



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

---

FACOLTÀ DI AGRARIA  
Corso di Laurea Specialistica in Acquacoltura

**LE MICOSI DEL GAMBERO DI FIUME  
(*Austropotamobius pallipes* complex):  
OSSERVAZIONI SU UN EPISODIO DI MORTALITÀ  
IN UN ALLEVAMENTO SPERIMENTALE  
IN PROVINCIA DI BELLUNO**

Relatore: **Chiar.mo Prof. Francesco Quaglio**

Correlatore: **Dr. Filippo Colombo**

Laureando: **Luca Doria**  
547807-AQC

Anno Accademico 2007 / 2008



# INDICE

<b><u>I. <i>Austropotamobius pallipes</i> complex</u></b>	<b>5</b>
<b><u>I.a.</u></b> Cenni storici sulla presenza del gambero di fiume	5
<b><u>I.b.</u></b> Classificazione del gambero di fiume	12
- <u>Posizione sistematica</u>	12
- <u>Evoluzione</u>	13
<b><u>I.c.</u></b> Cenni biologici su <i>Austropotamobius pallipes</i> complex	19
- <u>Descrizione morfologica</u>	22
- <u>Apparato branchiale e respirazione</u>	27
- <u>Apparato circolatorio</u>	29
- <u>Apparato digerente e alimentazione</u>	30
- <u>Sistema nervoso e organi di senso</u>	31
- <u>Apparato escretore e osmoregolazione</u>	37
- <u>Apparato riproduttore</u>	38
- <u>Ciclo biologico</u>	40
- <u>Muta</u>	45
- <u>Cenni di etologia</u>	50
<b><u>I.d.</u></b> Importanza ecologica del gambero di fiume	52
<b><u>I.e.</u></b> Status ecologico di <i>Austropotamobius pallipes</i>	53
- <u>Il gambero americano <i>Orconectes limosus</i></u>	56
- <u>Il gambero della California <i>Pacifastacus leniusculus</i></u>	58
- <u>Il gambero turco o gambero della Galizia <i>Astacus leptodactylus</i></u>	61
- <u>Il gambero rosso della Louisiana <i>Procambarus clarkii</i></u>	63
<b><u>I.f.</u></b> Allevamento dei gamberi di fiume	71
<b><u>II. Le micosi del gambero</u></b>	<b>77</b>
<b><u>II.a.</u></b> Cenni sul sistema immunitario dei crostacei	77
<b><u>II.b.</u></b> Principali micosi dei gamberi di fiume	80

- <u>Note storiche sulla comparsa delle micosi dei gamberi</u>	83
- <u><i>Aphanomyces astaci</i></u>	86
- <u><i>Fusarium</i> spp.</u>	95
- <u><i>Saprolegnia parasitica</i></u>	97
- <u><i>Dictyuchus</i> spp.</u>	103
- <u><i>Trichosporon beigelii</i></u>	104

## **Parte Sperimentale** 105

### **III. Materiali e Metodi** 105

#### **III.a. Centro Sperimentale di Bolzano Bellunese** 105

#### **III.b. Indagini diagnostiche effettuate** 115

- <u>Esame necroscopico</u>	115
- <u>Indagini parassitologiche</u>	115
- <u>Indagini micologiche</u>	116
- <u>Indagini batteriologiche</u>	116
- <u>Indagini istopatologiche</u>	117

### **IV. Risultati** 120

#### **IV.a. Esame parassitologico** 120

#### **IV.b. Esame micologico** 123

#### **IV.c. Esame batteriologico** 130

### **V. Discussione** 131

### **VI. Bibliografia** 134

## **I. *Austropotamobius pallipes* complex**

### **I.a. Cenni storici sulla presenza del gambero di fiume**

In Italia i gamberi d'acqua dolce hanno avuto un ruolo importante nell'alimentazione della popolazione: grazie alla loro diffusione, infatti, costituivano un alimento a disposizione di tutti, non disdegnato neanche sulle tavole delle famiglie più facoltose.

La denominazione di numerosi paesi lombardo-veneti, quali Gamberana (Mn), Gambellara (Vi), Gambarare (Ve), Gambara (Bs) deriva proprio dalla presenza storica del gambero d'acqua dolce in quelle località. Il Comune di Valdstico, in provincia di Vicenza, trae il proprio nome da "*astacus*", poiché i suoi torrenti erano popolati dai comuni gamberi d'acqua dolce, distribuiti nelle zone di minor turbolenza delle acque correnti submontane, su substrati fangosi o ricchi di vegetazione. Per questo motivo, il gambero di fiume compare in molti stemmi di comuni italiani. Ad esempio, sul blasone di Cento (Fe) spicca la rappresentazione grafica di un gambero in memoria della passata pescosità del territorio, un tempo invaso dall'acqua e ricco di gamberi (Fig. 1); anche nell'insegna del Comune di Gambara (Bs) si rinviene un gambero di fiume derivato dal blasone dei Conti Gambara, i quali sembra fossero dediti all'allevamento di tali crostacei, oggi purtroppo estremamente rari (Fig. 2).



Fig. 1 - Stemma del Comune di Cento (Fe).

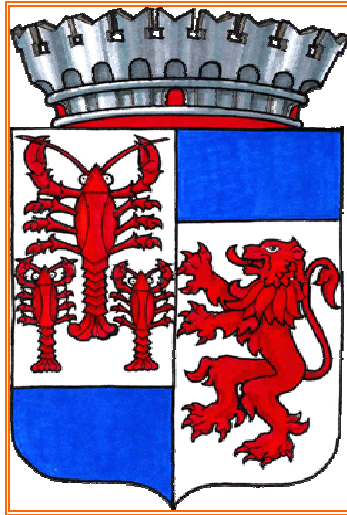


Fig. 2 - Blasone del comune di Gambara (Bs).

L'iconografia del gambero in Veneto era rappresentata sin dall'antichità: già nel Medioevo si trovano fonti di carattere iconografico, come ad esempio il trattato "*Theatrum Sanitatis*" di Ububchasy De Baldach, manuale di igiene illustrato, storicamente collocabile tra tardo Medioevo e Rinascimento (XIV-XV secolo), che evidenzia la popolarità del gambero di fiume all'epoca (Fig. 3).



Fig. 3 - Rappresentazione presente nel "*Theatrum Sanitatis*", di Ububchasy De Baldach (XIV-XV sec).

Nel Palazzo della Ragione di Padova, in un affresco attribuito a Giotto, viene rappresentato uno dei rarissimi cicli astrologici di epoca medioevale, in cui si nota la presenza del gambero di fiume raffigurante il segno del Cancro (Fig. 4).

Molti di questi affreschi andarono persi, presumibilmente nell'incendio che devastò il Salone patavino nel 1420, ma vennero in seguito ripristinati dal maestro padovano Nicolò Miretto con la collaborazione di Stefano da Ferrara e di altri pittori dell'epoca. Il ciclo di affreschi è suddiviso in 333 riquadri e si svolge su tre fasce sovrapposte.



Fig. 4 - Segno zodiacale del Cancro, raffigurato come un grosso gambero di fiume, dalla robuste chele, in posizione ascendente, in un affresco del Palazzo della Ragione (Padova).

I gamberi di fiume sono rappresentati fin dall'antichità in pitture e sculture, fra le rappresentazioni più note si annoverano: i quadri del pittore italiano Giuseppe Arcimboldo (1527-1593) (Fig. 5) e la rappresentazione dell'Ultima Cena di Gesù, affresco dipinto nel 1474 dai fratelli Cristoforo e Simone Baschenis (XV sec.), posto all'interno della chiesa di S. Antonio Abate a Pelugo (Tn) in Trentino Alto Adige (Fig. 6a, 6b).



Fig. 5 - "L'acqua" di Giuseppe Arcimboldo (1568).



Fig. 6a - "Ultima Cena" dei fratelli Baschenis (1474), Chiesa di S. Antonio Abate a Pelugo (Tn).





Fig. 6b - Dettaglio nell'affresco "Ultima Cena" dei fratelli Baschenis (1474).

Una delle opere più pregevoli, a testimonianza della passata tradizionalità e diffusione del gambero, è l'"Ultima Cena", affrescata nel 1466 nella Chiesa di S. Giorgio in San Polo di Piave (Tv), attribuita al pittore feltrino Giovanni di Francia (XV sec.) (Fig. 7a, 7b).

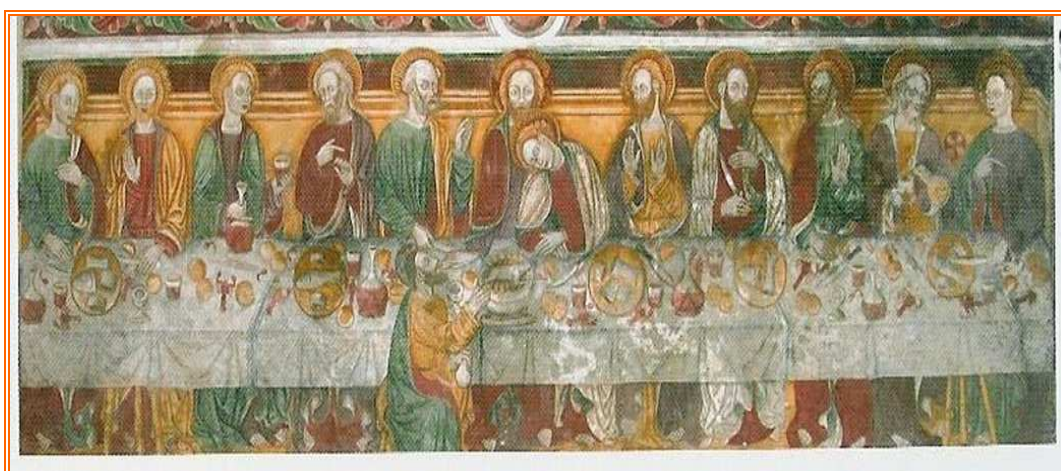


Fig. 7a - "Ultima Cena" di Giovanni di Francia (1466), Chiesa di S. Giorgio in San Polo di Piave (Tv).



Fig. 7b - Dettaglio "Ultima Cena" (1466) di Giovanni di Francia, Chiesa di S. Giorgio in San Polo di Piave (Tv).

In un dipinto di Vincenzo Campi (1536-1591) del 1575 (Fig. 8), è osservabile un bambino che piange perché un gambero di fiume gli ha pizzicato con la chela un dito della mano.



Fig. 8 - "Pescivendoli" di Vincenzo Campi (1575).

Nel “*Fischereibuch*” ad opera dell’imperatore tedesco Maximilian I (1459-1519) del 1499 (Fig. 9), vengono descritte le tecniche di pesca dell’epoca ed è rappresentata la pesca notturna di gamberi, attestata dall’utilizzo delle fiaccole (Arrignon, 1996).



Fig. 9 - Raffigurazione presente nel “*Fischereibuch*” dell’imperatore Maximilian I (1499).

Il Prof. Comel (2000), docente di Storia e Filosofia all’Università UILM di Feltre (Bl), ritiene che questo animale possieda nella simbologia cristiana un preciso significato legato alla resurrezione, dato che esso cambia stagionalmente le spoglie. Durante il Medioevo, infatti, il gambero veniva considerato un simbolo della resurrezione e veniva consumato come cibo rituale nel periodo della quaresima.

I primi studi di biologia riguardanti i gamberi risalgono all’inizio del ‘700 (XVIII secolo) ad opera del fisico e naturalista francese René-Antoine Ferchault de Réamur (1683-1757), ma una delle prime e più complete monografie, “*The Crayfish*”, sui gamberi d’acqua dolce venne realizzata in Inghilterra dal medico e zoologo Thomas Henry Huxley (1825-1895) solo nel 1880.

In Italia sono noti studi sui gamberi d’acqua dolce risalenti alla metà dell’800 e trattati degli inizi del ‘900 descriventi sia le specie europee, sia quelle extraeuropee

(Brehm, 1907). Nel 1899 Decio Vinciguerra (1856-1934), direttore della Regia stazione di piscicoltura di Roma, relazionava nell'Estratto degli Annali di Agricoltura sulla presenza e diffusione dei gamberi di fiume in Italia.

## **I.b. Classificazione del gambero di fiume**

### **Posizione sistematica**

L'inquadramento sistematico del gambero di fiume autoctono è tuttora controverso ed il taxon viene considerato come un complesso di semispecie, definito *Austropotamobius pallipes* complex, sulla base delle indicazioni fornite sia da caratteri morfologici (Largiadè *et al.*, 2000) sia da più recenti indagini biomolecolari (Santucci *et al.*, 1997; Souty-Grosset *et al.*, 1997).

L'attuale classificazione del gambero di fiume autoctono *Austropotamobius* spp. è la seguente (Tab. 1):

<b>Phylum:</b>	Arthropoda (Artropodi)
<b>Subphylum:</b>	Crustacea (Crostei)
<b>Classe:</b>	Malacostraca (Malacostraci)
<b>Sottoclasse:</b>	Eumalacostraca (Crostei superiori)
<b>Ordine:</b>	Decapoda (Decapodi)
<b>Sottordine:</b>	Reptantia (Rettanti)
<b>Infraordine:</b>	Astacidea
<b>Superfamiglia:</b>	Astacoidea
<b>Famiglia:</b>	Astacidae
<b>Genere:</b>	<i>Austropotamobius</i>
<b>Specie:</b>	<i>A. torrentium</i> ; <i>A. pallipes</i> complex: <i>A. italicus</i> <i>A. pallipes</i>

Tab. 1 - Classificazione del gambero di fiume *Austropotamobius* spp.

Attualmente sono note oltre cinquecento specie di gamberi d'acqua dolce, suddivise in tre grandi famiglie, presenti nei due emisferi terrestri (Fig. 10). I gamberi dell'emisfero boreale sono Astacidi e Cambaridi, mentre quelli

dell'emisfero australe sono Parastacidi. Questi animali sono maggiormente diffusi in Nord America con circa trecento specie e in Australia con più di cento specie. In Europa esistono sei specie autoctone: *Astacus astacus*, *Astacus leptodactylus*, *Astacus pachypus*, *Austropotamobius torrentium* e *Austropotamobius pallipes* complex (*Austropotamobius pallipes pallipes* e *Austropotamobius pallipes italicus*).

