acqua dolce, Mazzoni et. al 2004

*A. leptodactylus* (Figura 4), o gambero turco, appartiene alla famiglia Astacidae. Introdotto inizialmente per motivi commerciali è di Russia, Romania, Bulgaria e Turchia settentrionale (Gherardi et al., 2013; Mazzoni et al., 2004). La sua presenza è stata registrata in tutta Europa, principalmente nei fiumi che si immettono nel Mar Nero e nel Mar Caspio e introdotta in Francia, Germania e Gran Bretagna (Mazzoni et al., 2004), ad eccezione della penisola iberica, Scandinavia e Svizzera (Gherardi et al., 2013). Rilevata la sua presenza per la prima volta in Italia negli anni '70, ad oggi è accertata in Emilia-Romagna, Lazio, Lombardia, Liguria e Umbria, dove

viene generalmente importata e conservata in bacini prima di essere commercializzata ma è stata segnalata anche in acque libere (Gherardi et al., 2013; Mazzoni et al., 2004). *A. leptodactylus* è presente in fiumi, laghi e stagni prediligendo acque a flusso lento e substrati sia melmosi che rocciosi. (Mazzoni et al., 2004). Dotato di robustezza e adattabilità questa specie tollera ampie variazioni di temperatura (fino ai 25°C) e un'ampia gamma di condizioni ambientali come acque a bassi tenori d'ossigeno, acque torbide, acque salmastre con elevati livelli di salinità (Mazzoni et al., 2004). Caratteristiche favorevoli per questa specie sono la crescita molto rapida, una precoce maturità sessuale e una capacità riproduttiva molto elevata, poiché una femmina può produrre fino a 800 uova (Mazzoni et al., 2004). È una specie sensibile alla peste del gambero e ad altri parassiti, ciò ne giustifica la sua limitata espansione nell'areale distributivo (Mazzoni et al., 2004; Gherardi et al. 2013). *A. leptodactylus* presenta lunghezze totali tra i 120-150 mm, talvolta con registrazioni fino ai 300 mm, e pesi fino ai 200 g. Questa specie presenta un carapace generalmente granuloso, con colorazione che va dal verde oliva al bruno giallastro dorsalmente e più chiaro ventralmente; diagnostiche per questa specie sono le chele granulose e ben sviluppate con dita lunghe, dritte, sottili e con margine interno liscio. *A. leptodactylus* presenta una dieta onnivora con predilezione per gli organismi zoobentonici,

nutrendosi anche di piccoli pesci, avannotti, alghe, macrofite e detrito vegetale (Gherardi et al.,2013). Il raggiungimento della maturità sessuale avviene attorno ai 3-4 anni, la schiusa delle uova va tra la fine della primavera e l'estate con un numero medio di uova compreso tra 210 e 528 (Gherardi et al.,2013). Più recentemente, un rapido calo di una popolazione abbondante *Astacus leptodactylus* è stato seguito dalla rilevazione di *Procambarus clarkii* (Souty-Grosset et al., 2016).

### 1.2.2 *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817)

*O. limosus* (Figura 5), o gambero americano, fa parte della famiglia Cambaridae (Gherardi et al.,2013; Mazzoni et al., 2004). Le dimensioni contenute di *O. limosus* variano tra i 60-90 mm, con un massimo di 120 mm (Gherardi et al.,2013), la colorazione della livrea va dal verde oliva con distintive macchie triangolari marrone\rossicce sui segmenti dell'addome, chele con la punta ad uncino con delle bande arancioni e nere, il lato interno del carpo ha una spina prominente e ricurva (Gherardi et al.,2013). La specie, originaria degli Stati Uniti, si è diffusa in Europa dalla Polonia per colonizzare successivamente anche gli altri paesi europei come Francia, Germania, Svizzera, Lituania e Repubblica Ceca, particolarmente abbondante negli stati collegati dal Danubio (Romania, Bulgaria e Ucraina) attraverso il quale questa specie si è diffusa (Gherardi et al., 2013), se ne registra la presenza in Marocco e persino



Figura 5: visione dorsale di *O. limosus*, immagine ricavata dalla guida al riconoscimento dei gamberi di acqua dolce, Mazzoni et. al 2004.

in Australia. In Italia la sua prima introduzione è avvenuta in maniera accidentale per la presenza di alcuni individui in un lotto di pesci provenienti dalla Polonia (Gherardi et al.,2013), ora è presente in Veneto, Trentino Alto Adige, Lombardia, Piemonte, Emilia-Romagna, Lazio e Umbria (Gherardi et al.,2013). Questa specie ha una dieta onnivora (Gherardi et al.,2013). Con una vita media di 4 anni e un rapido ciclo riproduttivo, gli individui raggiungono la maturità sessuale quando presentano lunghezze del cefalotorace di 25-35 mm (Gherardi et al.,2013). Il periodo di accoppiamento di *O. limosus* avviene principalmente in primavera e in autunno, se la temperatura dell'acqua si mantiene superiore ai 7 °C anche in inverno (Gherardi et al.,2013); una femmina può produrre fino a 600 uova che vengono mantenute sotto l'addome fino a fine maggio, poi le forme giovanili conducono vita libera già da giugno (Gherardi et al.,2013). Favorisce laghi e stagni anche di qualità scadente e acque a lento scorrimento, vivendo sia su fondali melmosi e fangosi che su substrati duri di ciottoli e ghiaia (Gherardi et al.,2013). *O. limosus* è una specie che causa danni rilevanti sia in maniera diretta che indiretta, è vettore di *Aphanomyces astaci* e di numerosi altri ectoparassiti, causa profonde alterazioni nell'habitat che colonizza a causa della sua attività di scavo intensa (Gherardi et al.,2013). *O. limosus* è una specie invasiva che convive con altre specie invasive come *Procambarus leniusculus* e *Procambarus clarkii* (Gherardi et al.,2013).

### 1.2.3 *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852)



Figura 6: visione dorsale di *P. leniusculus*, immagine ricavata da guida al riconoscimento dei gamberi di acqua dolce, Mazzoni et. al 2004

*P. leniusculus* (Figura 6) o gambero della California è un decapode d'acqua dolce della famiglia Astacidae endemico del Nord Ovest degli USA e Sud Ovest del Canada, presente attualmente in 24 paesi europei; la sua prima introduzione è avvenuta nel 1959 in Svezia, e dalle ultime registrazioni le popolazioni riproduttive di *P. leniusculus* si trovano in Svezia e Finlandia, Francia, Spagna, Russia, Isole Britanniche e Giappone (Gherardi et al.,2013); nella maggior parte dei casi *P. leniusculus* ha sostituito le specie autoctone risultando la specie di gambero alieno maggiormente diffusa. (Gherardi et al.,2013). La sua comparsa è avvenuta in seguito alla liberazione di esemplari ad opera di pescatori o itticoltori (Morpugno et al., 2010) e in Italia si localizza nelle province di Bolzano, Genova e Alessandria (Gherardi et al.,2013). Presenta un'alimentazione generalista e opportunistica (Gherardi et al.,2013) prediligendo habitat d'acqua dolce di diffe-

renti altitudini, tollerando anche le acque salmastre (Gherardi et al.,2013). Si tratta di una specie altamente invasiva, allevata intensamente e introdotta per sostituire *Astacus astacus* nel mercato europeo (Gherardi et al.,2013). Gli individui di questa specie, che possono raggiungere i 20 anni di vita, assumono taglie intorno ai 150 mm ma in alcuni casi può raggiungere anche i 200 mm, con chele ben sviluppate di grandi dimensioni. La livrea assume colorazione marrone-grigia sul dorso e rosso arancione brillante ventralmente ed è dotato di un carapace liscio e chele robuste (Gherardi et al.2013). La maturità sessuale attorno ai 2-3 anni con un periodo riproduttivo che comincia ad ottobre con l'accoppiamento, seguito dalla deposizione delle uova, il cui periodo della schiusa si colloca tra fine marzo e metà luglio. Gli individui di *P. leniusculus* sono altamente prolifici, una femmina di *P. leniusculus* può deporre tra le 200 e le 400 uova ma il tasso di sopravvivenza degli stadi è tra il 10 e il 52% (Gherardi et al.,2013). Questa specie provoca ingenti danni all'ambiente e all'ecosistema in quanto l'intensa attività trofica, l'elevata capacità riproduttiva, il comportamento aggressivo e l'attività di scavo che deturpano radicalmente l'ecosistema invaso ed è inoltre vettore di *A. astaci* (Gherardi et al.,2013).

## 1.3 IL GAMBERO ROSSO DELLA LOUISIANA

### 1.3.1 *Procambarus clarkii* (Girard, 1852)

*Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Figura 7) citato da Gherardi et al. (2013) come “gambero killer”, è una specie della famiglia Cambaridae originaria di Stati Uniti centro meridionali e di Messico nordorientale, introdotto e presente pressoché in tutti i continenti fatta eccezione di Australia e Antartide.

La prima importazione avvenne nel 1973 nel sud della Spagna, dalla quale ha successivamente colonizzato le altre nazioni circostanti; attualmente in Europa è presente in 13 paesi. In Italia la sua comparsa risale al 1989 nel torrente Banna, un affluente del Po, e nel 1993 in Toscana nel lago Massaciuccoli per scopi di acquacoltura dove sembrerebbe che alcuni esemplari siano fuggiti dalle vasche di allevamento (Mazzoni et al. 2004;



Figura 7: visione ventrale di un maschio di *P. clarkii*, foto di E. Bordin, 2022

Gherardi et al. 2013). Ad oggi è presente in gran parte del centro nord Italia con segnalazioni anche nelle isole ed è definito da Mazzoni et al. (2004) come “la specie alloctona con la più grande diffusione”.

Per un corretto riconoscimento questa specie si distingue una colorazione dal rosso brillante al rosso scuro, gli individui dopo la muta presentano riflessi bluastri mentre i giovani assumono una pigmentazione grigiastria ma sono note inoltre anche varietà blu, gialle, bianche e nere (Mazzoni et al 2004; Gherardi et al., 2013) mentre le dimensioni raggiungono lunghezza totale corporea tra i 100 ai 200 mm, talvolta i maschi presentano misure anche maggiori (Mazzoni et al., 2004). *P. clarkii* possiede carapace e chele granulose ben sviluppate e di dimensioni nettamente superiori negli individui di sesso maschile, presenza di spine e tubercoli pronunciati, specialmente sul lato interno (Gherardi et al., 2013). Gli individui maschi si contraddistinguono per una mole superiore, con una tipica spina sul carpo e bande scure sulla parte dorsale dell’addome e cefalotorace ruvido (Mazzoni et al 2004; Gherardi et al., 2013). Gli esemplari di questo sesso possono assumere una forma sessualmente attiva caratterizzata da gonopodi sclerificati e uncini specializzati per afferrare la femmina durante la copula (Gherardi et al., 2013). Il gambero rosso della Louisiana presenta un ciclo vitale che raggiunge la maturità sessuale a partire dai 45 mm di lunghezza totale e le femmine sessualmente mature presentano un ricettacolo seminale (*annulus ventralis*) sclerificato posto tra le basi delle appendici ambulacrali. Una femmina può produrre in media fino alle 600 uova proporzionalmente alla taglia dell’individuo (Gherardi et al., 2013). Lo sviluppo embrionale e accrescimento dipendono dalla temperatura, non tollerando temperature inferiori ai 10 °C (Gherardi et al., 2013).

### 1.3.2 PRINCIPALI ASPETTI ECOLOGICI E COMPORTAMENTALI DI *P. CLARKII*

Inizialmente introdotto come specie esotica da acquario, quando liberato in ambiente naturale *Procambarus clarkii* ha dimostrato un tipico andamento di crescita delle specie invasive colonizzando rapidamente vari habitat, causando notevoli danni agli ecosistemi e alterando le relazioni con le specie native (Mazzoni et al., 2004). Dotato di una notevole adattabilità, *P. clarkii* è ampiamente diffuso nel Nord America, nel bacino del Mississippi e lungo le coste del Pacifico ma tale caratteristica l'ha reso in grado di colonizzare praticamente tutti i tipi di habitat; sopravvive in acque a lento scorrimento e con scarsità di ossigeno, può resistere inoltre fuori dall'acqua per periodi prolungati. *P. clarkii* è capace di colonizzare sia acque dolci che salmastre, preferendo però zone umide con acqua stagnante e poco profonda, come paludi e acquitrini (Mazzoni et al., 2004; Mompugno et al., 2010). È presente anche in ambienti fluviali e lacustri, inclusi habitat soggetti a variazioni stagionali del livello dell'acqua, può sopportare il temporaneo disseccamento respirando fuori dall'acqua umidificando le lamelle branchiali (Mazzoni et al., 2004; Gherardi et al. 2013). *Procambarus clarkii* predilige un'alimentazione onnivora, caratterizzata da un comportamento definito da Gherardi et al. (2013) "generalista e opportunista", preferisce principalmente vegetali e detriti organici, con gli adulti che si cibano di piante e detrito vegetale, mentre i giovani prediligono proteine animali, questo comportamento alimentare consente a *P. clarkii* di sfruttare un'ampia gamma di risorse negli habitat che invade (Gherardi, 2006; Gherardi et al., 2013). *Procambarus clarkii* resiste sia all'inquinamento sia alla peste del gambero, di cui è un potenziale portatore sano (Mazzoni et al., 2004). Grazie alla sua elevata adattabilità, comportamento aggressivo, altissima prolificità e grande capacità di dispersione attiva, questa specie rappresenta un "vero pericolo per gli ecosistemi in cui viene introdotta" (Mazzoni et al., 2004). Le abbondanti popolazioni di *Procambarus clarkii* si sono verificate nel nord Italia, specialmente nella Pianura Padana, dove hanno colonizzato diversi habitat (Mompugno et al., 2010). La voracità alimentare di questa specie e il grande numero di individui che invadono gli ecosistemi hanno contribuito significativamente alla perdita di biodiversità nelle aree di colonizzazione, provocando l'estinzione di specie animali e vegetali (Mompugno et al., 2010).

### 1.3.3 UN INVASORE DI SUCCESSO

*Procambarus clarkii*, noto per essere un vettore della peste del gambero, rappresenta una notevole minaccia per gli ecosistemi acquatici di acqua dolce in tutta Europa. La diffusione di questa specie invasiva è facilitata dal suo ciclo vitale rapido, dalle notevoli capacità di dispersione, dall'intensa attività di scavo e dall'alta densità di popolazione (Souty-Grosset et al., 2016). Originariamente importato per soddisfare la domanda di mercato, *Procambarus clarkii* è stato allevato intensivamente in Cina e negli Stati Uniti e successivamente introdotto in Europa per il suo elevato valore commerciale (Gherardi, 2006). Tuttavia, la sua alta fecondità e la natura r-selettiva lo hanno reso un invasore di successo, capace di colonizzare rapidamente nuovi habitat e stabilire popolazioni autosufficienti, con gravi impatti sulla biodiversità locale (Gherardi et al., 2013). Classificato tra le 100 peggiori specie invasive d'Europa, *P. clarkii* ha dimostrato una straordinaria adattabilità, invadendo una vasta gamma di habitat e sostituendo i gamberi

d'acqua dolce autoctoni attraverso meccanismi di esclusione competitiva e diffusione di *Aphanomyces astaci* (Gherardi, 2006). Il suo comportamento flessibile gli consente di adattarsi a nuove tipologie di predatori e tollerare condizioni di stress ambientale ed è in grado, inoltre, di resistere a deterrenti naturali come la tetrodossina prodotta dalle larve di *Taricha torosa* (Gherardi, 2006). La capacità di dispersione è notevole: *P. clarkii* può percorrere distanze significative sia via terra che in acqua ed è in grado di sopravvivere per oltre 10 ore sulla terraferma e spostarsi fino a 1 km su terreno asciutto. In ambienti acquatici, può coprire distanze variabili dai 38 ai 255 metri in mezza giornata, con casi documentati di percorrenze fino a 4000 metri in una settimana nelle risaie (Souty-Grosset et al., 2016). Inoltre, la dispersione passiva, ad esempio attraverso il trasporto da parte di uccelli acquatici o dall'attività umana, incrementa ulteriormente la sua diffusione. L'introduzione e la diffusione di *P. clarkii* hanno provocato un incremento degli impatti ecologici negativi, inclusa la distruzione degli habitat naturali e la riduzione delle specie autoctone. Questo gambero non solo trasforma fisicamente gli ambienti attraverso il suo scavo intensivo, ma causa anche un aumento della torbidità dell'acqua e una riduzione della penetrazione della luce, compromettendo gli ecosistemi acquatici e danneggiando le attività agricole, in particolare nelle risaie (Barbaresi et al., 2004; Gherardi, 2006).



Figure 8 e 9: esemplari maschi di *P. clarkii* appena catturati al Parco Palude di Onara, Tombolo (PD), foto di E. Bordin, 2022



Figura 10: esemplare maschio di *P. clarkii* appena catturato al Parco Palude di Onara, Tombolo (PD), foto di E. Bordin, 2022.

#### 1.3.4 L'IMPATTANTE ATTIVITÀ DI SCAVO

*P. clarkii* è noto per la sua intensa attività di scavo, provocando modificazioni e danni agli ambienti acquatici che invade. Questo gambero scava buche e tunnel di notevole profondità, tra i 400 e i 900 mm, sia lungo gli argini che sui fondali, per periodi prolungati, fino a 6-10 giorni consecutivi, a seconda della composizione del suolo e dell'umidità (Mazzoni et al., 2004). La sua attività di scavo è fondamentale per la sopravvivenza in condizioni ambientali estreme, come siccità e temperature elevate, poiché le tane offrono riparo e protezione dai predatori. Tuttavia, questa intensa attività danneggia le strutture di argini, fiumi e laghi, contribuendo alla bioturbazione delle acque e causando deficit nella produzione primaria (Gherardi et al.; Morpugno et al., 2010). Gli esemplari di *P. clarkii* tendono a scavare tane nel sedimento fine, con particelle di dimensioni comprese tra 0,1 e 0,2 mm, adattate alle specifiche condizioni degli habitat garantendo un ambiente di rifugio e protezione (Souty-Grosset et al., 2016). L'attività di scavo di *P. clarkii* può provocare il collasso degli argini, con gravi ripercussioni sia per l'agricoltura e altre attività umane che per gli ecosistemi naturali. I campi coltivati, in particolare le risaie, subiscono danni notevoli, mentre la torbidità dell'acqua aumenta, riducendo la penetrazione della luce e compromettendo ulteriormente gli ecosistemi acquatici (Barbaresi et al., 2004; Gherardi, 2006).

#### 1.3.5 VETTORE DI PATOGENI

La presenza di *P. clarkii* può rappresentare un rischio importante per la salute ambientale, animale e umana. Questa specie, oltre a essere portatore dell'agente patogeno *Aphanomyces astaci*, veicola una vasta gamma di altri patogeni, parassiti, epibionti e malattie che possono colpire diverse specie (Aquiloni et al., 2011; Gherardi et al., 2013) come specie del genere *Psorospermium* che, veicolate da *P. clarkii*, sono potenzialmente infettive di numerose specie acquatiche (Gherardi et al., 2013). Inoltre, *P. clarkii* può fungere da ospite intermedio per elminti parassiti di vertebrati che possono infettare sia l'uomo che gli animali domestici (Gherardi et al., 2013) ed è inoltre noto per trasportare protozoi epibionti presenti sulle branchie di ostracodi, copepodi nelle camere branchiali e anellidi ectoparassiti sulla superficie dell'esoscheletro (Gherardi et al., 2013). All'interno del suo stomaco, è stata rilevata una varietà di microfunghi che potrebbe avere implicazioni per la salute dell'ospite e dell'ecosistema circostante (Souty-Grosset et al., 2016). La letteratura indica che molte specie di anfibi sono state colpite dalla chitridiomicosi, un'infezione cutanea mortale causata dal fungo parassita *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore, Pessier & Nichols, 1999) che lo stesso *P. clarkii* trasporta (Aquiloni et al., 2011).

#### 1.3.6 PESTE DEL GAMBERO

La peste del gambero è una malattia causata dall'oomicete parassita *Aphanomyces astaci* che ha portato alla decimazione delle popolazioni di gamberi autoctoni favorendo così l'introduzione di specie come *Procambarus clarkii* resistenti alla malattia (Souty-Grosset et al., 2016; Mazzoni et al., 2004). Sebbene non mostri sintomi evidenti nei decapodi nordamericani, la peste del gambero rappresenta una grande minaccia per i gamberi autoctoni europei ed è una delle principali cause di estinzione delle loro popolazioni. Questo

fungo è stato introdotto in Italia a metà del XIX secolo attraverso stock di gamberi infetti dal Nord America e ha decimato intere popolazioni di *Austropotamobius pallipes* in Lombardia per poi diffondersi rapidamente in tutta Europa, causando l'estinzione di numerose popolazioni autoctone di gamberi d'acqua dolce (Morpugno et al., 2010). *Aphanomyces astaci* appartiene alla famiglia delle Saprolegniaceae e rappresenta la malattia più devastante per le popolazioni di decapodi d'acqua dolce; è altamente specializzato e infetta esclusivamente i gamberi d'acqua dolce attraverso zoospore mobili che quando liberate in acqua risultano attratte da molecole rilasciate dalla cuticola dei gamberi e grazie ai loro flagelli perforano l'esoscheletro del gambero attaccando le parti più vulnerabili della cuticola, in particolare quelle meno calcificate e le membrane delle articolazioni, attraverso un tubo germinativo, invadendo il tessuto sottocutaneo con ife vegetative (Caprioli et al., 2013). Tale invasione provoca squilibri osmotici e metabolici, portando alla morte dell'individuo infetto (Caprioli et al., 2013). In Europa, sono stati identificati almeno cinque genotipi di *Aphanomyces astaci*, molti dei quali introdotti con specie alloctone nordamericane, con cui sono associati (Caprioli et al., 2013). Il genotipo As è responsabile della prima ondata epidemica e, sebbene meno aggressivo rispetto ad altri genotipi, continua a circolare in Europa. Altri genotipi, come Psl e PslI isolati da *Pacifastacus leniusculus*, Pc da *Procambarus clarkii* e Or da *Orconectes limosus*, hanno ulteriormente contribuito alla diffusione della peste in Europa, colonizzando rapidamente gli habitat e alimentando focolai epidemici (Caprioli et al., 2013). La sintomatologia della peste del gambero varia in base alla carica infettante e alla temperatura dell'acqua (Caprioli et al., 2013). I primi segnali includono un aumento dell'attività motoria, seguito da apatia e paralisi a causa del danno al sistema nervoso. Al culmine della malattia, i gamberi mostrano movimenti frenetici e atassia locomotoria, seguiti da morte inevitabile dopo pochi giorni di contatto con il fungo (Caprioli et al., 2013). Segnali di allerta per la presenza della peste includono l'osservazione di gamberi attivi durante il giorno con scarsa coordinazione, oltre a mortalità diffusa nelle popolazioni; la peste si diffonde più rapidamente in estate, specialmente in habitat con alta densità di popolazioni di gamberi (Caprioli et al., 2013). In Italia, i primi focolai di peste del gambero sono stati documentati nella Val Padana nel 1860, con segnalazioni recenti tra il 2009 e il 2013 in Molise, Veneto e nelle province di Trento, Teramo, Chieti e Isernia (Caprioli et al., 2013). In ambienti di montagna, le basse temperature dell'acqua possono ridurre l'impatto della peste su *Austropotamobius pallipes*, ma la malattia rappresenta una grande minaccia per la biodiversità dei gamberi d'acqua dolce (Caprioli et al., 2013).

#### 1.3.7 RISCHI PER LA SALUTE UMANA

*Procambarus clarkii* è una specie potenzialmente pericolosa per la salute umana poiché è in grado di accumulare metalli pesanti e sostanze tossiche nel suo organismo (Morpugno et al., 2010). La pesca di questo gambero comporta numerosi rischi per i consumatori, poiché può trasmettere malattie infettive e accumulare tossine algali, aumentando così il pericolo di contaminazione (Gherardi et al., 2013).