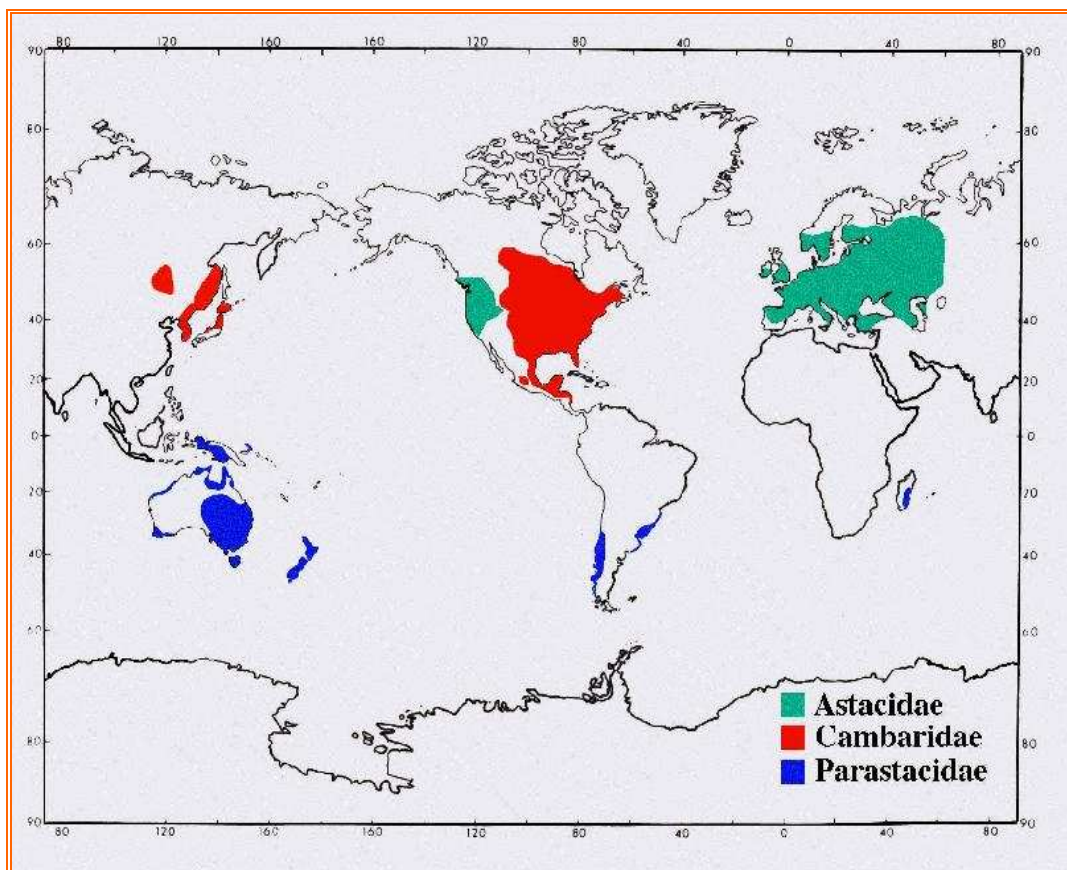


Fig. 10 - Distribuzione mondiale delle famiglie dei gamberi d'acqua dolce.

## Evoluzione

Gli Astacidi hanno avuto origine da una primitiva famiglia di astici marini, definita Erymidae: resti fossili evidenziano come la loro evoluzione sia cominciata verso la fine del periodo Cretaceo (da 135 a 65 milioni di anni fa), all'inizio dell'Era Cenozoica (da 65 ad 1,8 milioni di anni fa). Il primo e solo vero fossile di gambero europeo *Astacus edwardsi*, è stato ritrovato in un bacino di Parigi, il Landenien. In Germania sono stati scoperti esemplari fossili di *Astacus antiquus*

ed *Astacus politus*, risalenti al Cretaceo: essi appaiono morfologicamente come degli astacidi e si ritiene che essi fossero ancora animali esclusivamente marini.

Appare evidente che l'evoluzione dei gamberi europei non può essere ricostruita da questi pochi elementi paleontologici. Si può ipotizzare che lo stock di partenza dei gamberi fosse eurialino come gli appartenenti alla famiglia Erymidae, localizzandosi su litorali epicontinentali di Tetide, oceano che 250 milioni di anni fa ebbe origine dividendo la Pangea con formazione della Laurasia settentrionale e del Gondwana meridionale (Fig.11).

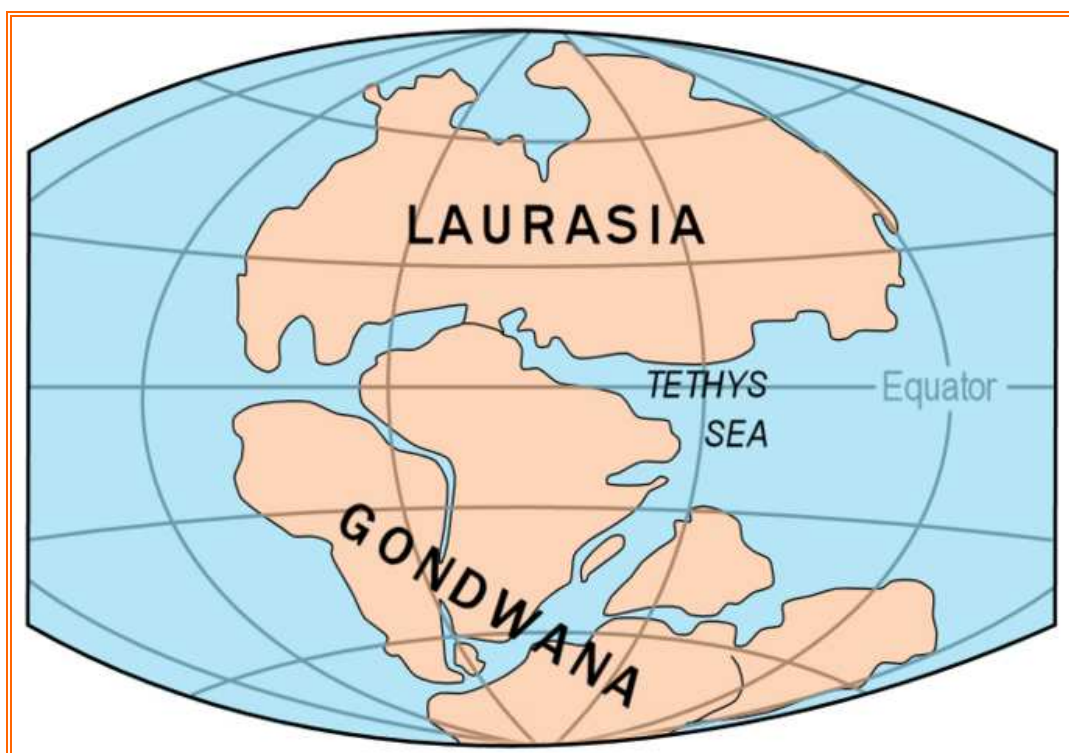


Fig.11 - Tetide, oceano primitivo che ebbe origine 250 milioni di anni fa, dividendo la Pangea in Laurasia e Gondwana.

Durante i periodi di regressione del mare, come si verificò durante l'Eocene, tra 55 e 34 milioni di anni fa (il Cenozoico viene suddiviso in cinque periodi, in ordine cronologico: Paleocene, Eocene, Oligocene, Miocene e Pliocene), è ipotizzabile la migrazione di alcune popolazioni di gamberi verso le acque dolci dei fiumi, contrariamente agli astaci marini appartenenti alla famiglia Nephropidae che nel tempo colonizzarono le acque salate profonde.

I gamberi presenti nel Mediterraneo sono strettamente correlati geneticamente tra loro, per cui è probabile che avessero un progenitore comune. Questa stretta correlazione è stata avallata anche da studi biochimici (Fratini *et al.*, 2005).

Due gruppi di gamberi autoctoni d'acqua dolce sono attualmente presenti: il primo è composto da *Austropotamobius torrentium*, il gambero dei torrenti, e da *A. pallipes* complex, il gambero dalle zampe bianche, mentre il secondo gruppo comprende *Astacus astacus*, il gambero dalle zampe rosse, e *Astacus leptodactylus*, ovvero il gambero turco.

Il gambero nativo europeo, genere *Austropotamobius*, secondo un lavoro recente basato su tecniche di biologia molecolare (Grandjean *et al.*, 2002a), viene distinto in *A. torrentium* (presente nella penisola balcanica, Svizzera ed Austria) e *A. pallipes* complex, distribuito al contrario in tutta l'Europa occidentale.

Queste due specie sono considerate a rischio estinzione e pertanto vengono tutelate da leggi comunitarie (come la Direttiva 92/43/CEE), a volte coadiuvate da piani di recupero a livello nazionale.

*Austropotamobius torrentium* costituisce il ramo più antico del ceppo primitivo e vive confinato nelle regioni montuose dell'Europa centrale, mentre nelle altre zone è stato soppiantato da *A. pallipes* complex, specie pioniera. *Astacus astacus*, proveniente dall'Est Europa si è insediato a nord del vecchio continente, regione non colonizzata da *A. pallipes* complex. *Astacus leptodactylus*, rappresentante attuale del ramo orientale primitivo, avanzando da sud-est sta soppiantando progressivamente *Astacus astacus* nel bacino del Mar Baltico.

#### *Austropotamobius pallipes*

Non è noto quando *Austropotamobius pallipes* sia giunto in acqua dolce ma, supposto che i due gruppi visti in precedenza abbiano realmente avuto un comune antenato, si può presumere che *A. pallipes* sia originato nella regione occidentale della Tetide, in prossimità dell'attuale Golfo del Leone (Fig. 12), dopo una separazione geografica dei due gruppi durante il Miocene. L'Italia, all'inizio del Miocene, fu colonizzata in seguito rispetto a paesi come Spagna e Francia, in quanto era ancora sommersa dalle acque.



Fig. 12 - Mappa del bacino mediterraneo occidentale con identificazione del Golfo del Leone.

A giudicare dall'attuale distribuzione e dalle circostanze paleogeografiche, è possibile che la decisiva evoluzione dei gamberi mediterranei sia avvenuta proprio durante quest'ultimo periodo: la regressione dei mari epicontinentali in Europa indusse gli antenati dei gamberi a lasciare il litorale ed invadere i corsi d'acqua dolce limitrofi. L'orogenesi alpina pose infine le basi per l'isolamento geografico di molte popolazioni; in questo modo, la specie *A. pallipes* si è evoluta nelle sottospecie *Austropotamobius pallipes s. str.* in Francia, *A. lusitanicus* in Spagna ed *A. italicus* in Italia.

L'attuale distribuzione della specie, per quanto concerne l'Italia, è stata recentemente oggetto di studio mediante indagini genetiche biomolecolari (Fratini *et al.*, 2005): numerosi frammenti di tessuto di 64 esemplari di *Austropotamobius pallipes* complex, provenienti da 33 località dell'areale italiano, sono stati utilizzati per effettuare il sequenziamento del gene del DNA mitocondriale (mtDNA) che codifica per la subunità maggiore ribosomiale del mitocondrio (rRNA 16S) (Fig. 13).



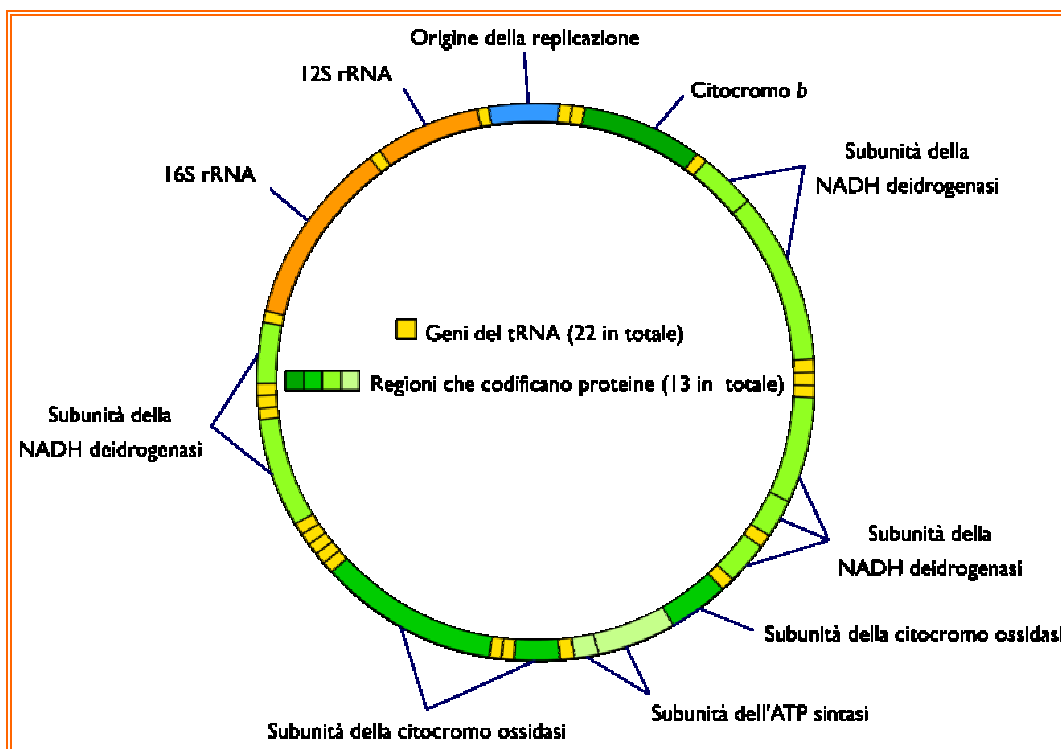


Fig.13 - Schematizzazione grafica del DNA mitocondriale.

L'mtDNA (dall'inglese *mitochondrial DNA*), costituisce il DNA collocato nei mitocondri che, contrariamente al DNA situato nel nucleo delle cellule degli organismi eucarioti, viene ereditato nella sua interezza solo dalla madre.

Questo rappresenta il motivo per cui l'mtDNA viene utilizzato: è un valido strumento per ricostruire le caratteristiche di una specie, dato il suo basso tasso di mutazione da una generazione all'altra.

Queste indagini genetiche hanno dimostrato che le popolazioni italiane del genere *Austropotamobius*, in passato classificate come entità sottospecifiche (Frogia, 1978), devono essere considerate come appartenenti a due differenti specie (Nascetti *et al.*, 1997), con distribuzione:

- *A. pallipes* nell'area dell'Appennino ligure-piemontese;
- *A. italicus* nel resto d'Italia ad esclusione della Puglia e delle isole (Fratini *et al.*, 2005). *A. italicus* viene attualmente suddiviso in 4 sottospecie: *A. i. carinthiacus*, *A. i. meridionalis*, *A. i. carsicus* ed *A. i. italicus*.