### 1.3.8 DANNI AGLI ECOSISTEMI

L'introduzione di *Procambarus clarkii* negli ecosistemi d'acqua dolce può avere conseguenze estremamente dannose sull'intero sistema di relazioni ecologiche e sulla biodiversità. Questo crostaceo invasivo è capace di ridurre drasticamente la biomassa e la varietà di specie native, minacciando in particolare invertebrati, pesci e anfibi autoctoni (Gherardi, 2006). La sua competizione per le risorse e lo spazio porta spesso al declino dei taxa nativi, contribuendo alla diminuzione della biodiversità in questi ambienti. *P. clarkii* altera la rete trofica degli ecosistemi acquatici, con effetti negativi sulla comunità ecologica e sulla produzione di piante acquatiche. Ad esempio, la sua abitudine di tagliare i fusti delle macrofite senza consumarle non solo aumenta la torbidità dell'acqua, ma favorisce anche le fioriture algali e la sospensione di particelle, riducendo la penetrazione della luce e alterando così l'ecosistema (Gherardi, 2006). Questi cambiamenti hanno ripercussioni non solo sull'ambiente, ma anche sulle attività economiche locali, come la pesca e l'acquacoltura, con danni evidenti alle aree agricole, specialmente le risaie (Gherardi et al., 2013). Inoltre, la presenza di *P. clarkii* può causare il crollo degli argini e compromettere la stabilità degli habitat, aggravando ulteriormente lo stress ambientale. Questi gamberi invasivi non solo distruggono gli habitat, ma contribuiscono anche all'inquinamento delle acque, mettendo in pericolo le popolazioni di gamberi indigeni e altre specie locali (Mazzoni et al., 2004; Souty-Grosset et al., 2016). L'impatto complessivo della loro introduzione è quindi estremamente negativo, mettendo a rischio la salute ecologica e la sostenibilità degli ecosistemi d'acqua dolce.

### 1.3.9 AGGRESSIVITÀ E COMPETITIVITÀ

*P. clarkii* è un predatore noto di macroinvertebrati, anfibi, uova di pesci e avannotti (Gherardi et al., 2006). La sua presenza nel Parco del Delta del Po ha causato una riduzione della biodiversità degli odonati del 45% (Gherardi et al., 2006). Inoltre, nel Lago di Massaciuccoli, *P. clarkii* ha contribuito alla scomparsa di ninfee e altre idrofite, con conseguenze negative sulla produttività primaria dell'ecosistema (Gherardi et al., 2006). *P. clarkii* è un forte competitore nei confronti di altre specie grazie al suo comportamento aggressivo. Le sue grandi dimensioni gli conferiscono un vantaggio competitivo significativo rispetto alle specie di gamberi indigene, con cui compete sia in modo diretto che indiretto (Gherardi et al., 2006).

## 1.4 SCOPO DELLA TESI

Questa tesi ha come obiettivo quello di mappare e monitorare la presenza di *Procambarus clarkii* all'interno del Parco Palude di Onara, una preziosa area umida di pianura nel comune di Tombolo (PD), anche in relazione ai dati meteorologici, al fine di fornire dati utili per futuri interventi di contenimento e eradicazione e di ripristino ecologico. Lo studio include attività di trappolaggio con diverse metodologie di cattura e inoltre la rilevazione della possibile presenza di specie aliene di gamberi e del fungo patogeno *Aphanomyces astaci* attraverso l'analisi del DNA ambientale.



## CAPITOLO 2 - MATERIALI E METODI

### 2.1 IL SITO DI ONARA



Figura 11: Foto satellitare del Parco Palude di Onara. Foto ricavata da Google Earth Pro e successivamente modificata.

Il Parco Palude di Onara (Figura 11) è un Parco Naturale situato a Onara, nel comune di Tombolo (PD), il nome fa riferimento a “onaro”, denominazione locale di ontano nero (*Alnus glutinosa*) di cui la zona è ricoperta. La Palude di Onara è un ambiente di risorgiva di notevole interesse e importanza, l’area infatti è attraversata dal fiume Tergola che nasce da fosse di risorgiva site circa un chilometro a valle di Cittadella ed entra nella Palude di Onara ricevendo apporti idrici (Arpav, 2023); la zona non solo rappresenta uno degli ultimi resti di torbiera nella pianura veneta, ma ospita inoltre un grandissimo numero di specie animali e vegetali, alcune delle quali rare e protette. Nel corso degli anni sono state messe in atto numerose normative al fine di salvaguardare questo importante patrimonio naturalistico; una delle prime norme al riguardo risale al 1975 con la riduzione delle aree di espansione urbana, successivamente nel 1983 è stato approvato il vincolo di protezione paesaggistico ambientale definendo un perimetro della zona umida. Il Parco Palude di Onara è stato inserito nell’elenco dei parchi e riserve grazie alla Legge Regionale n. 40 del 1980 per poi essere denominata “Area di Tutela Paesaggistica di Interesse Regionale” nel 1990. Tuttavia,

è solo nel 1994 che viene istituita la denominazione “Parco Palude di Onara” con delibera n. 66 del Consiglio Comunale di Tombolo. Successivamente l’area è stata inserita nella rete ecologica europea Natura 2000 approvata per la Regione Veneto e valutata Sito di Interesse Comunitario (SIC), con codice di riferimento IT3260022 “Palude di Onara e corso d’acqua di risorgiva S. Girolamo” mentre nel 2008 viene classificata come Zona di Protezione Speciale (ZPS) con codice di riferimento IT3260001 “Parco Palude di Onara” ai sensi

delle direttive Habitat 92/43/CEE e Uccelli 79/409/CEE. Il centro del sito ha coordinate: longitudine 11.815370 N e latitudine 45.619398 E, presenta un perimetro di 8 km e un'estensione di 133,23 ha di cui il 70% è rappresentato da torbiere, stagni, paludi, vegetazioni di cinto, il 25% è rappresentato da praterie umide e praterie di mesofite mentre il 5% è rappresentato da abitati, strade, discariche, cave e aree industriali. L'area del Parco Palude di Onara è caratterizzata da vegetazione idro-igrofila di torbiera bassa neutro-alcalina e da vegetazione nemorale ad ontano nero, ospita inoltre un elevato numero di relitti glaciali nonché specie ed associazioni vegetali rare od endemiche in via di scomparsa (Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, 2023).

#### 2.1.1 FAUNA E FLORA DEL PARCO PALUDE DI ONARA

Il Parco Palude di Onara ospita alcune delle specie indicate nell'articolo 4 della Direttiva Europea 2009/147/CE del 2009 concernente la conservazione degli uccelli selvatici e nell'allegato II della Direttiva "Habitat" 92/43/CEE del 1992 relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e

della flora e della fauna selvatiche come *Alcedo atthis*, *Ardea purpurea*, *Circus aeruginosa*, *Ixobrychus minutus*, *Nyctiuorax nyctiorax*, *Cobitis bilineata*, *Sabanejewia larvata*, *Lycaena dispar*, *Muscardinus avellanarius*, *Neomys fodiens*, *Nyctalus noctule*, *Rana latastei*, *Triturus carnifex* e *Zootoca vivipara*. Tra le specie vegetali registrate è presente *Allium suaveolens*, *Carex davalliana*, *Carex hostiana*, *Carex umbrosa*, *Cirsium palustre*, *Festuca trichophylla*, *Parnassia palustris*, *Senecio doria*, *Spiranthes aestivalis*, *Eleocharis quinqueflora* e *Utricularia minor*; registrate come specie molto rare abbiamo *Eriophorum latifolium*, *Euphrasia marchesettii* e *Orchis laxiflora*, *Epipactis Palustris*, *Orchis Palustris* (Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, 2023).



LEGENDA:



Sito ZPS IT3260001

Figura 12: Foto satellitare dell'area del sito IT3260001 "Parco Palude di Onara". Modifica di immagine prelevata con Google Earth Pro.

### 2.1.2 PRESSIONI AMBIENTALI

Le minacce a cui va incontro questo delicato habitat sono rappresentate dalle pressioni connesse alle attività agricole come coltivazioni di monoculture e seminativi, alle attività di itticoltura e ad altre colture non idonee presenti all'interno della riserva che ne ricoprono circa 82 ha (Fig.13), specialmente in conseguenza della bonifica e alle operazioni di aratura e diserbo; in aggiunta, vi è anche l'inquinamento atmosferico dato dal trasporto veicolare e dall'ampliamento delle infrastrutture viabilistiche, l'alterazione dell'assetto idrico, le attività industriali e gli insediamenti zootecnici. Nonostante le acque del fiume Tergola risultino in uno stato ecologico sufficiente (Arpav, 2023) un pericolo costante è dato dagli scarichi della peschiera e dalle immissioni nel corso d'acqua di specie alloctone allevate. Inoltre, il prelievo delle acque sotterranee da parte di aziende e privati nell'area circostante comportano un abbassamento della falda superficiale impossibilitando l'umidificazione dei prati torbosi (Badaile, 2022).



Figura 13: immagine satellitare prelevata e modificata con Google Earth Pro facendo riferimento alle aree idonee e non idonee per la coltivazione.

### 2.1.3 SPECIE ALIENE AL PARCO PALUDE DI ONARA

Un esperto locale, il dott. Badaile, identifica come specie aliene invasive presenti all'interno del Parco Palude di Onara *Procambarus clarkii* (Gambero rosso della Louisiana), *Trachemys scripta* (Testuggine americana), *Threskiornis aethiopicus* (Ibis sacro) e *Lithobates catesbeianus* (Rana toro americana) (Badaile, 2022).

## 2.2 CAMPIONAMENTO

### 2.2.1 CAMPIONAMENTO CON NASSE

Il primo passo dello studio è stato svolgere un sopralluogo del Parco Palude di Onara così da stabilire i siti per il piazzamento delle nasse utilizzate per la cattura e il monitoraggio di *P. clarkii*. I siti scelti sono stati, numerati in ordine cronologico di piazzamento da 1 a 7:

SITO	COORDINATE
1	45.625742 N - 11.813479 E
2	45.623654 N - 11.815857 E
3	45.615454 N - 11.821652 E
4	45.624855 N - 11.814360 E
5	45.623320 N - 11.815690 E
6	45.623230 N - 11.815740 E
7	45.614672 N - 11.821555 E

Tabella 1: Siti per il campionamento e rispettive coordinate



Figura 14: Foto satellitare dell'area del Parco Palude di Onara con riferimento ai siti di piazzamento delle nasse. Modificata e prelevata con Google Earth Pro. Il sito 5 non è leggibile perché molto vicino al sito 6.



Figura 15: sito 1, foto di E. Bordin, 2022



Figura 16: sito 2, foto di E. Bordin, 2022



Figura 17: sito 3, foto di E. Bordin, 2022.

Le nasse sono state piazzate in date diverse per questione di disponibilità; le trappole per i siti 1,2,3 sono state sistemate in data 05\05\2022, fornite dalla dottoressa Elena Visentin che nel 2018 volse un monitoraggio nell'area del Parco Palude di Onara (Visentin et al., 2018), e con il lavoro di questa tesi sono state aggiunte le nasse per i siti 4,5,6 e 7 in data 14\06\2022. Con la collaborazione del Dott. Andrea Badaile, le ultime nasse sono state collocate in situ. Per la cattura e il monitoraggio di *P. clarkii* sono state utilizzate trappole a doppio inganno a forma di parallelepipedo delle dimensioni di 23 cm x 23 cm x 53 cm dotate di due ingressi ad imbuto poste alle estremità, fabbricate in rete di nylon con maglie di 4 mm con presente una apposita tasca per apporre l'esca. Per il posizionamento delle nasse si è preferito un appostamento in prossimità di argini, poiché *P. clarkii* come

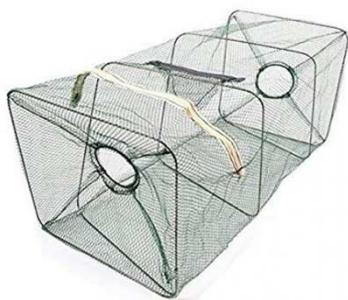


Figura 18: esempio di nasse utilizzate. Immagine prelevata dal sito di acquisto delle nasse (<https://www.bestpesca.com/?keyword=%20nassa>)

strategia di adattamento per superare periodi di siccità scava profonde tane nel terreno, prediligendo acque stagnanti di palude e a lento corso con possibilità di aridità estiva (Pietrobon et al, 2012). Inoltre, tale specie è maggiormente presente in tane e cunicoli creati in prossimità di argini, durante la quale si nasconde durante il giorno nelle gallerie delle sue tane, emergendo solo nelle ultime fasi della giornata per il nutrimento (Visentin et al,2018). Altri criteri adottati per la scelta dei siti includono accessibilità e copertura spaziale. Le nasse sono state orientate in direzione della corrente, ancorate sul fondale con l'ausilio di rocce sufficientemente pesanti da farle adagiare in posizione orizzontale e assicurate con corde legate ad

elementi naturali (rami, radici, etc.) presenti in prossimità del sito di piazzamento abbastanza fissi da evitare lo spostamento di queste con conseguente loro perdita. Nel campionamento sono state utilizzate le seguenti esche: cibo per gatti in scatola, mistura di fegato di suino sminuzzato insieme a crocchette per gatti. Si è scelto di alternare le due tipologie per poter comprendere quale delle due fosse maggiormente efficace per attrarre *P. clarkii*. Il campionamento si è svolto da maggio a ottobre poiché l'azione di trappolaggio per *P. clarkii* è maggiormente efficace se effettuata nei mesi più caldi quando l'ambiente risulta ideale per l'attività di questo gambero (Visentin et al., 2018). Un primo sopralluogo per l'individuazione dei siti di piazzamento nasse si è svolto in data

30\04\2022; nel corso dello studio le uscite per il campionamento con trappola si sono svolte nelle seguenti date: 1. 05\05\2022, 2. 09\05\2022, 3. 11\05\2022, 4. 16\05\2022, 5. 17\05\2022, 6. 21\05\2022, 7. 24\05\2022, 8. 01\06\2022, 9. 14\06\2022, 10. 16\06\2022, 11. 24\06\2022, 12. 05\07\2022, 13. 18\07\2022, 14. 02\08\2022, 15. 19\08\2022, 16. 30\08\2022, 17. 12\09\2022, 18. 29\10\2022. Durante ogni uscita ogni nassa posata è stata controllata e ogni esemplare catturato è stato misurato. È bene sottolineare che alcune nasse trovandosi in prossimità di zone facilmente accessibili da estranei allo studio sono state spostate oppure rubate, interferendo sull'osservazione dei siti numero 3 e 6. Quando possibile le trappole mancanti sono state rimpiazzate con delle nuove, altrimenti lo studio è proseguito senza più prendere in considerazione quel determinato sito. Gli individui di *P. clarkii* trappolati e misurati non potevano essere legalmente liberati nuovamente in ambiente vista la loro natura invasiva ma venivano invece soppressi minimizzando lo stress, l'angoscia e la sofferenza associati alla cattura e all'eliminazione stessa tramite refrigerazione a 4° C per almeno 24 ore e successivo congelamento alla temperatura di -20 °C, per almeno una settimana, processo che determina la morte degli individui senza inutili sofferenze, per poi seguire una procedura di stoccaggio come rifiuti speciali come sancito dal D.L n. 230 del 15 dicembre 2017.

#### 2.2.2 CAMPIONAMENTO CATTURA ATTIVA

Si è voluto sperimentare la cattura attiva di *P. clarkii* per poterne così comparare l'efficacia rispetto alla cattura con trappole; è stata quindi svolta in data 12\09\2022 un'uscita notturna al Parco Palude di Onara con il professore A. Barausse dell'Università degli Studi di Padova, ispezionando con l'ausilio di lampade frontali ogni tratto del corso d'acqua in prossimità del sito delle nasse, procedendo controcorrente per evitare disturbi sulla visibilità dati dall'innalzamento del sedimento. Per ogni esemplare catturato anche in questa modalità veniva sempre registrato il sito di cattura e le adeguate misurazioni analoghe a quelle svolte per gli esemplari catturati su nassa.

#### 2.3 RACCOLTA DATI SU P. CLARKII

Ad ogni uscita il procedimento per il monitoraggio prevedeva il controllo di ciascuna nassa in ogni sito, registrandone giorno e ora di prelievo e di posa, se presenti esemplari catturati la misurazione di questi ultimi e se terminato si procedeva al rimpiazzo del mangime. Le misurazioni degli individui catturati venivano effettuate in loco e i parametri osservati e misurati per ciascun esemplare erano: sesso (osservabile dalla presenza dei gonopodi sclerificati diagnostici per il sesso maschile oppure di *annulus ventralis* per il sesso femminile), peso (espresso in g con precisione di 0.1 g), lunghezza totale (dall'estremità del rostro all'estremità del telson, espresso in mm, con precisione di 0.1 mm), larghezza (espresso in mm, con precisione di 0.1 mm) e lunghezza del carapace (espresso in mm, con precisione di 0.1 mm), misurazione di lunghezza e larghezza della chela sinistra (espresso in mm, con precisione di 0.1 mm) e infine la larghezza e lunghezza dell'uropodio (espresso in mm, con precisione di 0.1 mm), infine si sono osservati eventuali segni particolari come la mancanza di appendici, presenza di ovature ecc. I dati

raccolti sono stati registrati tramite programma Microsoft Office Excel: in una prima tabella sono stati riportate le registrazioni di ogni singola uscita con giorno, orario di raccolta e di posa della nassa, indicando per ciascuna nassa l'esca utilizzata e quando previsto anche il giorno di cambio del mangime e il numero degli esemplari catturati mentre in una seconda tabella di Excel sono registrate tutte le misurazioni effettuate per ciascun esemplare.

## 2.4 CAMPIONAMENTO DI ALTRI PARAMETRI

### 2.4.1 DNA AMBIENTALE

Attraverso l'analisi del DNA ambientale, si è cercato di rilevare la presenza di *Procambarus clarkii* e *Faxonius limosus*, al fine di verificare oltre alla presenza anche la possibile coesistenza di diverse specie di decapodi d'acqua dolce. Inoltre, è stato ricercato anche il DNA dell'oomicete *Aphanomyces astaci* nell'habitat del Parco Palude di Onara. È stato quindi prelevato in data 3/10/2022 un campione di 10 L di acqua in prossimità dei siti 6 e 7 e successivamente dato in analisi presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVE, rif. Dott. Tobia Pretto e il suo team di ricerca), i cui ricercatori hanno svolto le analisi per identificare il DNA ambientale con riferimento alle specie in esame. Gli operatori in seguito ai risultati hanno riferito il protocollo per lo svolgimento delle analisi comunicando che l'estrazione del DNA da tampone è stato svolto tramite un kit commerciale (QIAamp DNA Mini Kit - QIAGEN), e proseguito con il protocollo indicato dal fornitore. Prima di iniziare l'estrazione, i tamponi sono stati lasciati sotto cappa per circa 15 minuti, fino a completa evaporazione dell'etanolo; il primo passaggio (lisi in Buffer ATL e Proteinasi K) è stato svolto in overnight. Per l'estrazione del DNA da filtro è stata svolta seguendo il protocollo con CTAB 2%. Dopo la lisi, il volume di lisato ottenuto è stato suddiviso in due aliquote (indicate con le lettere "a" e "b"), quindi alla fine dell'estrazione sono state ottenute due aliquote di DNA estratto per ciascun filtro di partenza. Il DNA estratto è stato valutato per concentrazione e purezza tramite NanoDrop (NanoDrop Lite Spectrophotometer - Thermo Fisher Scientific). Per la rilevazione di *Aphanomyces astaci* è stata eseguita una metodica in qPCR specifica. Una curva standard di calibrazione, inserita in ogni seduta di analisi, ha permesso di quantificare il livello di *A. astaci* presente nel campione ed espresso in numero di copie/ $\mu$ l. Ciascun risultato è stato classificato come:

- "NEGATIVO" se  $< 1$  copia/ $\mu$ l
- "INFERIORE AL LOD" ("Limit Of Detection") se il valore è compreso tra 1 - 5 copie/ $\mu$ l
- "POSITIVO" se  $> 5$  copie/ $\mu$ l.
- "INFERIORI AL LOQ" (Limit Of Quantification), ovvero inferiori al limite di quantificazione del metodo utilizzato, se i campioni risultavano positivi ma con valori compresi tra 5 e 500 copie/ $\mu$ l.

Sui campioni positivi è stata successivamente applicata una PCR end-point, seguita da sequenziamento Sanger nel caso si ottenessero degli amplificati idonei, per confermare

l'identificazione di *A. astaci* ed escludere la possibilità di aspecifici in qPCR dovuti alla presenza di altre specie di *Aphanomyces* ambientali e non patogeni per i gamberi. Per i campioni positivi con bassi livelli di *A. astaci*, questa PCR è stata preceduta da una pre-amplificazione con primer universali per la regione ITS (ITS 1/ITS 4). Tuttavia, la PCR end-point non è sempre ottenibile in quanto meno sensibile della qPCR, specialmente nei campioni debolmente positivi (inferiori a  $10^2$  copie/ $\mu$ l). Per la rilevazione di *Procambarus clarkii* e *Faxonius limosus* è stata eseguita una metodica in PCR Real-Time sui campioni di eDNA amplificando la regione barcoding del gene *cox1* (IZSVE, rif. Dott. Tobia Pretto e il suo team di ricerca).

## 2.5 DATI METEOROLOGICI

Un aspetto interessante da osservare per lo studio è stato registrare le condizioni meteorologiche di ogni controllo, riportando temperatura massima e minima (°C), umidità massima e minima (%) e precipitazioni (mm) attraverso i dati forniti dalla stazione meteo installata e gestita da un privato situata nel comune di Tombolo (<https://www.meteotombolo.it>) con coordinate 45.640148 N – 11.835033 E utilizzando la stazione meteo Davis Vantage Pro 2 e aggiornato quotidianamente; il nominativo del privato e il suo relativo sito internet sono stati forniti dal dott. Badaile in quanto esperto della zona.

## 2.6 QUALITÀ DELLE ACQUE

È stata inoltre presa in considerazione nello studio l'osservazione delle condizioni di qualità delle acque nell'anno del campionamento: tali dati sono stati ottenuti dal rapporto della qualità delle acque svolte da Arpa Veneto del 2022 (ARPAV, 2022).

## CAPITOLO 3 - RISULTATI

Nel periodo preso in considerazione per lo studio sono stati catturati, raccolti e campionati 33 esemplari di gamberi d'acqua dolce appartenenti alla specie *Procambarus clarkii*, verificandosi una forte prevalenza di esemplari maschi catturati, con 26 individui rispetto ai 7 esemplari femmina. Le catture distribuite tra i vari siti mostrano una chiara variazione in termini di abbondanza: nel sito 1 sono state effettuate 6 catture, 3 delle quali avvenute con cattura attiva, il sito 2 si è rivelato il più produttivo registrando il numero più alto di catture per controllo registrando 20 catture dimostrando una densità maggiore, ad esempio, per condizioni particolarmente favorevoli in quella determinata area del Parco Palude di Onara. Nel sito 3 sono stati catturati 2 esemplari mentre nel sito 4 sono state effettuate 3 catture. In sito 5 e sito 7 si sono verificate solamente una cattura per ciascuno, rispettivamente con nassa e con cattura manuale. Al contrario non è stata effettuata nessuna cattura in sito 6, indicando una possibile bassa densità di popolazione, ad esempio, per condizioni ambientali meno favorevoli per la specie.

### 3.1 CATTURE PER SFORZO DI CAMPIONAMENTO

Per calcolare le catture per sforzo di campionamento (un indice di abbondanza relativa), è stato calcolato il rapporto tra il numero di individui catturati per data di controllo delle nasse e i giorni intercorsi tra quel controllo e il precedente; emerge così una chiara differenza tra i vari siti di campionamento. Alcuni siti, come il sito 6 e il sito 7 non hanno registrato alcuna cattura con nassa durante l'intero periodo di studio. Avendo l'abbondanza per ogni sito nota, si è potuta calcolare l'abbondanza media dei siti.