I risultati sono rappresentati graficamente in Fig. 14.



Fig. 14 - Distribuzione geografica di *A. pallipes* e *A. italicus* in Italia. I simboli nella mappa indicano: C = *A. i. carinthiacus*; It = *A. i. italicus*, M = *A. i. meridionalis*; Ca = *A. i. carsicus*; P = *A. pallipes*; Pc = *A. pallipes* e *A. i. carinthiacus* popolazione mista; PV = distretto ittiogeografico padano - veneto, T = distretto Toscana - Lazio, S = distretto del Sud Italia (Fratini *et al.*, 2005).

### **I.c. Cenni biologici su *Austropotamobius pallipes* complex**

*Austropotamobius pallipes* complex, detto anche “gambero dalle zampe bianche” ha un aspetto piuttosto robusto, può raggiungere e superare i 12-13 cm di lunghezza dalla punta del rostro al telson (anche se nella maggior parte dei casi non supera i 10 cm) ed un peso di 90 grammi.

La colorazione del corpo può essere bruna, bruno-giallastra o bruno-verdastra sul dorso e sui fianchi, mentre ventre e arti sono biancastri. Le chele hanno un margine interno irregolare e la parte ventrale di colore bianco (Fig. 15).

*A. pallipes* complex fa parte dell'ordine dei Decapodi, il quale è a sua volta suddiviso in due grandi gruppi o sottordini in base alla morfologia del corpo, che è strettamente legata alle abitudini e all'ambiente di vita: i Natanti, abili nuotatori caratterizzati da un corpo compresso lateralmente, addome sviluppato e pleopodi atti al nuoto; i Reptanti, che invece hanno corpo compresso dorso-ventralmente, pleopodi piccoli e non atti al nuoto. I gamberi d'acqua dolce appartengono al sottordine Reptantia, che include i crostacei il cui principale sistema di locomozione consiste nello spostarsi su di una superficie mediante l'utilizzo dei pereopodi; mentre il nuoto, attuato con pleopodi, è un comportamento generalmente adottato per la fuga: il gambero contrae violentemente la robusta muscolatura dell'addome e, utilizzando il telson come una pala, si proietta all'indietro sfuggendo alla minaccia.

Delle dieci appendici, organizzate in cinque paia, il primo paio è costituito da due grosse chele atte all'offesa e alla difesa, le due paia seguenti terminano con delle piccole chele atte a portare il cibo alla bocca, mentre le ultime due paia invece terminano con una struttura appuntita, detta dattilopodite, fungendo prevalentemente da appendici di spostamento.

**Gambero di fiume - *Austropotamobius pallipes***



**CHELE**

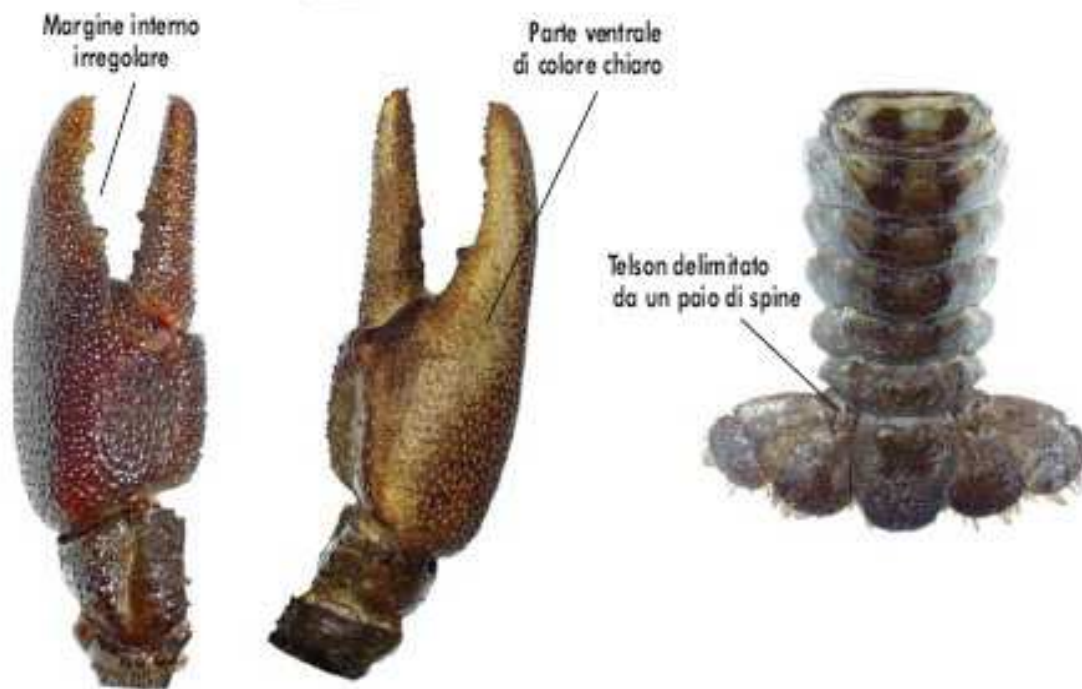


Fig. 15 - Scheda delle principali caratteristiche morfologiche del gambero di fiume (*Austropotamobius pallipes* complex).

## Habitat

L'habitat naturale del gambero di fiume è rappresentato da corsi d'acqua con acqua corrente e limpida, con fondali coperti da ciottoli o limo (Fig. 16).

Sugli argini, le radici di alberi e arbusti, più o meno grandi e fitti, si spingono in acqua e formano intrecci che i gamberi utilizzano come ripari. *Austropotamobius pallipes* complex popola preferenzialmente le acque poco profonde (circa 1 metro) e non troppo soggette a correnti, con rive ombreggiate, il cui terreno argilloso o calcareo presenti possibilmente buche o tane dove trovare riparo. Ciononostante, il gambero può colonizzare i biotopi più diversi, purché compatibili con le proprie esigenze ecologiche. L'habitat tipico è costituito da piccoli torrenti collinari a corso lento, ma anche i laghi, naturali o fiumi artificiali, qualora ricevessero un ininterrotto apporto di acque fresche da fiumi immissari, possono venire colonizzati dai gamberi.

In particolare, la specie è particolarmente esigente riguardo al contenuto in ossigeno, che deve essere sempre piuttosto elevato (non tollera concentrazioni inferiori a 5 mg/L per oltre 48 ore) e alla temperatura, che non deve oltrepassare i 22-23°C, se non per brevi periodi di tempo.



Fig. 16 - *A. pallipes* complex nel suo habitat caratteristico, con fondale fangoso e ciottoloso.

## Descrizione morfologica

Il corpo dei Decapodi Malacostraci esternamente si presenta protetto da un esoscheletro chitinoso-proteico, prodotto dal tegumento ed irrobustito dall'infiltrazione di sali di calcio (che possono rappresentare fino al 40% del peso secco dell'animale).

La parete corporea, composta da una complessa cuticola che viene secreta dall'epidermide sottostante, è di norma calcificata a livello di epicuticola e procuticola (Fig. 17). Nell'ipoderma alloggianno ghiandole tegumentali composte da cellule secretici provviste di un lungo dotto che attraversa l'esoscheletro e sbocca sulla superficie dell'epicuticola.

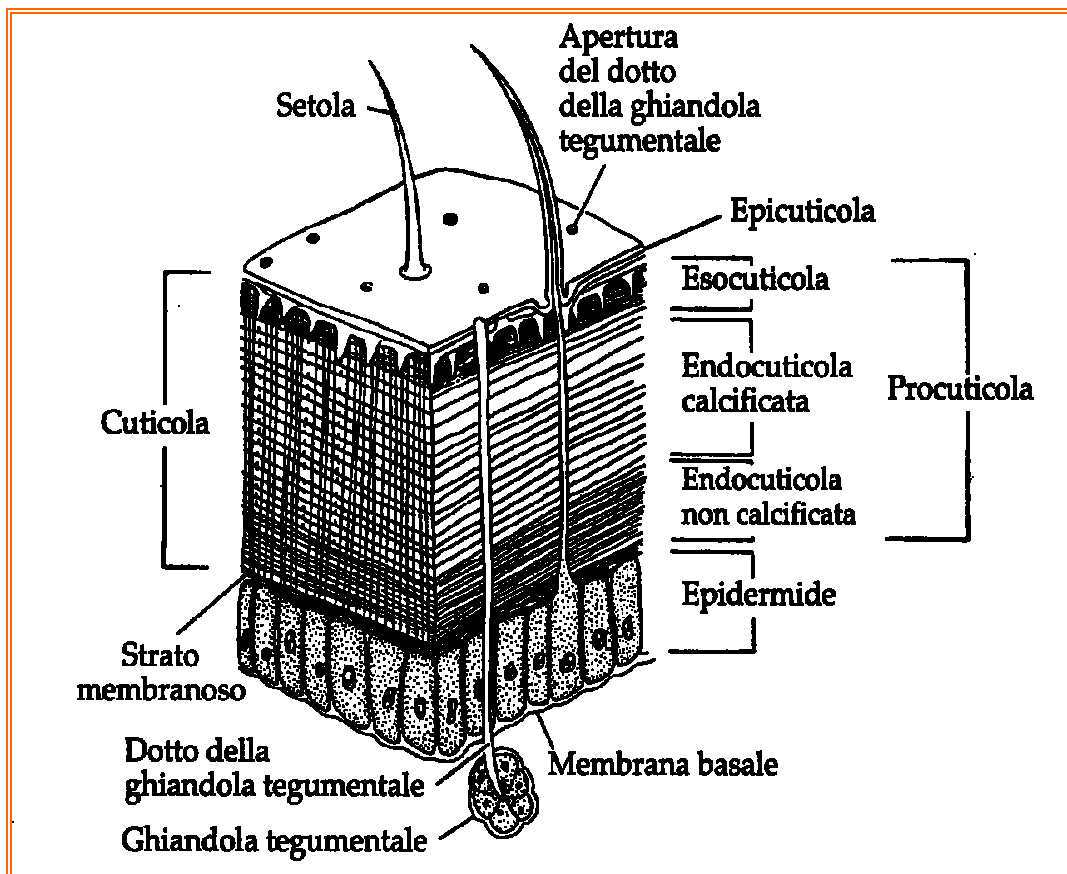


Fig. 17 - Schema generale della parete corporea di un crostaceo.

Il corpo si presenta suddiviso in due porzioni: cranialmente, in una parte comprendente capo e torace (cefalotorace o pereion), composta da 14 segmenti o metameri (6 segmenti cefalici ed 8 segmenti toracici), protetta da un carapace

dorso-laterale e, caudalmente, in una porzione composta da 6 metameri, (addome o pleon) terminante con un telson o coda (Fig. 18).

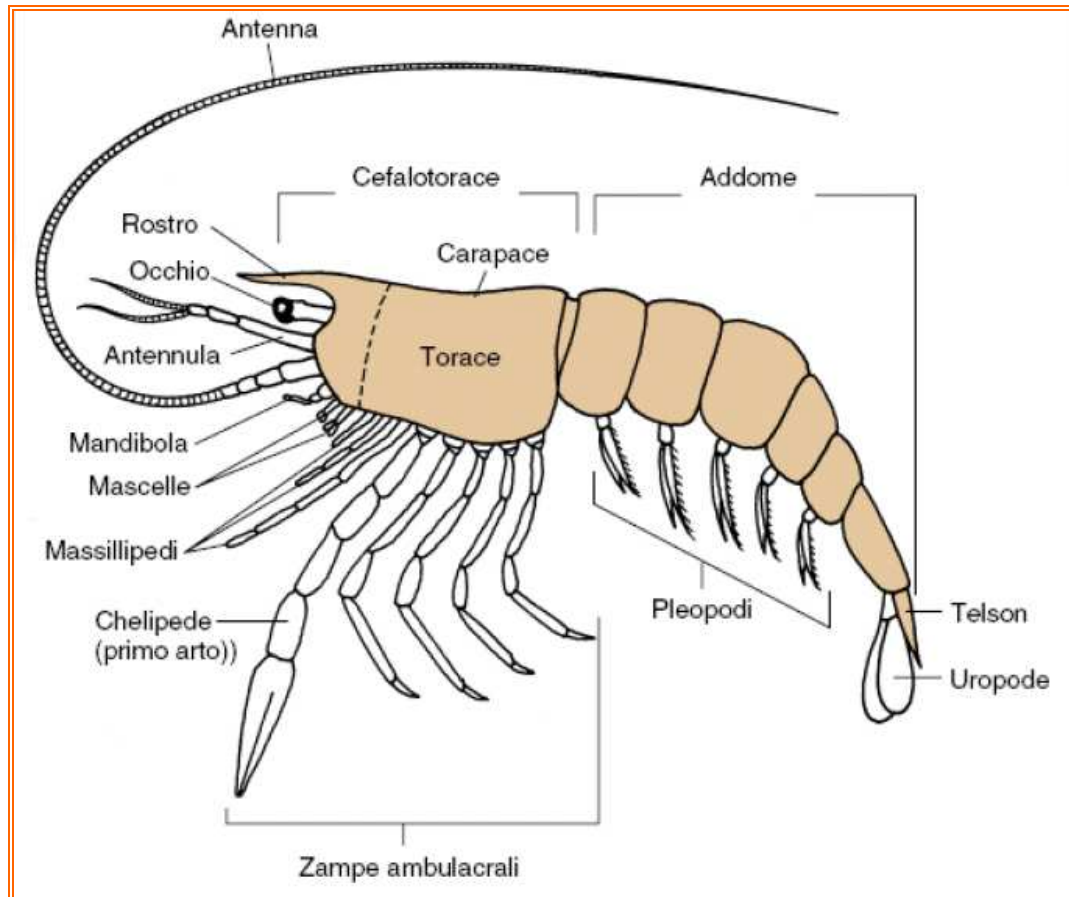


Fig. 18 - Schema organizzativo di un Malacostraco.

Anteriormente il cefalotorace termina con il rostro; posteriormente si sovrappone parzialmente all'addome, al quale è collegato da una membrana.