#### 3.1.1 ABBONDANZA DEI SITI

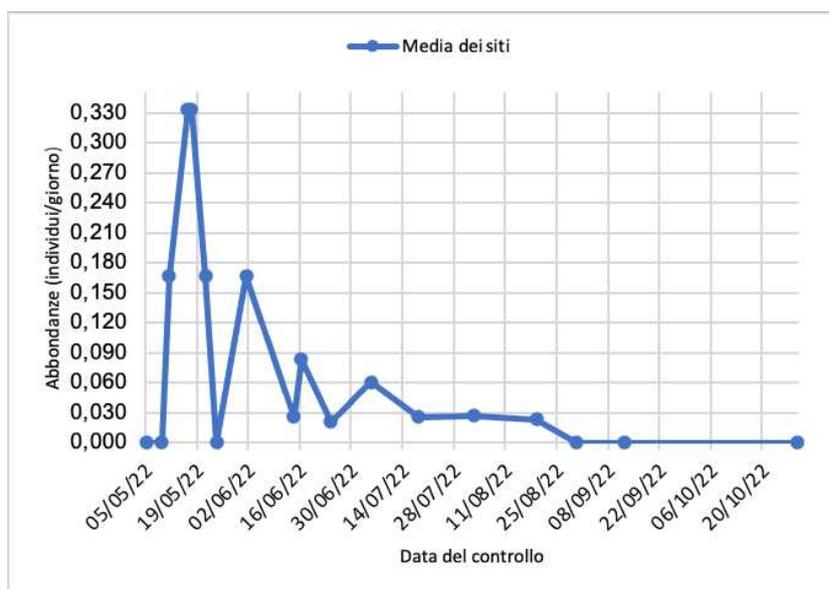


Figura 19: abbondanza media dei siti

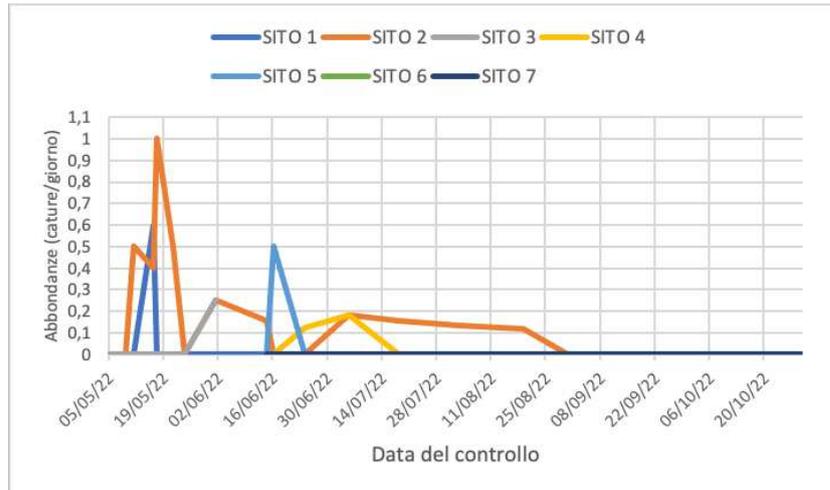


Figura 20: abbondanza di tutti i siti monitorati

I dati sono stati raccolti in 17 date specifiche tra il 5/05/2022 e il 29/10/2022. In Fig. 19 si osserva che il valore dell'abbondanza media dei siti varia considerevolmente nel tempo. In particolare, vi è una significativa fluttuazione nei risultati registrati, con alcune date che riportano valori pari a 0. I periodi di alta attività si sono registrati tra l'11/05/2022 e il 21/05/2022, con picchi particolarmente rilevanti il 16 e il 17 maggio 2022, raggiungendo un massimo di 0,33 catture/giorno. L'abbondanza relativa ha invece iniziato a diminuire da fine maggio e durante giugno, con valori pari a 0 da fine agosto, osservando una netta diminuzione degli individui catturati. Fra giugno e luglio sono osservate fluttuazioni intermittenti con misurazioni generalmente inferiori rispetto ai picchi iniziali. I dati mostrano quindi un chiaro cambiamento nell'abbondanza relativa media nella Palude di Onara durante il periodo di osservazione. Confrontando l'abbondanza di tutti i siti (Fig. 20) il sito 2 registra l'abbondanza maggiore durante il monitoraggio, si osserva che nei periodi di alta abbondanza per sito 2 i valori sono generalmente superiori a quelli della media dei siti. Si mostra comunque una analoga riduzione dell'abbondanza nel tempo.

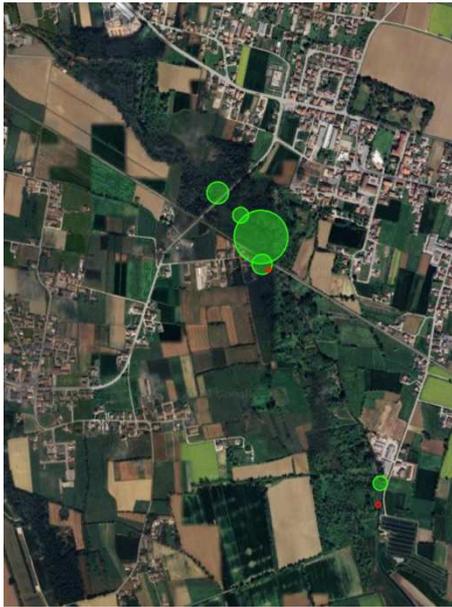


Figura 21: mappa del Parco Palude di Onara, Tombolo (PD) che evidenzia l'abbondanza registrata nei diversi siti. Immagine prelevata da Google maps e modificata mediante ausilio di [www.mapdeveloper.com](http://www.mapdeveloper.com)

In Fig. 21 vengono rappresentate graficamente attraverso dei cerchi l'abbondanza delle catture avvenute con il trappolaggio con nassa all'interno del Parco Palude di Onara; ciascun cerchio ha l'area proporzionale all'abbondanza media calcolata per ciascun sito, calcolando la misura del raggio è stato possibile attraverso [www.mapdeveloper.com](http://www.mapdeveloper.com) generare cerchi proporzionali alla somma delle abbondanze per ciascun sito.

Le abbondanze medie in ciascun sito sono:

- **Sito 1:** 0.600 catture/giorno;
- **Sito 2:** 3.497 catture/giorno;
- **Sito 3:** 0.250 catture/giorno;
- **Sito 4:** 0.307 catture/giorno;
- **Sito 5:** 0.500 catture/giorno;
- **Siti 6 e 7:** 0 catture/giorno.

### 3.2 MONITORAGGIO CON CATTURA ATTIVA

Nell'attività di monitoraggio condotta attraverso la tecnica di cattura attiva, avvenuta in data 12/09/2022 in fascia oraria crepuscolare\notturna (dalle 21:00 alle 00:00), sono stati raccolti dati riguardanti la popolazione di esemplari di *Procambarus clarkii* all'interno del parco: sono stati infatti catturati un totale di 6 esemplari (3 maschi e 3 femmine). Con la supervisione del Professor Alberto Barausse dell'Università degli Studi di Padova sono stati quindi visitati tutti i siti di monitoraggio ed effettuate 3 catture nel sito 1 dove, nonostante l'abbondanza di *P. clarkii* registrata con le nasse sia passata nei mesi da un picco elevato a 0, la presenza è stata così confermata; di particolare rilevanza la cattura di una femmina in pieno periodo riproduttivo, osservabile dalla presenza di una abbondante quantità di uova che proteggeva mediante l'uso dei pleopodi. Nel sito 2, dopo valori di abbondanza molto alti a maggio 2022, i dati calano drasticamente fino a raggiungere zero dal 30/08/22: tuttavia la cattura attiva ha rilevato 2 esemplari suggerendo che gli individui fossero presenti ma non rilevati dagli attrezzi passivi. Nel sito 5 è avvenuta una sola cattura mentre non si è verificata nessuna cattura nei siti 3, 4, 6 e 7 alcuni dei quali mostrano però valori di abbondanza attraverso la cattura passiva nei mesi precedenti.

### 3.3 DATI MORFOMETRICI

#### 3.3.1 PESO E LUNGHEZZA TOTALE

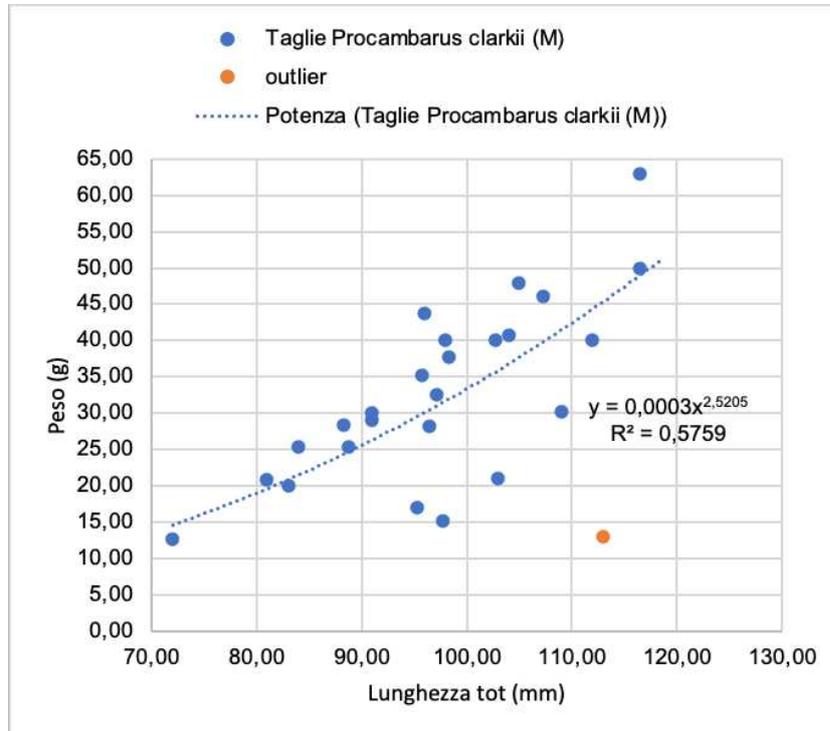


Figura 22: taglie individui maschi di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara. Relazione tra lunghezza totale e peso

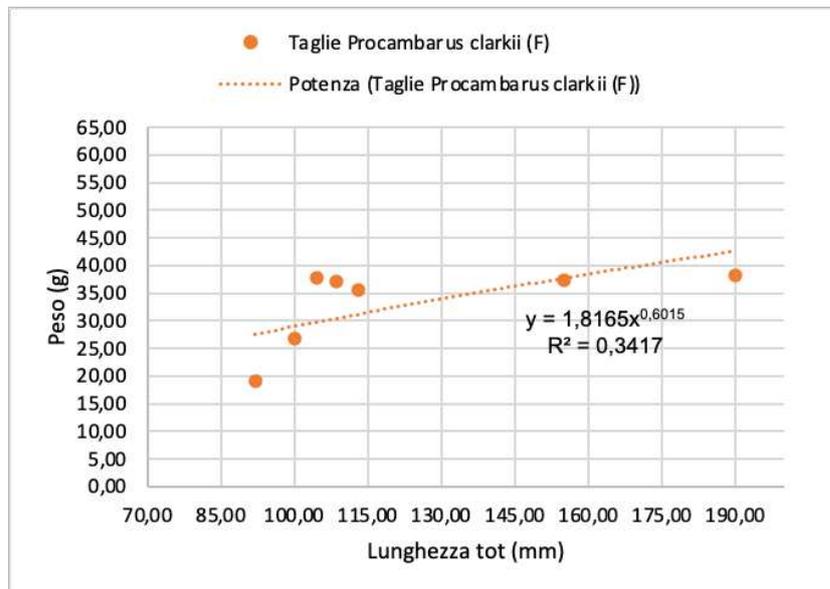


Figura 23: taglie individui femmine di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara. Relazione tra lunghezza totale e peso.

Nella Fig. 22 e nella Fig. 23 vengono rappresentato con dei grafici a dispersione le taglie degli individui di *Procambarus clarkii* catturati nel periodo del monitoraggio, in ascissa sono rappresentate le lunghezze totali (mm) mentre in ordinata il peso (g), fissando un errore di 1 mm nelle misurazioni. In Fig.22 ogni punto blu rappresenta un individuo maschio di *P. clarkii* catturato: il peso arriva a un minimo di 13,00 g e un massimo di 63,00 g, osservando una media di 32,04 g e una deviazione standard di 12,57 g e lunghezze totali comprese tra 72,00 mm e i 116,50 mm, con una media di 97,79 mm e una deviazione standard di 11,17 mm; l'outlier è rappresentato dal punto arancio (lunghezza totale: 112,95 mm- peso 13 g) i cui valori andavano a creare una forte discordanza nella distribuzione dei pesi e delle lunghezze della popolazione alterando negativamente l' $R^2$  (0,5759) del fit rappresentato da una legge di potenza. In Fig. 23 ogni punto arancio rappresenta un individuo femmina di *P. clarkii* catturato: i pesi variano tra 19,00 g e 38,30 g, si osservano lunghezze minime di 92,00 mm e massime di 190,00 mm, con una media di 123,29 mm e deviazione standard di 35,72 mm (riflettendo una notevole diversità nelle dimensioni) con  $R^2= 0,3417$ . In entrambe le rappresentazioni si denotano ampie fluttuazioni nelle classi dimensionali suggerendo popolazioni eterogenee sia di maschi che di femmine, con individui di diverse dimensioni che potrebbero rappresentare diversi stadi di sviluppo o maturazione.