*A. pallipes* complex si distingue dagli altri gamberi di fiume per il rostro corto, depresso dorso-ventralmente e dalla forma triangolare (si restringe progressivamente dalla regione oculare all'apice). Il carapace si presenta robusto, dotato di un solo paio di creste post-orbitali e con una o due spine poste lateralmente, caudalmente al solco cervicale, che separa la porzione cefalica da quella cardiaca e da quelle branchiali.

Dal primo somite cefalico originano gli occhi pedunculati, collocati ai lati del rostro; dalle appendici del secondo e terzo segmento cefalico derivano rispettivamente le prime antenne (o antennule) e le seconde antenne (o antenne propriamente dette); i successivi tre metameri cefalici costituiscono un paio di

mandibole e due paia di maxille. Queste 3 paia di appendici concorrono a costituire l'apparato boccale, congiuntamente con 3 paia di massillipedi derivanti dalla modificazione delle appendici dei primi 3 somiti toracici (Fig. 19).

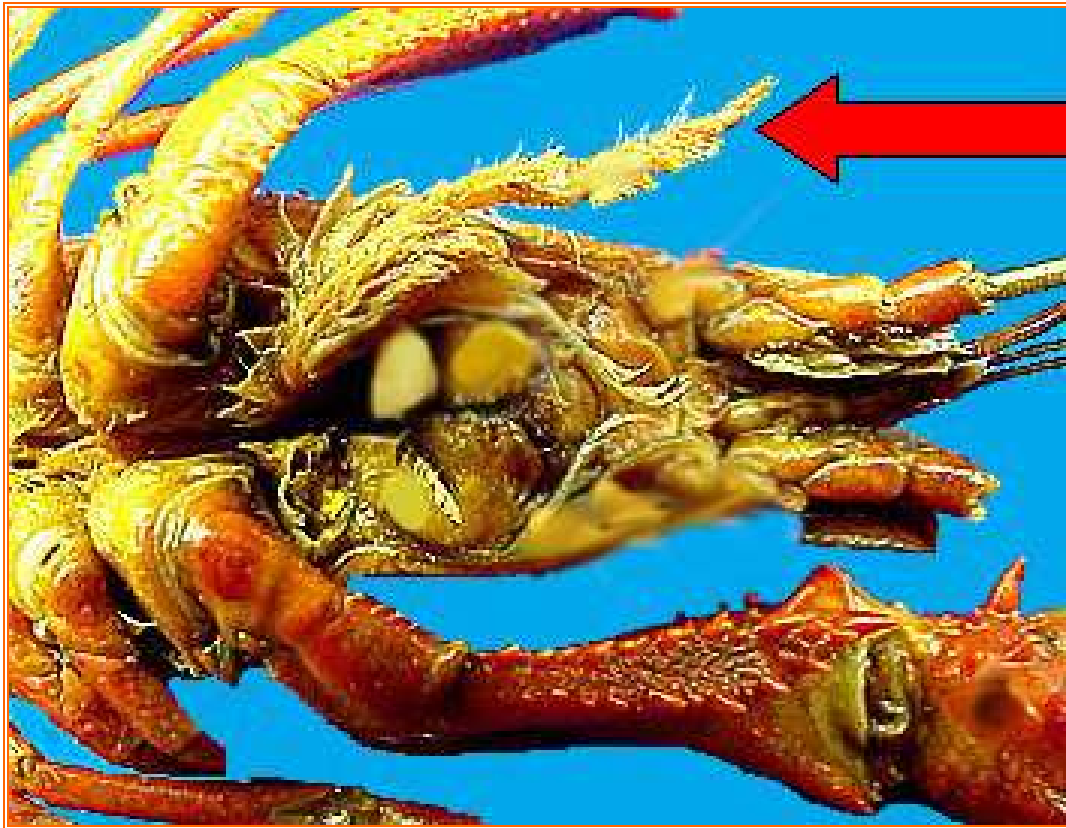


Fig. 19 - Apparato boccale di un esemplare di *A. pallipes* complex; la freccia indica il terzo massillipede.

I restanti 5 somiti toracici portano ognuno un paio di appendici ambulacrali (le zampe) o pereiopodi; il primo paio (chelipedi) è particolarmente sviluppato e costituisce, con il dattilopodite articolato sul propodite, una robusta chela con la funzione offensiva e difensiva.

Una piccola chela con funzione prensile è presente anche all'estremità del secondo e terzo paio di pereiopodi, mentre le ultime due paia terminano con una sorta di artiglio.

Ventralmente sui primi 5 segmenti addominali sono presenti altrettante paia di pleopodi, esili e poco sviluppati. Nei maschi, le prime due paia sono sclerificate e trasformate in appendici copulatorie o gonopodi (Fig. 20). Nelle femmine, il primo paio di pleopodi è rudimentale e gli altri sono di uguale dimensione. La distinzione tra i sessi è quindi agevole ed immediata anche sugli individui più giovani.



Inoltre i maschi sono più grandi delle femmine e, a parità di dimensioni corporee, hanno le chele più sviluppate; le femmine, al contrario, presentano un addome più ampio dei maschi per poter trasportare le uova.



Fig. 20 - Confronto tra due esemplari di sesso opposto di *A. pallipes* complex.

Il sesto paio di pleopodi (uropodi) è foggato a paletta e collocato lateralmente al telson (appendice lamellare con cui termina l'addome), con il quale contribuisce all'efficace spinta propulsiva retrograda quando l'animale contrae l'addome ripiegandolo ventralmente in avanti.

La cavità corporea è un emocele aperto (Fig. 21 e 22), al cui interno gli organi sono a contatto diretto con il liquido emocelico, detto emolinfa; la cavità non è un vero e proprio celoma, ma è da considerarsi più come un residuo embrionale del blastocele.

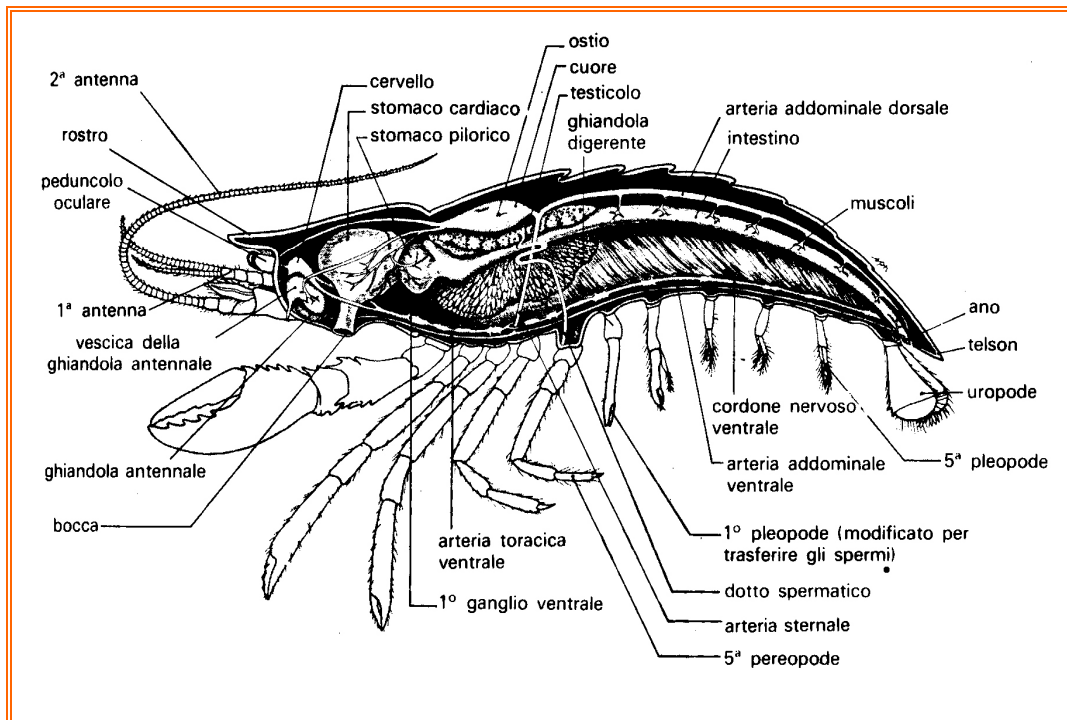


Fig. 21 - Struttura interna di gambero in sezione sagittale.

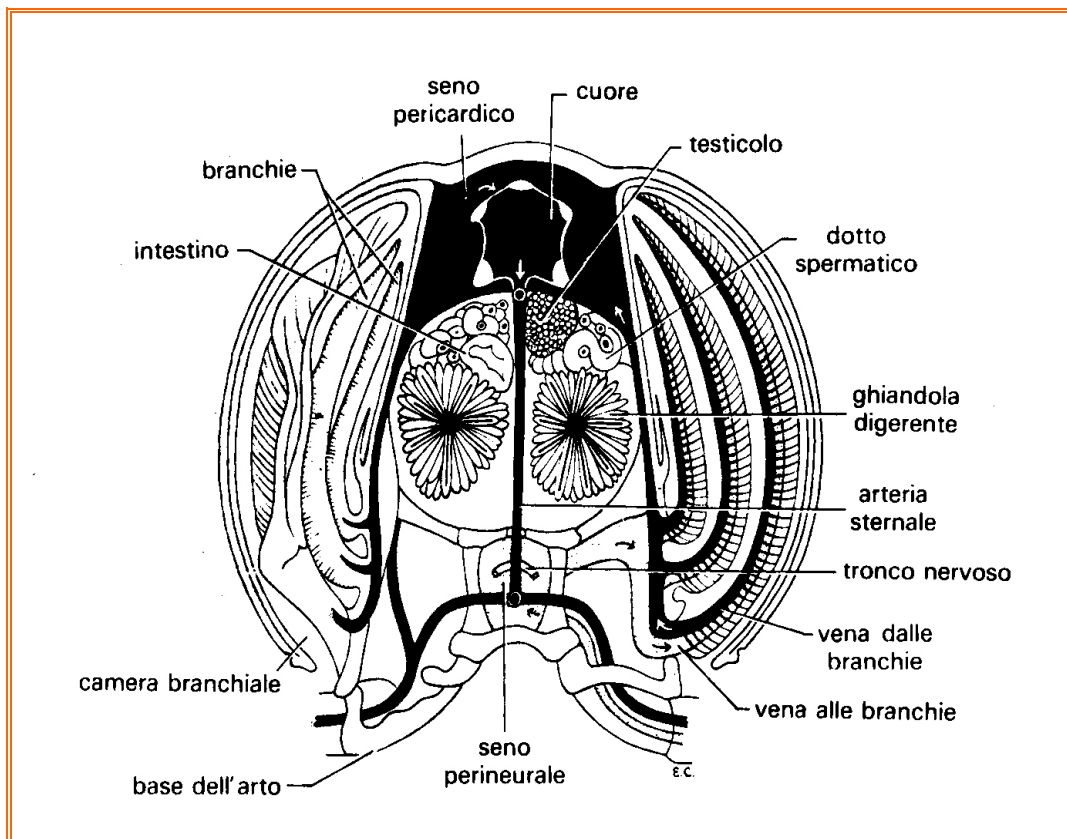


Fig. 22 - Sezione trasversale di un gambero dietro al terzo paio di zampe.

## Apparato branchiale e respirazione

L'apparato branchiale è costituito dalle camere branchiali, in ciascuna delle quali vi sono 18 branchie, visibili mediante asportazione delle porzioni laterali dello scudo cefalotoracico (Fig. 23).

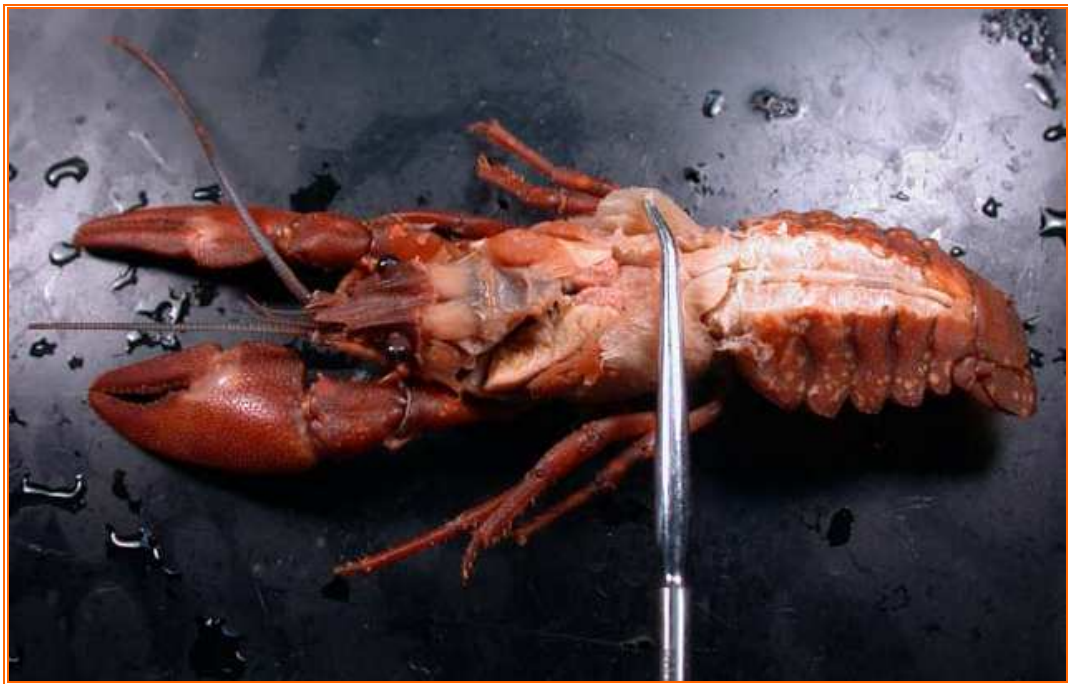


Fig. 23 - Dissezione di un crostaceo, visione dorsale dell'apparato branchiale.

Le branchie sono situate in prossimità di (Fig. 24):

- articolazioni e appendici toraciche: un paio di podobranchie alla base dell'ultimo paio di massillipedi; due paia di podobranchie alla base delle prime due paia di pereiopodi;
- membrana che fissa le articolazioni ai fianchi del segmento toracico: cinque paia di artrobranchie collegate alla membrana articolare tra appendice e corpo;
- fianchi del segmento toracico: un paio di pleurobranchie all'altezza del tredicesimo segmento, attaccate alla parete del torace.

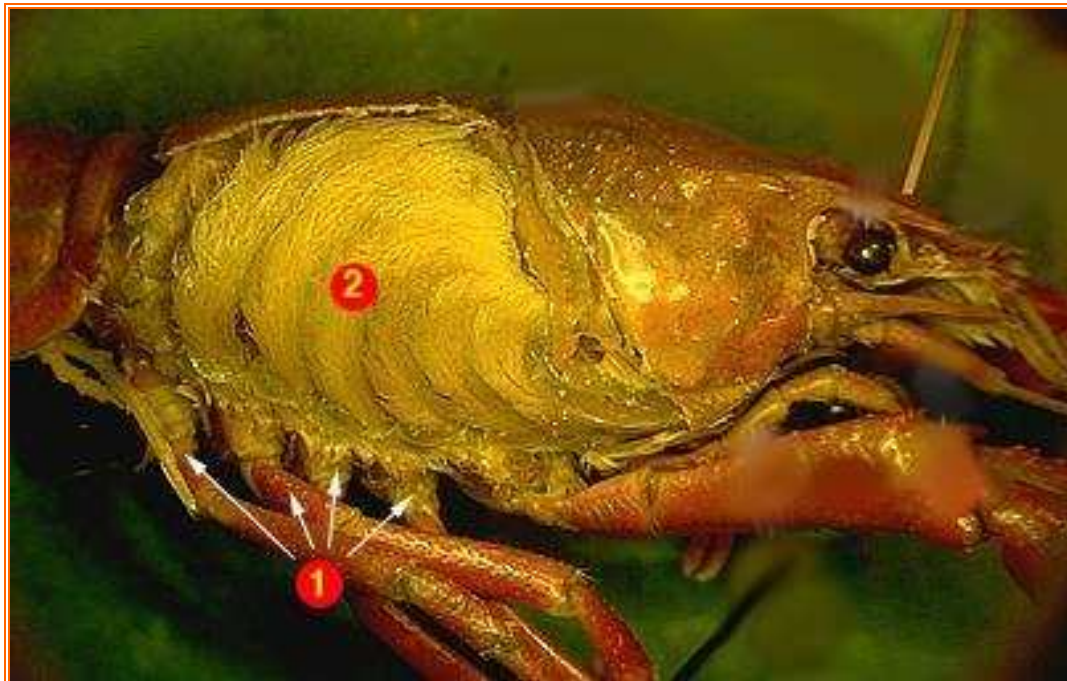


Fig. 24 - Posizione naturale delle branchie nei crostacei. 1) Le frecce mostrano dove sono ancorate le branchie ai pereiopodi; 2) La porzione di carapace che riveste la camera branchiale è stata rimossa, mettendo in vista le branchie.

Gli scambi gassosi con l'ambiente acquatico avvengono a livello delle camere branchiali, delimitate dal cefalotorace. Il flusso d'acqua nella camera branchiale ha una direzione caudo-craniale: l'acqua entra attraverso i margini liberi del carapace per poi uscirne da due fori situati ai lati della bocca.

Per evitare che le camere stesse vengano sporcate o intasate da detriti, i gamberi sono dotati di particolari strutture filamentose e filtranti che si trovano alla base dei pereiopodi; per lo stesso motivo, essi adottano spesso l'efficace accorgimento dell'inversione temporanea della direzione del flusso dell'acqua.

Il flusso dell'acqua attraverso le camere branchiali è dovuto principalmente al movimento dell'esopodite della seconda mascella, lo scafognatite, mentre l'assunzione dell'ossigeno avviene tramite le branchie stesse.

La collocazione protetta degli organi deputati alla respirazione ne rallenta di molto il prosciugamento e la conseguente perdita di funzionalità, permettendo la sopravvivenza a periodi di emersione piuttosto lunghi, ore e persino giorni (Nardi & Razzetti, 1998).

## Apparato circolatorio

La circolazione sanguigna è di tipo aperto-lacunare, mancando un circuito venoso che consenta il ritorno del sangue al cuore e agli organi respiratori attraverso un sistema di vasi chiusi; l'emolinfa rifluisce alle branchie attraverso membrane e fasci muscolari, procedendo verso il seno pericardico (Fig. 25).

Il liquido circolatorio è provvisto di un pigmento respiratorio, l'emocianina, associato alla frazione liquida (plasma). Il cuore, posto nel seno pericardico, è provvisto di tre aperture riceventi munite di valvole che impediscono il reflusso dell'emolinfa; da esso si dipartono:

- cranialmente, un'arteria oftalmica (cervello), un paio di arterie antennali (organi genitali, occhi, antenne e mandibole) ed epatiche;
- caudalmente, un'arteria addominale posteriore (muscoli addominali e intestino) ed una sternale (appendici toraciche e addominali).

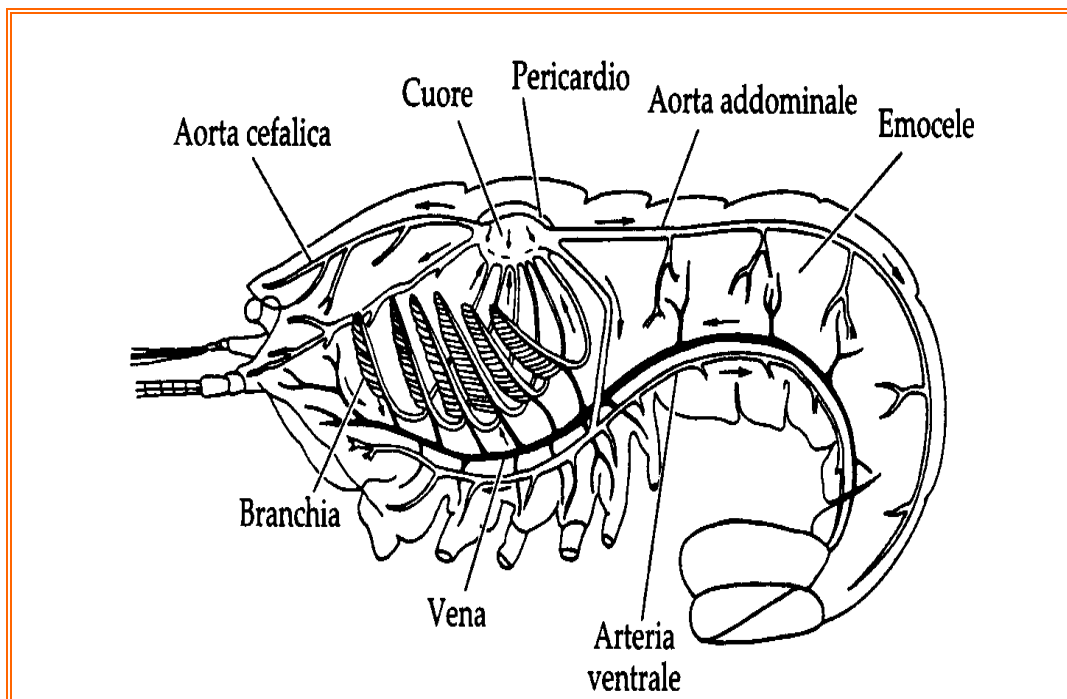


Fig. 25 - Schema generale del flusso sanguigno in un gambero di fiume.

## Apparato digerente e alimentazione

Oltrepassato l'apparato boccale, si distingue una limitata porzione esofagea cui fa seguito il vero e proprio sistema digerente. Lo stomaco è diviso in una regione cardiaca anteriore ed in una pilorica posteriore (Fig. 26): il pasto ingerito dalla porzione cardiaca passa gradualmente nell'apparato gastrico trituratore provvisto di formazioni dentiformi, costituite da numerose piastre cuticolari calcificate. Alcuni specifici muscoli associati alla parete dello stomaco fanno muovere i denti frammentando il contenuto. Gli enzimi digestivi secreti nella cavità cardiaca dall'epatopancreas, completano la triturazione dell'alimento. Proprio per questa caratteristica, questa regione prende il nome di "mulino gastrico". In seguito, il materiale si sposta verso lo stomaco pilorico, dove una serie di setole filtranti impediscono alle particelle di grandi dimensioni di entrare nell'intestino, in cui inizia il processo assimilativo, oltre al proseguo dello sminuzzamento. In questo modo, il cibo può essere elaborato meccanicamente per poi essere in seguito assunto rapidamente.

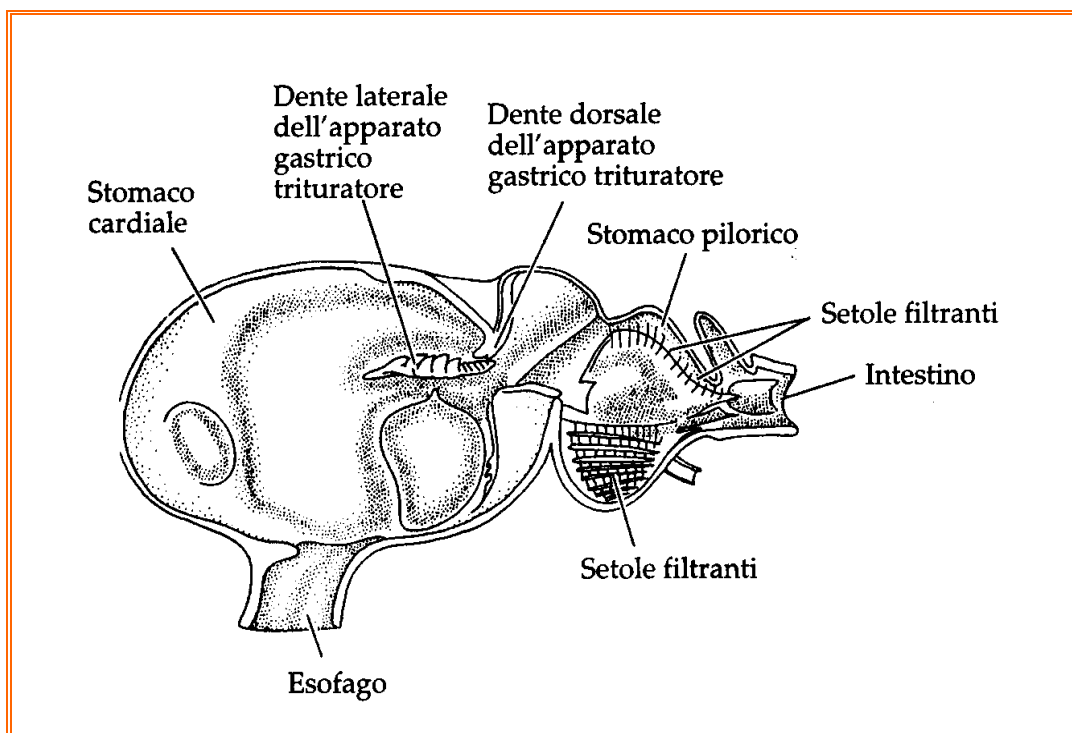


Fig. 26 - Stomaco di un gambero di fiume.

## Alimentazione

L'alimentazione è praticamente onnivora (come per tutti gli altri gamberi d'acqua dolce), anche se viene preferita una dieta carnivora; il gambero d'acqua dolce è in grado di nutrirsi di: insetti, anfibi, molluschi, crostacei o pesci di piccole dimensioni, animali morti e detriti vegetali di vario genere. Il gambero, sembra preferire materiale organico fresco, piuttosto che consumare quello già in via di decomposizione. La dieta è prevalentemente carnea nei soggetti più giovani, mentre da adulti è più frequente il consumo di detriti vegetali, come steli e foglie di piante o alghe filamentose e persino frutti caduti in acqua.

Anche piante calcificate, come le carofite, sono appetite dal gambero di fiume perché offrono una pronta risorsa di calcio da riutilizzare durante il processo di ecdisi.

È probabile che l'ambiente e la sua configurazione influenzi la scelta alimentare di questi crostacei: esami effettuati sul loro contenuto stomacale, hanno rivelato che in genere l'assunzione di alimenti di origine animale è prevalente e che il fenomeno è maggiormente verificabile nei gamberi che vivono in acque più profonde (Mason, 1974).

## **Sistema nervoso e organi di senso**

Nei crostacei, il sistema nervoso centrale presenta la tendenza alla fusione in gangli (Fig. 27), in senso cranio-caudale sono presenti: due gangli anteriori detti protocerebro e deutocerebro (entrambi sopraesofagei), dai quali si dipartono rispettivamente i nervi ottici ed antennulari, ed un ganglio posteriore detto tritocerebro, che forma il ganglio subenterico che collega il cervello al cordone nervoso ventrale, dotato a sua volta di altri gangli segmentali.

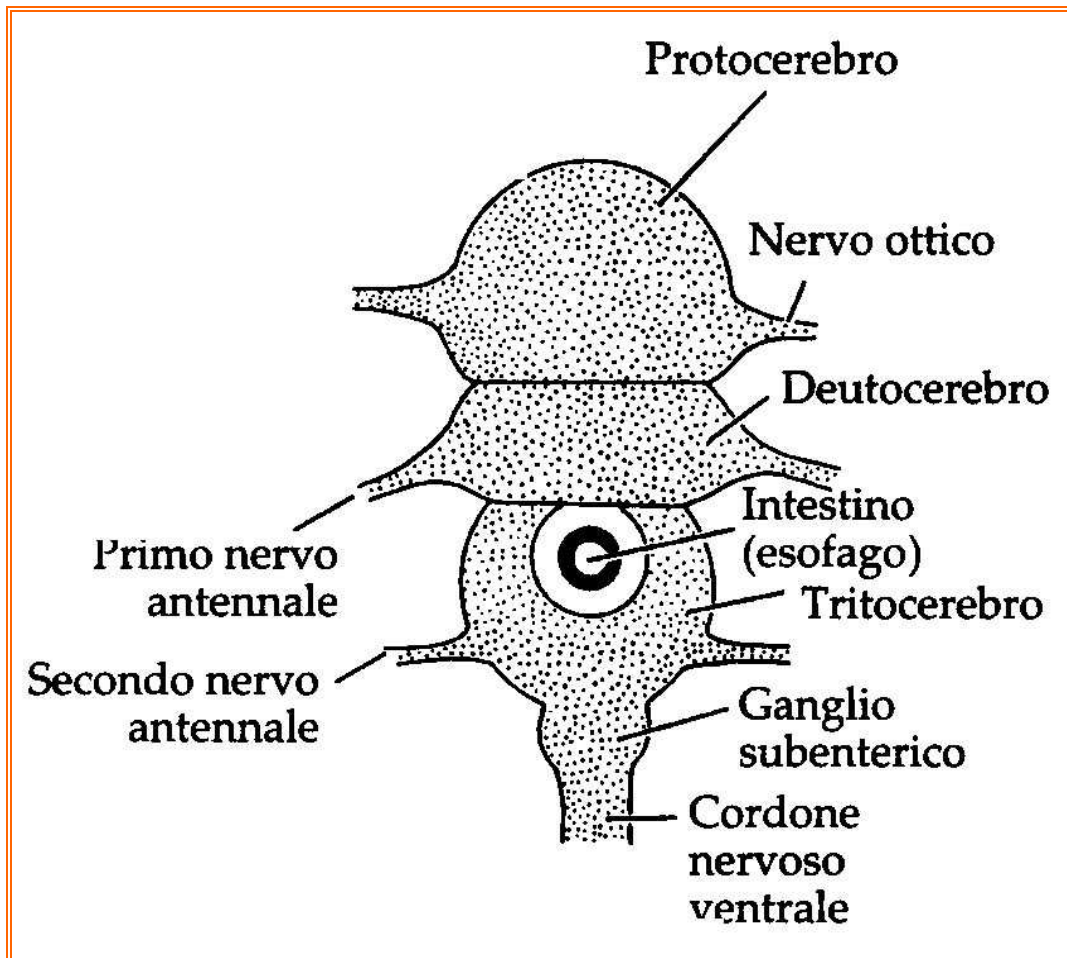


Fig. 27 - Sistema nervoso centrale di un crostaceo.