### 3.3.2 CARAPACE

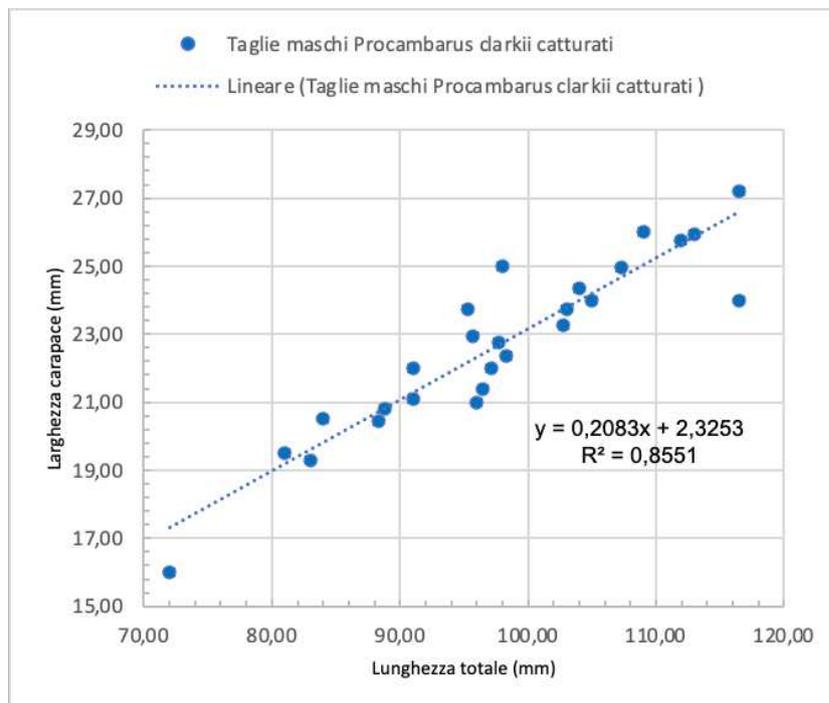


Figura 24: taglie individui maschio di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara relazione tra lunghezza totale e larghezza del carapace.

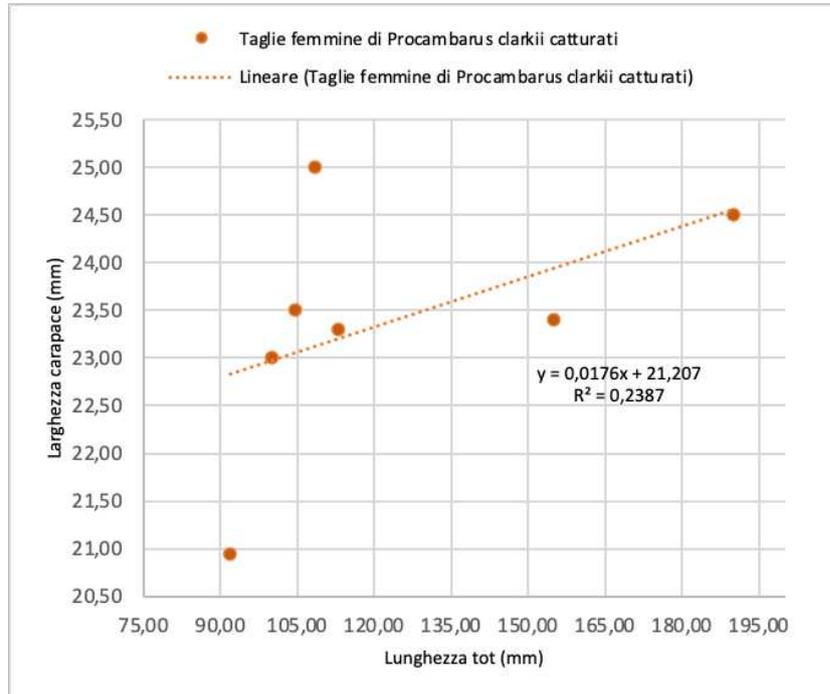


Figura 25: taglie individui femmina di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara (PD) relazione tra lunghezza totale e larghezza del carapace.

In Fig. 24 e Fig. 25 i grafici a dispersione dimostrano il rapporto tra la lunghezza totale (mm) riportata sull'asse delle ascisse e la larghezza del carapace (mm) rappresentata sull'asse delle ordinate degli individui catturati di *P. clarkii* catturati durante il campionamento. I punti blu in Fig. 24 rappresentano la popolazione di maschi di *P. clarkii*, le misure ottenute dimostrano una moderata variabilità con taglie comprese tra i 16,00 mm e 27,20 mm con una media 22,69 mm e una deviazione standard 2,51. Per la popolazione di femmine (Fig. 25) la larghezza del carapace varia da 20,95 mm a 25,00 mm, con una media di 23,38 mm e una deviazione standard di 1,28 mm osservando una quindi bassa variabilità osservata per questo parametro, attribuibile sempre alla scarsità di campioni osservati. La tendenza lineare dei dati suggerisce che la larghezza del carapace aumenta con l'aumento della lunghezza totale. Il valore di  $R^2$  di 0,85 nella rappresentazione dei maschi indica una buona corrispondenza tra le misure ottenute mostrando una forte relazione lineare positiva tra le due variabili mentre per le femmine la relazione è meno forte con  $R^2$  di 0,23.

### 3.3.3 CHELA

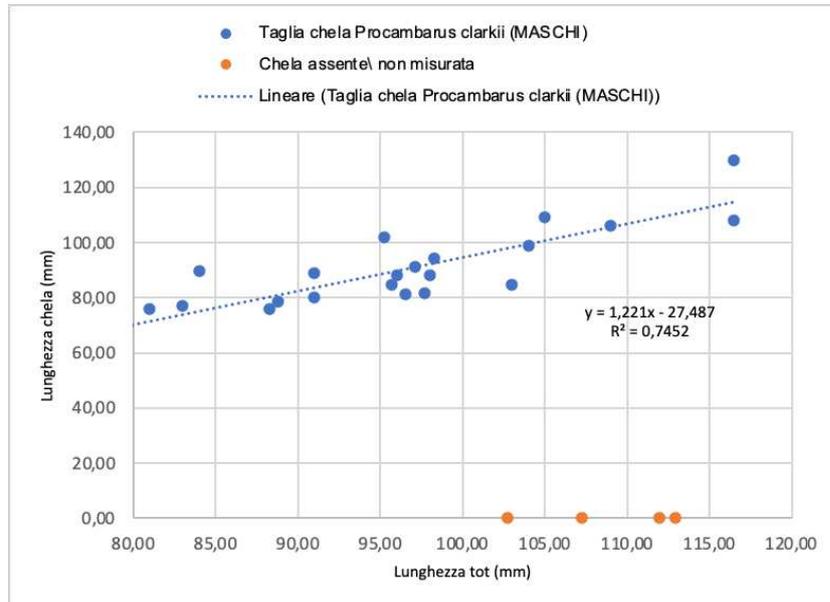


Figura 26: taglie individui maschi di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara (PD) relazione tra lunghezza totale e lunghezza della chela sinistra.

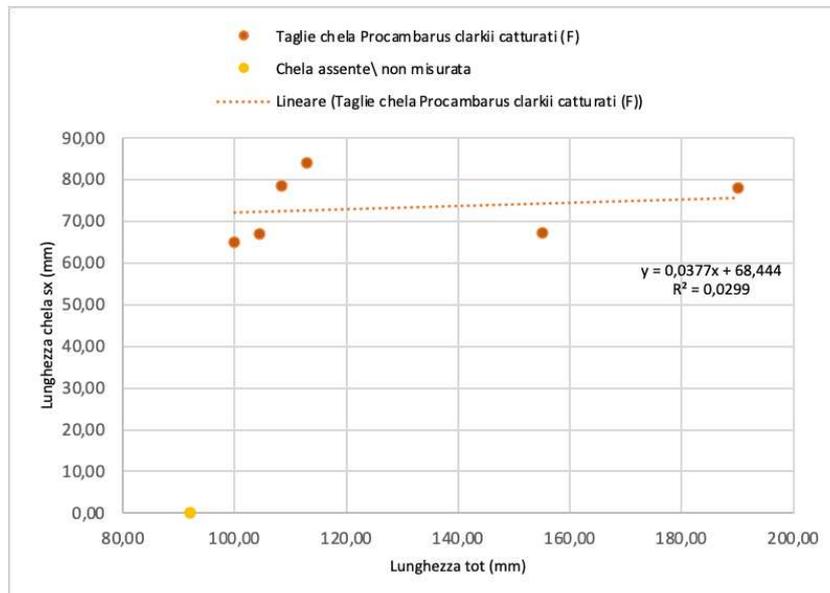


Figura 27: taglie individui femmina di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara (PD) relazione tra lunghezza totale e lunghezza della chela sinistra.

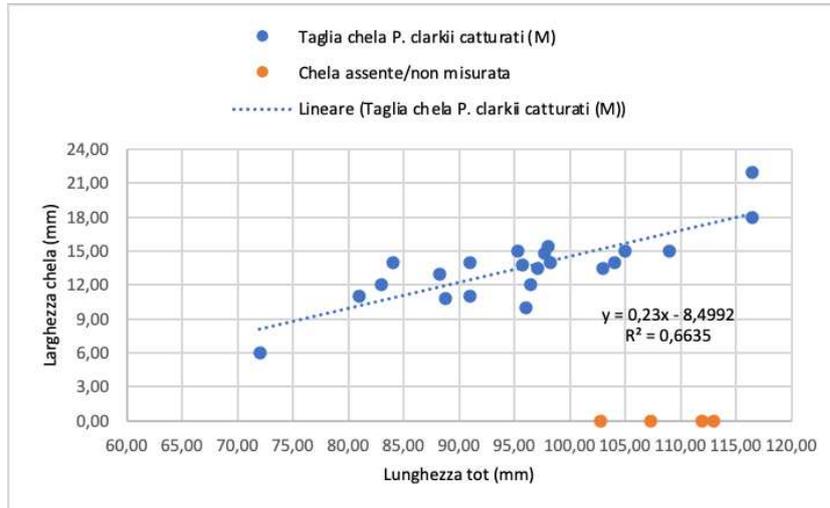


Figura 28: taglie individui maschi di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara (PD) relazione tra lunghezza totale e larghezza della chela sinistra.

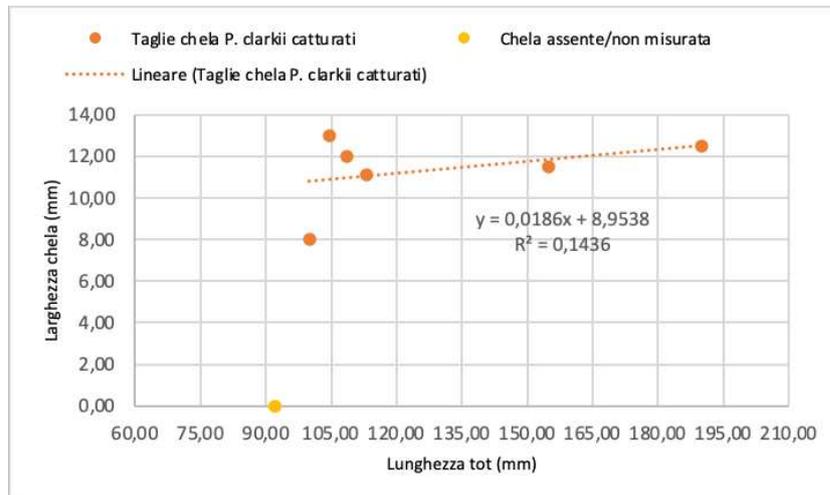


Figura 29: Taglie individui femmina di *P. clarkii* catturati al Parco Palude di Onara (PD) relazione tra lunghezza totale e larghezza della chela sinistra.