I gangli del torace e dell'addome possono essere fusi in maniera variabile a seconda della struttura del corpo. Infatti, ad esempio, nelle aragoste e nei gamberi di fiume i gangli toracici e addominali sono fusi nella linea mediana del corpo, ma separati gli uni dagli altri longitudinalmente.

Il sistema nervoso è costituito da una coppia di gangli per ogni segmento, uniti trasversalmente da una commissura, e longitudinalmente collegati alle coppie adiacenti (Fig. 28). I gangli sono disposti sulla linea mediana della faccia ventrale del corpo e sono collegati ai muscoli e appendici da specifici fasci di fibre nervose.



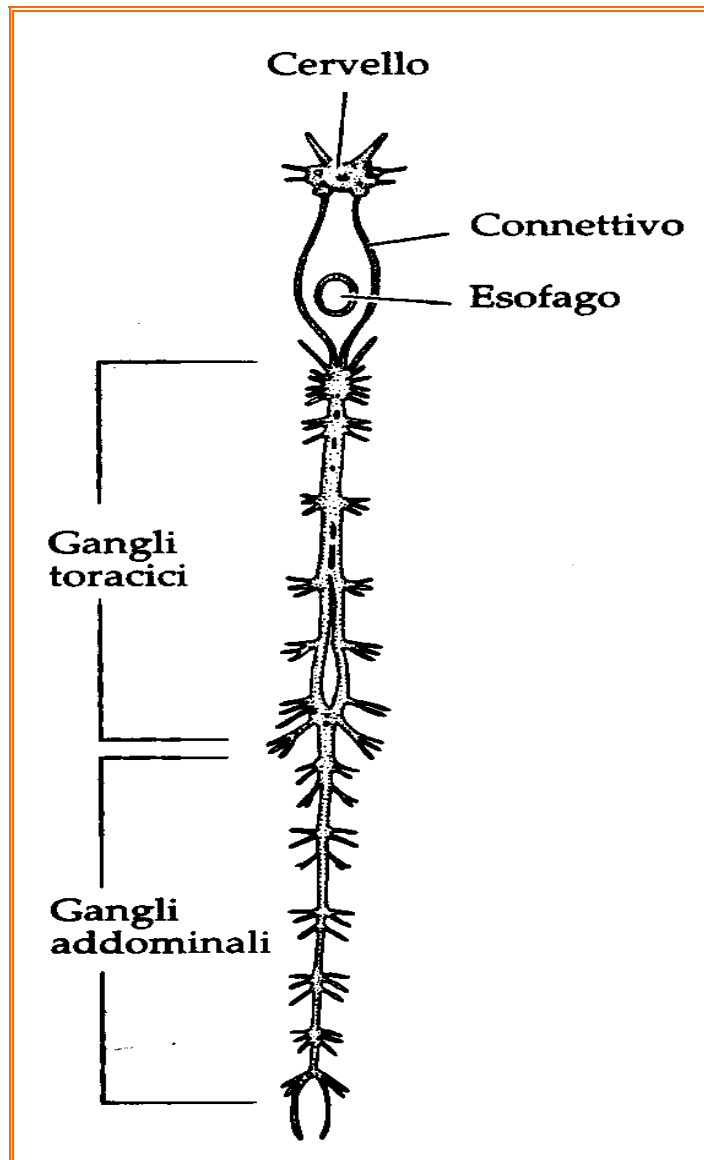


Fig. 28 - Sistema nervoso metamerico di gambero di fiume.

### Organi di senso

La prima classificazione dei recettori è quella che fa riferimento allo stimolo adeguato per essi. Si distinguono pertanto:

- Meccanorecettori: sensibili alla compressione, allo stiramento, o comunque ad una deformazione indotta meccanicamente. I crostacei possiedono appendici, setole o sensilli innervati, che ricoprono varie parti del corpo, i quali svolgono una funzione meccanorecetttrice (oppure chemiorecetttrice).
- Chemiorecettori: sensibili alla presenza di particolari sostanze chimiche nell'ambiente in cui sono immersi. La maggior parte dei crostacei possiede

chemiocettori particolari detti estetaschi, che sono situati sulle antenne o sulle parti buccali, raggruppati o disposti in file.

- Termorecettori: sensibili alla diminuzione o all'aumento di temperatura, questi sono presenti prevalentemente sulla superficie del corpo.
- Propriocettori: avvertono la posizione e il movimento del corpo nello spazio, e di ogni singola porzione del corpo rispetto alle altre. I gamberi possiedono delle strutture recettoriali dette statocisti completamente chiuse o aperte verso l'esterno che funzionano da localizzatori spaziali, fornendo informazioni anche sull'accelerazione angolare e lineare del corpo rispetto all'acqua e sul suo movimento intorno all'animale (Fig. 29).

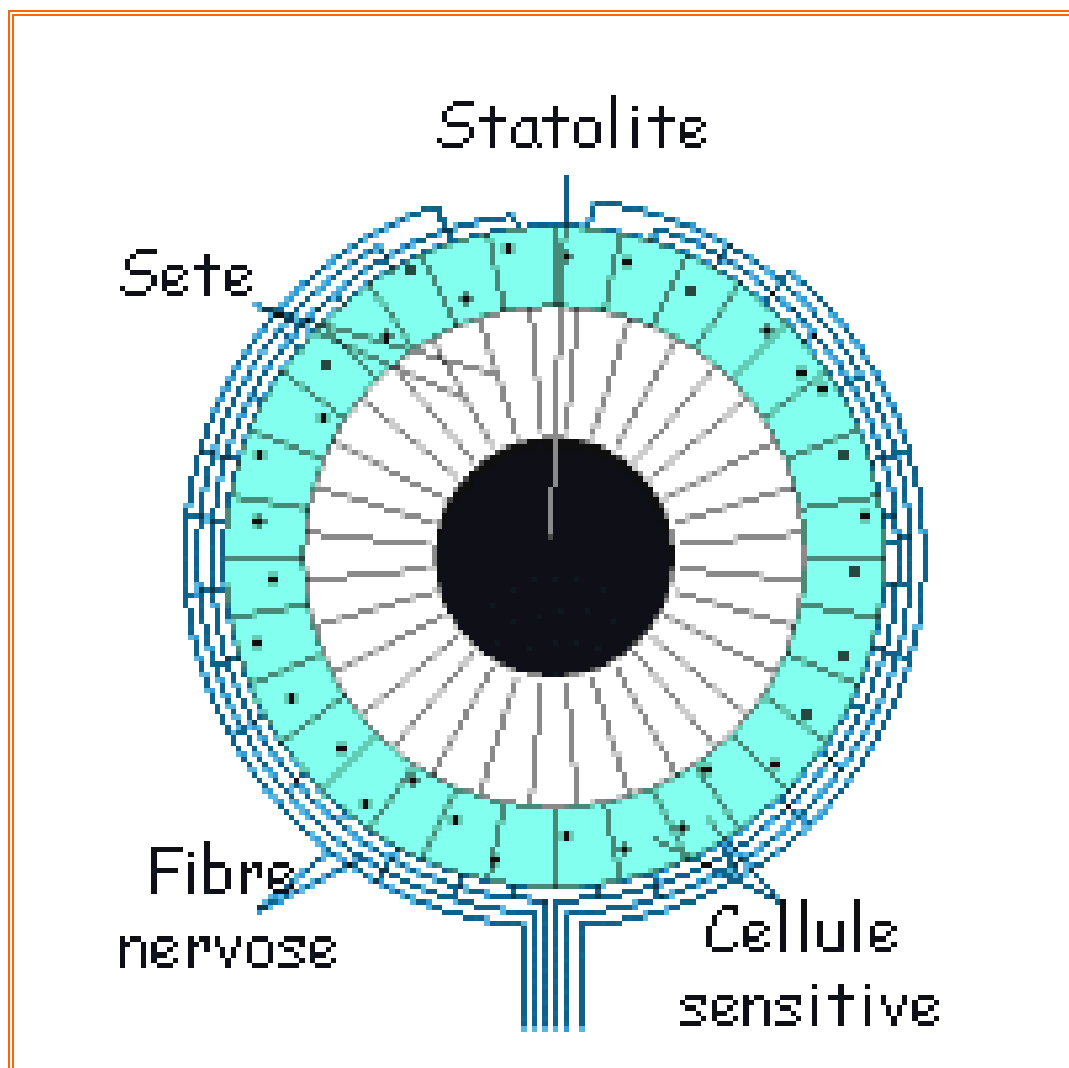


Fig. 29 - Schematizzazione grafica di una statocisti.

Questo è possibile grazie alla presenza, entro apposite cavità, di un piccolo corpo solido, in genere un aggregato di granuli di sabbia, detto statolite, associato a numerose setole sensoriali, dette setae. Gli spostamenti dello statolite, modificando l'assetto spaziale delle setae, fanno recepire all'animale la sua posizione rispetto alla gravità.

- Fotorecettori: sensibili alla luce. I crostacei possono avere due tipi di fotocettori: occhi semplici mediani che rilevano solo l'intensità e la direzione della luce, ed occhi composti laterali. In entrambi i casi, l'innervazione è a carico del protocerebro. Molte specie posseggono i due tipi di occhi contemporaneamente o anche in stadi diversi del loro sviluppo. L'occhio mediano, ad esempio, compare allo stadio di larva (nauplio) ed è composto da tre unità fotorecetrici nei naupli e fino a sette quando persistono nell'adulto. Gli occhi composti possono avere un elevato numero di unità fotorecetrici dette ommatidi, ognuna delle quali possiede un proprio campo visivo e propri tratti nervosi di collegamento al nervo ottico (Fig. 30).

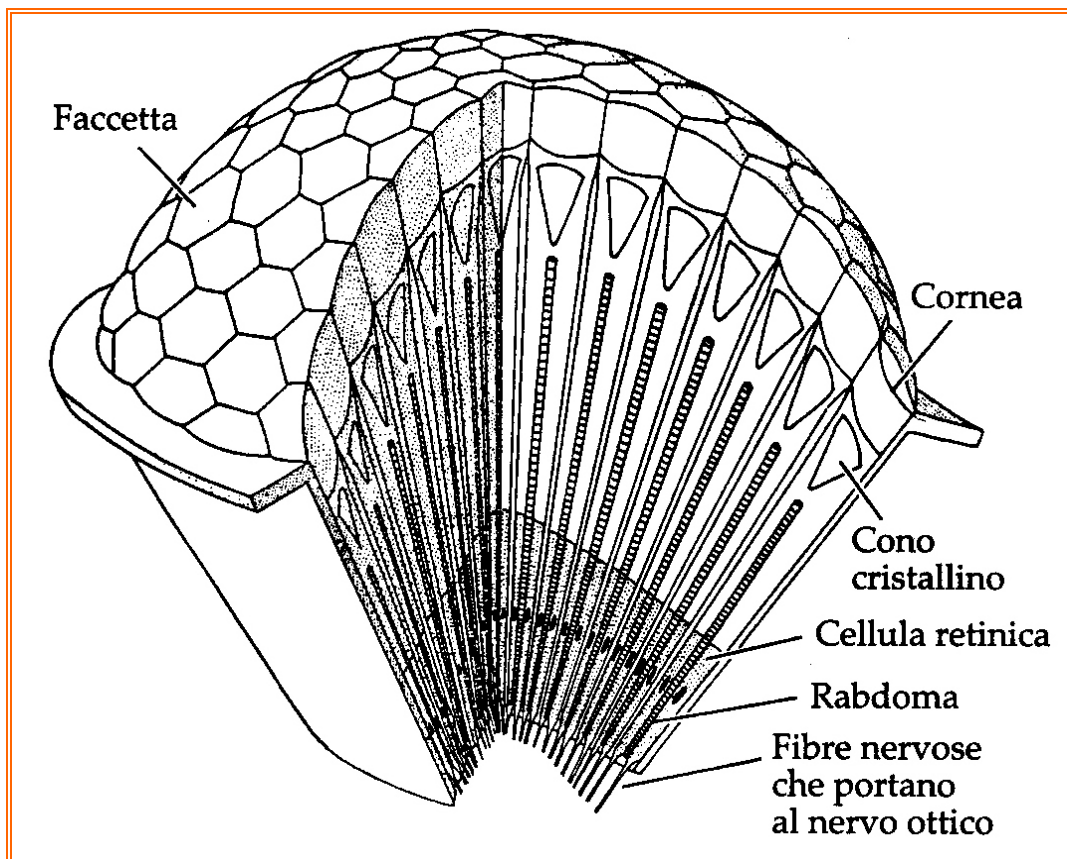


Fig. 30 - Sezione di occhio composto.