Nei precedenti grafici vengono rappresentate le dimensioni della chela degli individui catturati attraverso grafici a dispersione; nelle Figg. 26 e 27 in ascissa sono riportate le lunghezze totali (mm) degli individui mentre la lunghezza della chela sinistra (mm) è rappresentata nelle ordinate. Nei maschi (Fig. 26) si dimostra una variabilità nelle lunghezze, tra 65,00 mm e 129,80 mm con una media di 89,48 mm e una deviazione standard 15,52 mm. Per la popolazione di femmine (Fig. 27) si osservano valori variabili da 65,00 mm a 84,00 mm, con una media di 73,28 mm e una deviazione standard di 7,86 mm. Nelle Figg. 28 e 29 la lunghezza della chela viene sostituita dalla larghezza, posta sempre sull'asse delle ordinate, in Fig 28 i valori sono compresi tra 6,00 mm e 22,00 mm con una media 13,43 mm e una deviazione standard 3,07 mm mentre in Fig 29 la larghezza varia da 8,00 mm a 13,00 mm, con una media di 11,35 mm e una deviazione standard di 1,77 mm. La relativa uniformità di queste misure suggerisce che la larghezza della chela sia una caratteristica abbastanza costante nella popolazione di femmine osservate, anche se va detto che il campione osservato non era molto numeroso. Sono state effettuate

delle catture di alcuni individui privi di solo una o entrambe le chele, andando a suggerire possibili conseguenze da competizione con conspecifici o da pressione predatoria.

### 3.4 ESCA PIÙ EFFICACE

Per determinare quale esca fosse più appetibile per *P. clarkii*, sono state alternate due tipologie di esca tra i vari siti di monitoraggio: cibo per gatti in scatola e una mistura di fegato di suino con crocchette per gatti. I siti 1, 2, 3, 6 e 7 sono stati riforniti di cibo per gatti in scatola, mentre i siti 4 e 5 sono stati riempiti con fegato di suino e crocchette per gatti. Dai risultati, nelle trappole con cibo per gatti in scatola si sono registrate 25 catture di *Procambarus clarkii*, contro le sole 2 catture ottenute nei siti con fegato di suino e crocchette per gatti. Sembrerebbe, dunque, che *Procambarus clarkii* preferisca esche più succulente. Tuttavia è difficile trarre conclusioni perché queste differenze di cattura potrebbero essere dovute a differenze fra siti e non all'effetto delle esche, che potrebbe essere esplorato meglio in futuro con monitoraggi dedicati.

### 3.5 RISULTATI DELLE ANALISI DEL DNA AMBIENTALE

954/ITT/22										
Campioni prelevati presso Palude di Onara (Tombolo, PD).										
Coordinate: 45°37'17.7" N 11°49'03.7" E										
#ID IZSve	Vol. filt. (L)	Porosità (µm)	Campionamento	Nanodrop	A(260/280)	qPCR <i>A. astaci</i> (templato TQ)				
						CT mean	Starting quantity	Results		
954/ITT/22	1a	1	2,7	eDNA	48,9	ng/µl	1,41	35,03	2,78E+01	+ to <i>A. astaci</i>
954/ITT/22	1b				50,3	ng/µl	1,41	41,5	2,51E-01	NEGATIVO
954/ITT/22	2a	1	2,7	eDNA	58,3	ng/µl	1,41	37,07	6,29E+00	+ to <i>A. astaci</i>
954/ITT/22	2b				58,2	ng/µl	1,41	36,47	9,78E+00	+ to <i>A. astaci</i>
954/ITT/22	3a	1	2,7	eDNA	83,6	ng/µl	1,39	N/A	N/A	NEGATIVO
954/ITT/22	3b				88,1	ng/µl	1,38	N/A	N/A	NEGATIVO
954/ITT/22	4a	1	2,7	eDNA	157,4	ng/µl	1,38	N/A	N/A	NEGATIVO
954/ITT/22	4b				155,7	ng/µl	1,38	N/A	N/A	NEGATIVO

#ID IZSve	qPCR <i>A. astaci</i> (templato diluito)			PCR end-point	Real-Time	Real-Time <i>F. limosus</i>
	CT mean	Starting quantity	Results			
954/ITT/22	1a	33,76	7,00E+01	+ to <i>A. astaci</i>	-	33,29
954/ITT/22	1b					
954/ITT/22	2a	35,68	1,73E+01	+ to <i>A. astaci</i>	-	31,62
954/ITT/22	2b					
954/ITT/22	3a	35,55	1,90E+01	+ to <i>A. astaci</i>		44,31
954/ITT/22	3b					
954/ITT/22	4a	35,22	2,43E+01	+ to <i>A. astaci</i>		34,29
954/ITT/22	4b					

NB: N° 1-2-3 templato diluito 1:2; N°4 diluito 1:5      \* NB: amplificazione ottenuta solo con templato diluito

Figura 30: Risultati relativi al DNA ambientale in seguito a prelievo di acqua Parco Palude di Onara (dati gentilmente forniti da IZSve)

In Fig. 30 si osservano i risultati ottenuti dalle analisi del DNA ambientale effettuata su campioni prelevati presso la Palude di Onara e successiva suddivisione in sotto campioni con volume filtrato di 1 litro e una porosità del filtro di 2,7 µm. Dalla lettura delle analisi i campioni 1a, 2a, 2b, 3a, e 4a mostrano positività per *Aphanomyces astaci* mentre i campioni 1b, 3b, e 4b risultano negativi. Non è inoltre stato rilevato *F. limosus*. Sebbene l'interpretazione dettagliata dei dati di lettura sui risultati ottenuti sia di competenza dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, emerge chiaramente che *Aphanomyces astaci* è effettivamente presente nell'area del Parco Palude di Onara.

### 3.6 DATI METEOROLOGICI

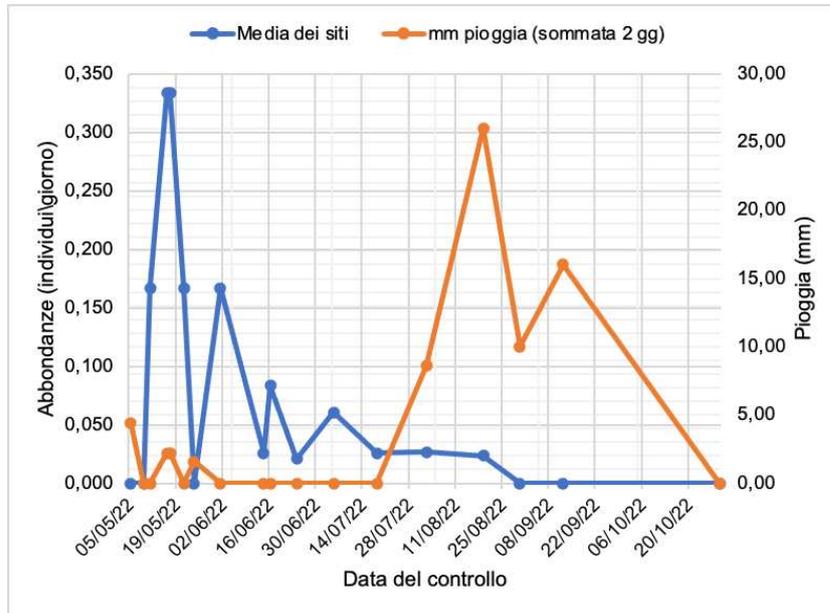


Figura 31: relazione tra abbondanza media dei siti (linea blu) (catture/giorno) e precipitazioni medie (mm) (linea arancio) registrate a Tombolo (PD)

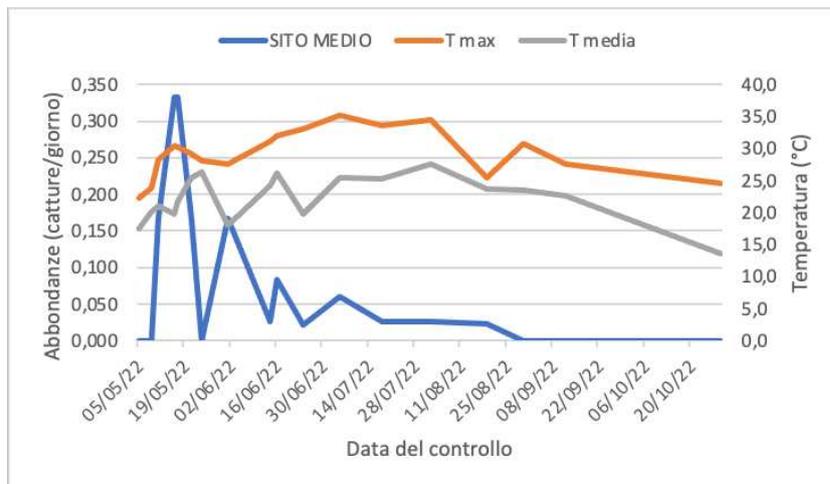


Figura 32: relazione tra abbondanza media dei siti (linea blu) (catture/giorno), temperatura media (°C) (linea grigia) e temperatura massima (°C) (linea arancio) registrate a Tombolo (PD).

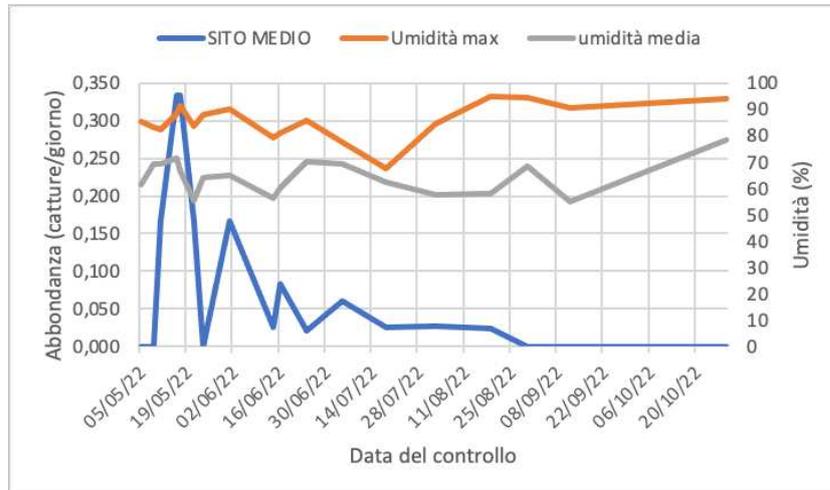


Figura 33: relazione tra abbondanza media dei siti (linea blu) (catture/giorno), umidità media (%) (linea grigia) e umidità massima (%) (linea arancio) registrate a Tombolo (PD).

Si sono rappresentate graficamente le principali informazioni ricavate dai dati meteorologici da maggio ad ottobre 2022 consultati per la data del controllo e il giorno del controllo stesso, dove vengono riportate le date di controllo in ascissa, l'abbondanza media dei siti (catture/giorno) in ordinata principale e il parametro meteorologico quali precipitazioni (mm), temperature dell'aria (°C) e umidità (%) in ordinata secondaria. In Fig. 31 si osserva la relazione tra l'abbondanza di sito medio e le precipitazioni (considerate come pioggia cumulata il giorno prima e il giorno stesso del controllo); l'obiettivo è stato esaminare se le variazioni nella quantità di pioggia fossero in relazione all'abbondanza media nell'area. Non si osserva una correlazione chiara tra la quantità di pioggia e i valori di abbondanza poiché ad esempio il picco di abbondanza corrisponde a giorni primaverili piovosi ma la seconda metà del periodo di campionamento, caratterizzato da basse abbondanze, è anche caratterizzato da precipitazioni maggiori. Tale analisi beneficerebbe di un approccio statistico quantitativo, da svolgersi in studi futuri. Analizzando il parametro temperatura dell'aria (Fig. 32), sia media che massima nel giorno del campionamento e quello precedente, per ciascun controllo si osserva una certa coerenza nell'andamento con l'abbondanza relativa dove la catturabilità di *P. clarkii* sembra ridotta con temperature alte. Tale analisi beneficerebbe di un approccio statistico quantitativo, da svolgersi in studi futuri, che tenga conto contemporaneamente del possibile effetto di piovosità e temperatura. Le stesse considerazioni valgono per quello che sembra un possibile effetto positivo dell'umidità sull'abbondanza (Fig. 33).