Ogni ommatidio è ricoperto superficialmente da una parte modificata dell'esoscheletro detta cornea, mentre internamente la parte centrale è composta da: un cono cristallino, un gruppo di cellule del cono cristallino, uno stelo del cono cristallino ed una retinula basale (Fig. 31). Quest'ultima è una struttura complessa con numerose cellule retiniche da cui originano i nervi. Tali cellule retiniche sono poste a ridosso dell'ommatidio e contribuiscono singolarmente alla formazione di una struttura detta rabdoma, composta da microvilli, contenenti rodopsina, un fotopigmento proteico.

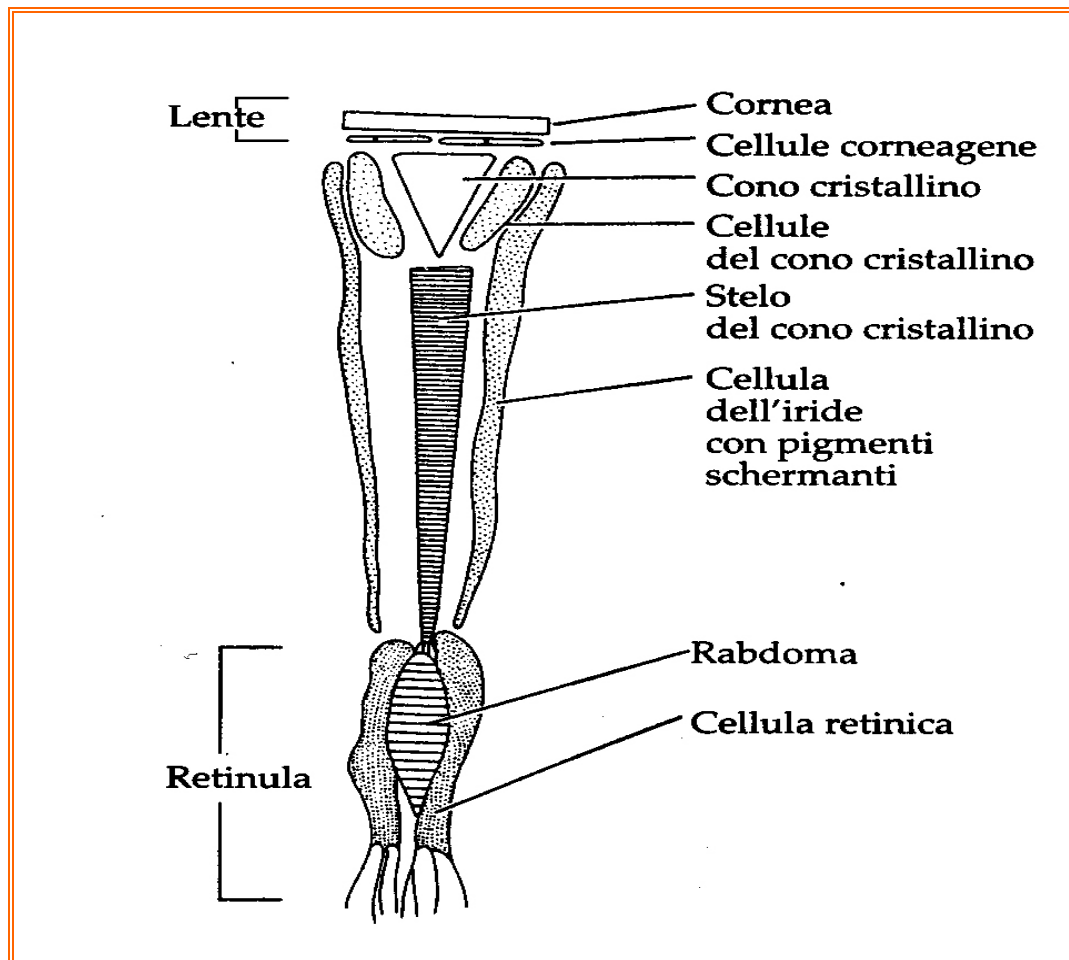


Fig. 31 - Singolo ommatidio.

- Nocicettori: sensibili a stimoli nocivi o potenzialmente nocivi per l'organismo. La loro attivazione determina reazioni protettive provocate dalla trasmissione della sensazione di dolore. Essi non sono così specializzati nel cogliere una determinata forma di energia come gli altri

recettori, più che la qualità dello stimolo è importante la sua intensità. Questi recettori sono a soglia elevata ed il loro eccitamento richiede appunto uno stimolo abbastanza intenso da essere lesivo per i tessuti.

### Apparato escretore e osmoregolazione

I crostacei sono animali ammoniotelici, a prescindere dal fatto che vivano in acqua dolce o salata: infatti, espellono il 70-90% delle loro scorie azotate sotto forma di ammoniaca, mentre la restante parte viene espulsa sotto forma di urea, acido urico, aminoacidi ed altri composti. L'ammoniaca può essere liberata per mezzo delle branchie, ma l'apparato escretore vero e proprio è costituito dalle ghiandole delle antenne. La maggior parte dei crostacei possiede organi escretori nefridiali sotto forma di ghiandole antennali o mascellari (Fig. 32): sono strutture omologhe che differiscono per posizione rispetto ai loro pori, rispettivamente alla base della seconda antenna o della seconda mascella.

Le ghiandole delle antenne sono formate da un'estremità cieca, detta sacco terminale, da una porzione fortemente reticolata, detta labirinto, e da una tubuliforme spugnosa, che si apre nel canale efferente dilatato in vescica.

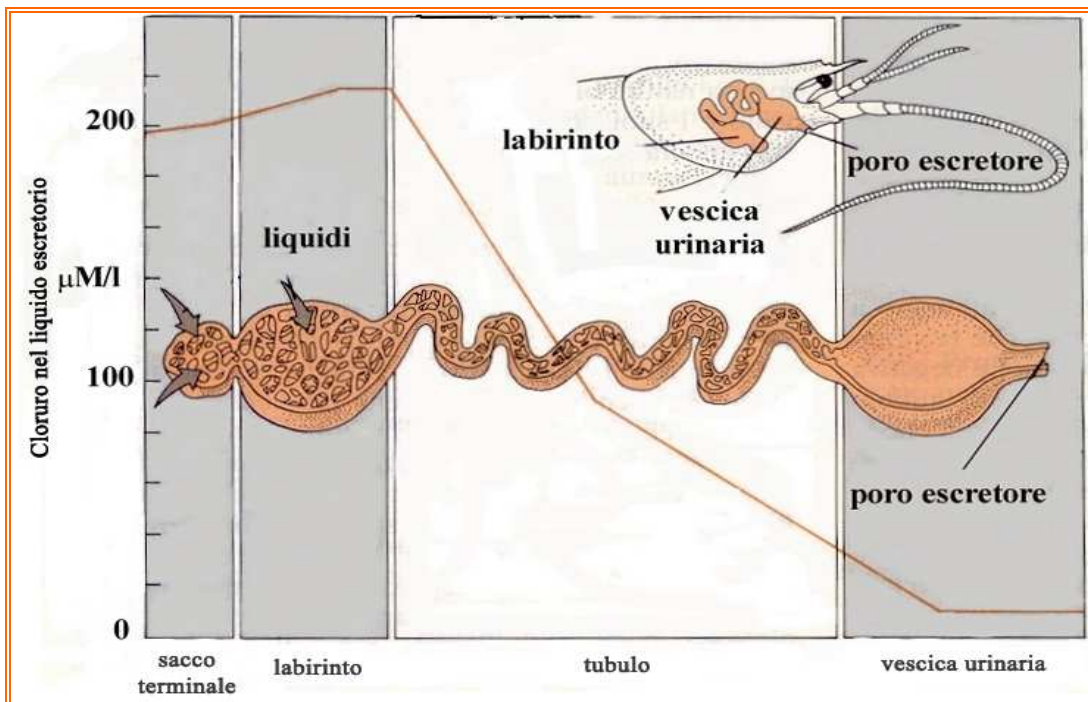


Fig. 32 - L'emolfinza passa attraverso le pareti del sacco terminale e del labirinto. Il riassorbimento degli ioni cloruro lungo il tubulo è indicato dal diagramma, gli ioni sodio seguono passivamente.

I Malacrostaci dispongono tutti di ghiandole antennali. I canali dell'emocele, ripieni di emolinfa, si intrecciano con l'estensioni ramificate del sacco terminale, le cui cellule svolgono una funzione assorbente selettiva nei confronti delle sostanze presenti nell'emolinfa. Questa conformazione garantisce una notevole superficie ideale per i processi di filtrazione.

Un apparato cieco come questo è di grande vantaggio per i crostacei che hanno un sistema circolatorio aperto: infatti, se il sacco terminale e il labirinto si aprissero nell'emocele, tenderebbero a perdere liquidi.

La pressione generata dal cuore nell'emolinfa è responsabile della filtrazione.

I processi di filtrazione/secrezione sono in parte selettivi, ma una considerevole parte della regolazione della composizione dell'urina viene completata mediante scambi attivi tra linfa e tubulo escretore.

I crostacei marini hanno un tubulo breve e producono urina che è isosmotica rispetto alla loro linfa. Nei crostacei di acqua dolce il tubulo è proporzionalmente più lungo e ciò assicura una superficie maggiore per il recupero dei sali dal filtrato, permettendo così la produzione di un'urina iposmotica. Queste attività rivestono una notevole importanza, non solo per la regolazione dell'escrezione dei rifiuti metabolici, ma anche per il mantenimento dell'equilibrio idrico e ionico, specialmente per le specie di acqua dolce e terrestri.

Infine, va ricordata l'importanza anche della cuticola in questi animali che, grazie alla sua funzione di barriera per gli scambi tra ambiente esterno ed interno, è limitare la perdita di acqua in ambiente terrestre, così come il suo eccessivo assorbimento in ambienti di acqua dolce.

### **Apparato riproduttore**

L'apparato genitale maschile comprende due testicoli, due canali deferenti e relative ghiandole androgene (Fig. 33a e 34).

I testicoli si estendono dorsalmente nella regione toracica in direzione cranio-caudale, fondendosi in seguito in una struttura impari (configurazione a Y). Da ciascuno di essi partono spermidotti lunghi e convoluti, che sboccano in prossimità di una papilla genitale a livello del quinto paio di pereopodi.

Le ghiandole androgene sono accollate alla regione immediatamente anteriore alla parte muscolare eiaculatrice dei dotti deferenti.

I maschi si distinguono dalle femmine per avere il primo paio di pleopodi dell'addome modificati in organi sessuali (detti gonopodi) che, all'atto riproduttivo, si uniscono a formare un unico organo copulatore.

L'apparato genitale femminile (Fig. 33b e 34) è composto da due ovari e due ovidutti; i primi hanno medesima collocazione dorsale dei testicoli, estendendosi fino al secondo segmento addominale con l'analoga struttura allungata contraddistinta dalla loro fusione caudale (forma a Y). Gli ovidutti iniziano a livello dell'unione delle metà anteriori, sono brevi, irrobustiti da una guaina muscolare e sboccano a livello del terzo paio di pereiopodi.

La fecondazione esterna avviene tramite il trasferimento da parte del maschio di spermatofores tubuliformi alla femmina, la quale provvede alla loro conservazione in appositi ricettacoli sino all'ovodeposizione.

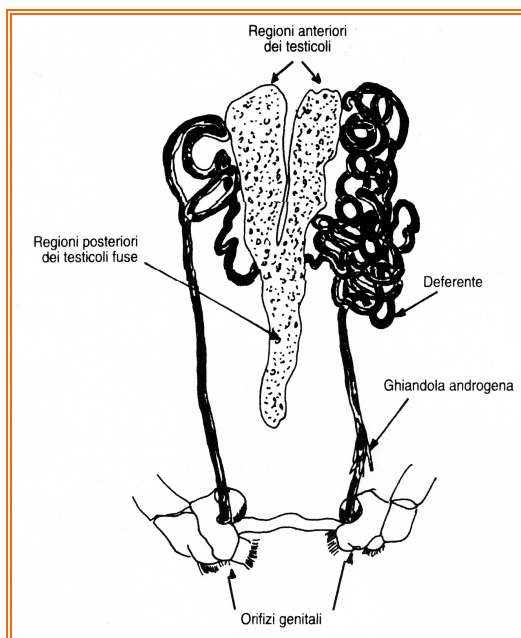


Fig. 33a - Apparato genitale maschile.

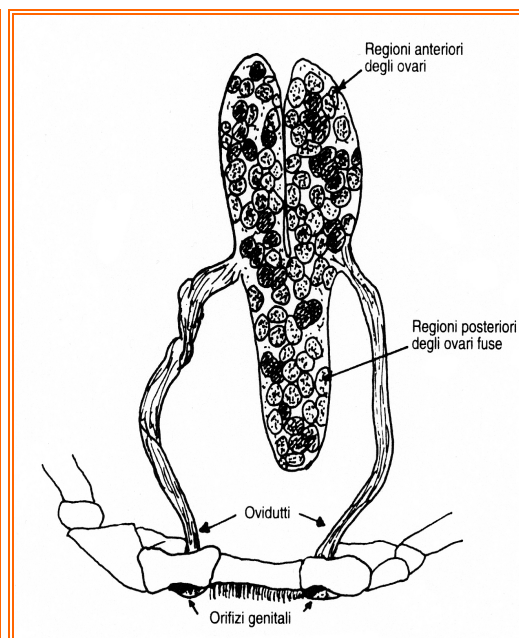


Fig. 33b - Apparato riproduttore femminile.