## CAPITOLO 4 - DISCUSSIONE

Il presente lavoro di tesi aveva come obiettivi principali la mappatura della presenza di *Procambarus clarkii* nel Parco Palude di Onara, l'analisi della rilevazione del fungo patogeno *Aphanomyces astaci* tramite DNA ambientale e lo studio della relazione tra l'abbondanza della popolazione osservata e alcuni parametri ambientali come precipitazioni, temperatura dell'aria e umidità relativa: questi obiettivi sono stati raggiunti attraverso una serie di rilevamenti e analisi che hanno permesso di ottenere dati importanti per comprendere meglio la presenza e ecologia della specie, contribuendo a evidenziare i rischi che la sua presenza comporta per la conservazione della biodiversità locale. La mappatura effettuata ha evidenziato la presenza di *Procambarus clarkii* in varie aree del Parco Palude di Onara, con una concentrazione particolarmente elevata nel sito 2, raggiungendo in data 17/05/2022 il valore di abbondanza relativa pari a 1 individuo catturato al giorno, indicando che questo ambiente potrebbe rappresentare l'habitat maggiormente favorevole per l'attività di questa specie aliena invasiva; risultati simili sono stati discussi anche nel lavoro di tesi della dottoressa Visentin Elena (Visentin, E., 2019). L'analisi della popolazione ha mostrato una struttura diversificata, con individui di dimensioni variabili, dalle forme giovanili agli adulti maturi. Questo dato è indicativo di una popolazione riproduttivamente attiva, come confermato dalla cattura in data 12/09/2022 di una femmina in stato riproduttivo.

La presenza di *P. clarkii* rappresenta una notevole minaccia per l'ecosistema del Parco Palude di Onara anche per il suo ruolo di vettore del fungo patogeno *Aphanomyces astaci* di cui le analisi del DNA ambientale hanno confermato la presenza nel parco. La persistenza del fungo nell'ecosistema del Parco di Onara potrebbe rendere impraticabile la reintroduzione di specie di gambero autoctone come *A. pallipes*, specie particolarmente sensibile alla patologia che tale fungo trasmette (Mazzoni et al., 2004) oltre ad essere sensibile all'inquinamento: basti osservare che nel 2022 la qualità delle acque del Parco Palude di Onara sono state classificate come "sufficienti" (ARPAV, 2022) e quindi un andamento negativo per la qualità delle acque potrebbe rappresentare un habitat non ottimale per le specie autoctone di decapodi d'acqua dolce. L'assenza di *A. Pallipes* potrebbe essere inoltre attribuita anche ai cambiamenti climatici che si stanno verificando: questi presupposti potrebbero determinare l'estinzione delle popolazioni di gamberi autoctoni in Europa a causa della riduzione di condizioni ambientali ottimali per questi (Capinha et al., 2013). Infine, la presenza di *Procambarus clarkii* può influire negativamente sulla vegetazione acquatica e modificare le condizioni fisico-chimiche del suolo e dell'acqua, alterando la struttura dell'habitat. Appare quindi importante adottare misure di gestione per controllarne la diffusione attraverso l'impiego di predatori naturali oppure il rilascio in ambiente di maschi sterili, soluzioni che potrebbero abbassare l'abbondanza della popolazione (Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica, MASE, 2021).

Durante il presente studio, sono state utilizzate diverse metodologie di cattura, tra cui il trappolaggio con nasse: tale tecnica presenta sicuramente vantaggi (ad es. semplicità rispetto alla cattura attiva) ma anche alcune limitazioni in quanto garantisce la cattura di

esemplari di classe medio-grandi o di maschi in periodo riproduttivo, escludendo le taglie più piccole (meno attivi e facili prede di conspecifici di dimensioni maggiori) e le femmine con uova che si riparano nelle tane (Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica, MASE, 2021). Questo potrebbe spiegare il perché sia stata rilevata una relativa scarsità di femmine catturate rispetto ai maschi, un aspetto che merita ulteriori approfondimenti e che suggerisce che future ricerche dovrebbero concentrarsi su metodologie di cattura più mirate, come per esempio mediante utilizzo di ART (Artificial Refuge Traps) per simulare la tana e attirare così gli individui più difficilmente catturabili (Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica, MASE, 2021) e su sessioni di cattura manuale più frequenti. Sebbene le nasse siano state efficaci per la cattura di un numero consistente di individui, i risultati suggeriscono che la cattura manuale potrebbe essere più efficiente per individuare e catturare esemplari di dimensioni più ridotte o femmine meno attive. La catturabilità di questa specie infine mostra importanti variazioni del tempo, che sono potenzialmente in connessione con la stagionalità e/o le variazioni meteo a breve termine: tale aspetto rimane da esplorare.

Appare comunque chiaro che sarà necessario integrare misure di controllo della specie invasiva con programmi di ripristino ecologico, sebbene interventi di eradicazione risultino molto difficili e si sarebbero verificate maggiori probabilità di successo intervenendo all'inizio dell'invasione, quando che la popolazione non fosse risultata così abbondante (Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica, MASE, 2021). È inoltre importante informare il pubblico sul notevole rischio che la presenza di specie aliene come *Procambarus clarkii* possono comportare negli ecosistemi acquatici e sui protocolli previsti per la segnalazione ad enti competenti se si osserva la presenza di specie non indigene in aree protette per attuare risposte di intervento tempestive (Zanetti et al, 2014).

## CAPITOLO 5 – CONCLUSIONI

In conclusione, *Procambarus clarkii* sembra essere presente in tutta l'area del Parco Palude di Onara sebbene ci siano siti dove si sono registrate molte più catture rispetto ad altri. I dati mostrano che l'abbondanza media dei siti ha subito una notevole variazione durante il periodo di monitoraggio, con una fase iniziale di attività seguita da un calo. La cattura attiva è stata una metodologia particolarmente efficace, permettendo di catturare *Procambarus clarkii* durante le ore di maggiore attività, anche in siti con basse o nulle abbondanze precedenti suggerendo che la specie fosse presente ma non rilevata dalle nasse, dimostrando pertanto l'efficacia della cattura attiva nel rilevare esemplari non evidenziati dai dati precedenti attraverso la cattura passiva. Il sito 2 ha generalmente mostrato una maggiore abbondanza rispetto alla media specialmente nei periodi di alta attività, suggerendolo come sito di partenza per futuri studi della specie nell'area. I dati morfometrici mostrano una notevole variabilità, informazioni utili per la gestione della specie in quanto suggeriscono una popolazione presente da tempo e riproduttiva. La presenza di *Aphanomyces astaci* all'interno del Parco Palude di Onara è stata confermata in diversi campioni: questa presenza potrebbe aver contribuito alla scomparsa delle specie autoctone di gamberi d'acqua dolce e potrebbe rappresentare un ostacolo significativo a eventuali tentativi futuri di reintroduzione della specie nel suo habitat naturale. Invece non sono stati ottenuti risultati che mostrino la presenza di *F. limosus*.

### 5.1 PER STUDI FUTURI

Per studi futuri sarà essenziale continuare il monitoraggio della popolazione di *P. clarkii* nel Parco Palude di Onara, concentrandosi sull'analisi della distribuzione spaziale e temporale della specie, nonché sulla valutazione dei fattori ambientali che favoriscono la sua proliferazione. Inoltre si consiglia di installare segnalazioni adeguate a informare i visitatori del parco di non interferire con lo studio, evitando di spostare o sequestrare le nasse, difficoltà a cui questo studio è andato incontro. Si suggerisce di focalizzarsi principalmente sulle aree con significativi dati di abbondanza raccolti in questo e in studi precedenti. Si raccomanda infine di utilizzare entrambe le metodologie di cattura ai fini del controllo della specie, con particolare attenzione ai controlli manuali durante le ore notturne e crepuscolari, poiché questo approccio pur essendo più impegnativo favorisce un numero maggiore di catture nel tempo. I dati ottenuti suggeriscono delle relazioni tra catture e parametri meteorologici anche se non del tutto chiaramente, sono pertanto necessari ulteriori studi per riuscire a chiarire l'eventuale relazione.



## BIBLIOGRAFIA

- AQUILONI, Lorenzo, et al. Eradicate Invasive Louisiana Red Swamp and Preserve Native White Clawed Crayfish in Friuli Venezia Giulia: Project Review. Friuli Venezia Giulia, Italy: LIFE RARITY Project, 2015.
- ARPAV, Stato delle Acque Superficiali del Veneto – Anno 2022. Venezia: ARPAV, 2023. Rapporto tecnico.
- BADAILE, Andrea. Alieni in Palude: Progetto di monitoraggio delle specie aliene invasive presso il Parco Palude di Onara. Comitato Parco Palude di Onara A. P. S. Tombolo (PD), 2022
- BARBARESI, Silvia; TRICARICO, Elena; GHERARDI, Francesca. Factors inducing the intense burrowing activity of the red-swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, an invasive species. *Naturwissenschaften*, 2004, 91: 342-345.
- CAPINHA, Cesar, et al. Effects of climate change, invasive species, and disease on the distribution of native European crayfishes. *Conservation Biology*, 2013, 27.4: 731-740.
- CAPRIOLI, RICCARDO; GIANANTE, CARLA; FERRI, NICOLA. La peste del gambero: una minaccia per la biodiversità dei nostri eco sistemi fluviali. *Argomenti*, 2013, 4: 69-74.
- GHERARDI, Francesca, et al. Le specie aliene dei laghi italiani. *I Macroinvertebrati Dei Laghi—Tassonomia, Ecologia e Metodi di Studio; Lencioni, V., Boggero, A., Marziali, L., Rossaro, B., Eds*, 2013, 65-110.
- GHERARDI, Francesca. Crayfish invading Europe: the case study of *Procambarus clarkii*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2006, 39.3: 175-191.
- ITALIA, I. N. LINEE GUIDA PER LA CONOSCENZA E IL CORRETTO MONITORAGGIO DEI DECAPODI DULCICOLI.
- MAZZONI, David, et al. GUIDA AL RICONOSCIMENTO DEI GAMBERI D'ACQUA DOLCE. 2004. Regione Emilia-Romagna. GREENTIME.
- Ministero dell'Ambiente e della Sicurezza Energetica (MASE). *Piano di gestione per il controllo di *Procambarus clarkii* in Italia*, 2021.
- Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. *Scheda Dati di Rete Natura 2000: IT3260001. Dati aggiornati 12/2023*
- MORPURGO, Massimo, et al. Distribuzione dei gamberi d'acqua dolce in Italia. *Studi Trentini di Scienze Naturali*, 2010, 87: 125-132.
- SOUTY-GROSSET, Catherine, et al. The red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in Europe: impacts on aquatic ecosystems and human well-being. *Limnologica*, 2016, 58: 78-93.
- VISENTIN, Elena. *Procambarus clarkii*, specie esotica invasiva nel Parco Palude di Onara. Valutazione della presenza e definizione delle misure di gestione. *Procambarus clarkii*, an invasive exotic species in the Onara Nature Reserve. An

assessment on its presence and a design of management measures. Thesis in Natural Sciences, Academic year 2018/2019; University of Padova, 2019.

- Zanetti et al, 2014. In: "RARITY. Eradicate invasive Louisiana red swamp and preserve native white clawed crayfish in Friuli Venezia Giulia". Published by the financial contribution of the EC within the RARITY project LIFE10 NAT/IT/000239, pp. 144.

#### SITOGRAFIA

- <http://www.parcopaludeonara.it>
- [https://download.mase.gov.it/Natura2000/Trasmissione%20CE\\_dicembre2023/](https://download.mase.gov.it/Natura2000/Trasmissione%20CE_dicembre2023/)
- <https://sinacloud.isprambiente.it/portal/home/item.html?id=6702c124d9bc4a2b82a86dacc945c65e>
- <https://sinacloud.isprambiente.it/portal/home/item.html?id=7d407b96a6e04e68805552fef689c0c0>
- [https://www.etpi.fvg.it/export/sites/default/it/istituzionale/progetti/rarity/allegati/rarity\\_final\\_publication.pdf](https://www.etpi.fvg.it/export/sites/default/it/istituzionale/progetti/rarity/allegati/rarity_final_publication.pdf)
- <https://www.mase.gov.it/pagina/sic-zsc-e-zps-italia>
- <https://www.meteotombolo.it/>
- <https://www.nnb.isprambiente.it/Natura2000/SDF/IT3260001>
- <https://www.nnb.isprambiente.it/Natura2000/SDF/IT3260001#2>
- [www.life-rarity.eu](http://www.life-rarity.eu)