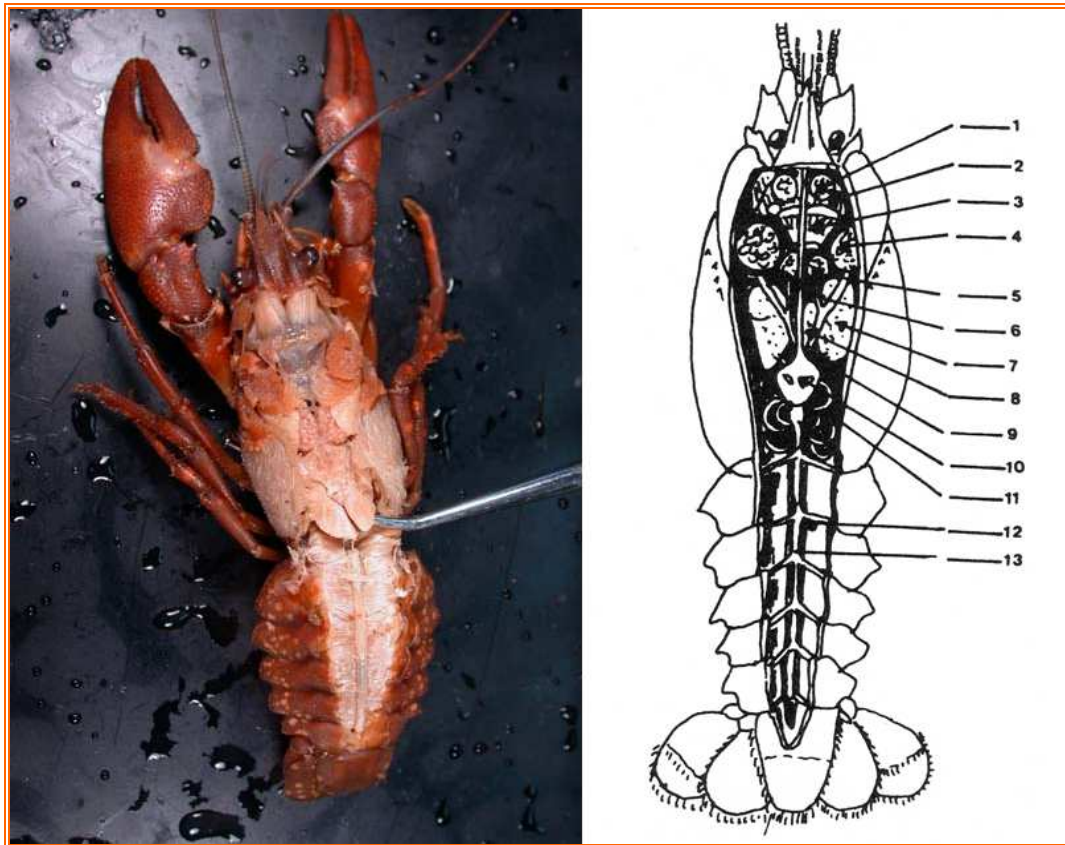


Fig. 34 - A sinistra, collocazione delle gonadi, in un gambero d'acqua dolce. A destra localizzazione delle diverse strutture anatomiche: 1) muscoli gastrici anteriori; 2) ghiandola verde; 3) regione cardiaca dello stomaco; 4) muscoli adduttori delle mandibole; 5) muscoli gastrici posteriori; 6) arteria oftalmica; 7) fegato; 8) gonadi; 9) arteria antennaria; 10) cuore; 11) dotto deferente; 12) intestino posteriore; 13) arteria addominale superiore.

## Ciclo biologico

Il gambero di fiume può vivere oltre dieci anni e generalmente raggiunge la maturità sessuale al terzo o quarto anno di vita, quando le femmine hanno una lunghezza media di circa 5 cm.

L'accoppiamento inizia nei mesi autunnali (da settembre a novembre), probabilmente stimolato dall'abbassamento delle temperature sotto i 10°C per un esteso periodo. A partire dalla metà di settembre, ma soprattutto durante il mese di ottobre, quando gli ovociti hanno raggiunto il diametro di 1,5 mm, inizia il periodo riproduttivo.

Nel gambero l'accoppiamento è lento, difficile e spesso traumatico: i maschi corteggiano le femmine in modo piuttosto violento e possono giungere a mutilare o addirittura uccidere la femmina reticente al rovesciamento sul dorso per



l'accoppiamento frontale. In natura, infatti, la mortalità ed i casi di mutilazione in seguito ad un accoppiamento sono episodi frequenti.

Alla fine di ottobre e durante il mese di novembre, il maschio cerca la femmina in modo più attivo e tenta di rovesciarla aiutandosi con i robusti chelipedi dei quali è dotato. I maschi sono molto territoriali, soprattutto nella stagione dell'accoppiamento.

Durante l'accoppiamento, il maschio emette liquido spermatico che, a contatto con l'acqua, gelifica ed assume la forma di numerosi piccoli sacchetti di forma vermicolare, contenenti gli spermatozoi, che vengono depositi sugli sterniti toracici della femmina, attorno agli orifizi esterni degli ovidotti. Le spermatofore con l'ausilio dei gonopodi vengono fatte aderire all'area ventrale del cefalotorace della femmina, tra il terzo ed il quinto paio di arti toracici.

L'addome della femmina si riempie in seguito di un secreto di consistenza mucosa, trasparente, prodotto dalle ghiandole tegumentarie, che riveste le setole dei pleopodi, saldandoli fra loro in modo da formare una sorta di sacca.

Dopo 2-3 giorni gli ovidotti emettono le uova che, seguendo i movimenti della madre, si radunano in vari punti del sacco addominale dove soggiogneranno per i mesi a seguire (Fig. 35).



Fig. 35 - Femmina con le uova attaccate ai propri pleopodi.

Al momento della deposizione delle uova, il cui diametro varia da uno a due millimetri a seconda della taglia della madre, le ghiandole sessuali della femmina producono un secreto che, grazie all'azione dei pleopodi, diffonde verso le spermatofore provocandone la disgregazione. Gli spermatozoi così liberati fecondano le uova, fuoriuscite dagli ovidotti, e collocate nelle sacche ovigere.

Il secreto si trasforma in un secondo momento in una membrana che isola ciascun uovo, le uova così addensate si saldano, con i pleopodi e con l'addome in generale. Questo processo dura mediamente 2-3 ore e successivamente la femmina si rintana fino al momento della schiusa, ossigenando e pulendo in continuazione le proprie uova. La femmina, in genere, trova rifugio in tane riparate sia dalla corrente, sia dalle escursioni termiche.

Dopo l'accoppiamento, il maschio è visibilmente attivo e si dedica alla ricerca di altre femmine recettive.

L'incubazione dura circa 5-7 mesi, le uova non fecondate si decompongono e si disgregano ed i loro frammenti vengono trascinati via dalla corrente oppure per rimozione da parte delle appendici addominali che ripuliscono, pettinano, rastrellano in continuazione il grappolo di uova. Come per l'incubazione delle uova di alcune specie di pesce, si può parlare di una costante di gradi-giorno (cioè il numero teorico di giorni che sarebbero richiesti per la schiusa alla temperatura di 1°C), questo significa che la durata dell'incubazione è inversamente proporzionale al valore della temperatura ambientale.

Le femmine ovigere si rinvengono da dicembre a giugno e possono portare adese al loro addome da 20 a 200 uova, ma mediamente se ne riviene un centinaio del diametro di circa 2 mm e dal colore bruno cupo (Fig. 36). Il numero di ovociti nell'ovario della femmina dipende dall'età e dalla taglia dell'animale.

Dal momento della deposizione, le uova conservano il proprio colore scuro per 3-4 mesi (Fig. 36). In seguito, questa opacità scompare e l'embrione, visibile ad occhio nudo, conferisce ad ogni uovo un colore rossastro, che vira ad una sfumatura color ribes più o meno intenso non appena l'embrione diventa attivo nel suo guscio e ne assimila la parte organica, il che lo rende diafano e relativamente fragile al momento della schiusa (Fig. 37).



Fig. 36 - Esemplare di femmina ovigera, raccolta dopo il periodo invernale, con le tipiche uova brunastre adese ai pleopodi addominali.



Fig. 37 - Le uova assumono il colore dell'embrione, visibile ad occhio nudo, dal colore rossastro.

Il cordone che collega l'uovo alle appendici della madre ha solo funzione di legame meccanico, non avendo alcuna funzione biologica: è molto elastico, si allunga a mano a mano aumenta il peso dell'uovo e, a causa dei movimenti incessanti ai quali viene sottoposto durante l'incubazione, si avvolge a spirale.

Il comportamento della madre modifica quando si avvicina il momento della schiusa, cioè a partire dalla fine della primavera. La femmina dilata il telson, lo solleva aritmicamente e pettina le sue uova in modo più attivo. La schiusa si manifesta con una deiscenza del guscio in due valve che rimangono attaccate al peduncolo. Dalle uova schiudono larve (prima fase di sviluppo) che restano per 2-3 giorni appese passivamente per il telson al peduncolo dell'uovo. In seguito, il filamento si lacera e la larva si appende attivamente ai pleopodi della madre con le chele. Il carapace della larva durante il primo stadio larvale è ancora relativamente molle ed elastico, consentendo una crescita in lunghezza e in peso. La larva in questa fase è abbastanza simile all'adulto, misura 8-9 mm e pesa mediamente intorno ai 20 mg. Per 1-4 giorni, al massimo dieci, la larva non si nutre, consumando le riserve contenute nel sacco vitellino, posto dorsalmente al cefalotorace. Le larve rimangono attaccate al ventre materno fino al completo sviluppo, raggiunto in circa una settimana. Successivamente ha luogo una prima muta (seconda fase di sviluppo), il sacco vitellino viene riassorbito e comincia l'alimentazione attiva (Fig. 38).



Fig. 38 - Larva in procinto di iniziare la propria vita attiva dopo il distacco dalla madre.

Dopo il distacco dalla madre, i giovani gamberi iniziano una vita autonoma sul fondo dei corsi d'acqua, mantenendosi comunque, per i primi giorni, a pochi centimetri dalla madre, per poter eventualmente correre al riparo.

È la femmina stessa che, in caso di pericolo, richiama a sé i giovani con l'emissione di ferormoni d'allarme.

La madre in questo periodo ricomincia a nutrirsi dopo il digiuno dei mesi invernali.

Durante il primo anno di vita, il giovane gambero, continuando a crescere in dimensioni, compie 5-6 mute, (ricambio dell'esoscheletro). In questo contesto, i gamberi divengono facili prede e sono registrati i tassi di mortalità più elevati.

Negli anni successivi, la muta diverrà un evento molto più raro, con una frequenza massima di 1-2 volte l'anno.

## **Muta**

La presenza di un esoscheletro rigido impedisce una crescita graduale delle dimensioni corporee, che avviene con aumenti distribuiti nel tempo associati alla perdita periodica del vecchio esoscheletro e alla contemporanea formazione di uno nuovo. Tale processo di muta viene detto ecdisi, esuviazione, caratteristico degli artropodi. Durante le fasi di accrescimento l'animale entra in una fase fisiologica detta pre-muta o pre-ecdisi.

In questa fase, alcune ghiandole epidermiche secernono enzimi che iniziano a digerire la vecchia cuticola e separano quindi l'esoscheletro dall'epidermide. La cute a sua volta secerne un nuovo esoscheletro molle man mano che il vecchio si allenta e si assottiglia. La vecchia cuticola in seguito si fessura sul dorso in maniera tale che l'animale possa svincolarsi e fuoriuscirne; durante l'ecdisi vengono persi i rivestimenti cuticolari che interessano ogni depressione, solco o aculeo della superficie corporea. L'esoscheletro abbandonato prende il nome di esuvia.

Appena il crostaceo esce dallo strato superficiale del tegumento, i tessuti assorbono rapidamente acqua e l'animale entra in una fase detta post-muta (post-ecdisi), durante la quale si ha un indurimento della nuova cuticola per la

disponibilità di sali di calcio e diventa resistente al degrado fisico e chimico grazie al processo molecolare di legame incrociato nella matrice proteina-chitina.

In seguito, l'acqua o l'aria in eccesso viene espulsa attivamente ed il corpo gradualmente si accresce (Fig. 39).

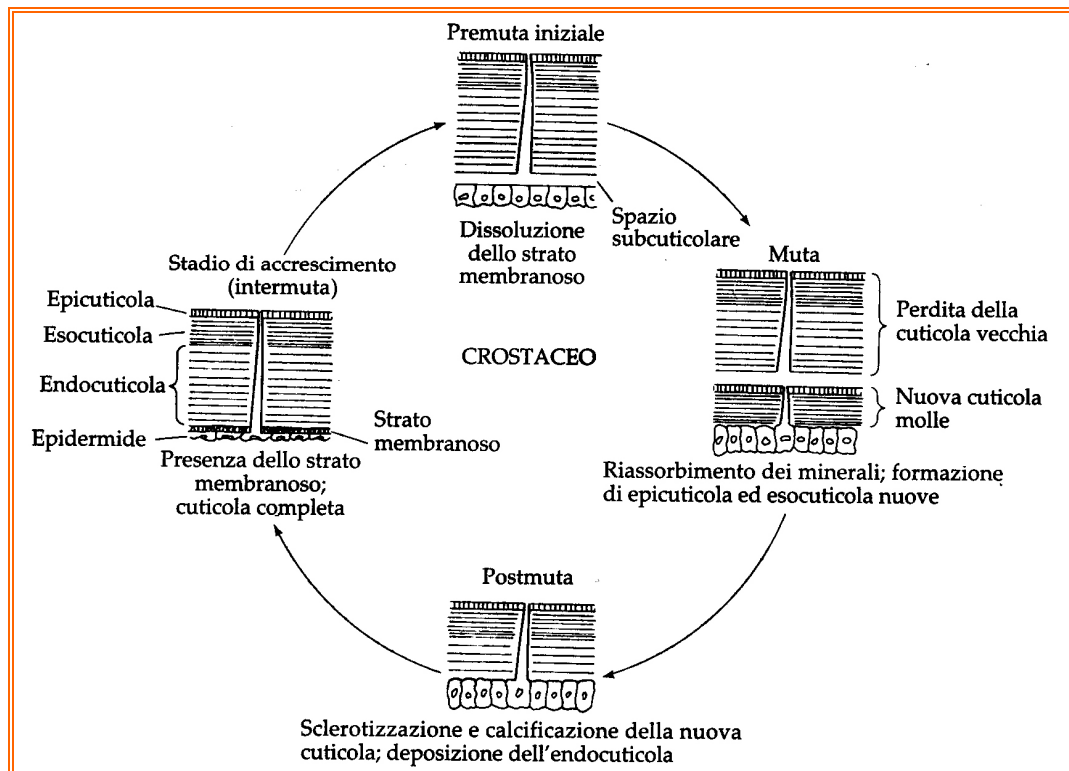


Fig. 39 - Rappresentazione grafica delle fasi di muta.

Le fasi della muta sono regolate da un sistema ormonale, costituito da due elementi.

La fase di pre-ecdisi avviene per azione dell'ormone della muta denominato ecdisone, che viene secreto in una ghiandola neurosecernente, detta organo Y che si trova alla base delle antenne o nelle mascelle.

A sua volta, l'azione della ghiandola Y è controllata dall'ormone che inibisce il processo di muta (MHI, *molt-inhibiting hormone*) prodotto dall'organo del seno o organo X, prossimo al ganglio oculare detto *medulla terminalis*.

Questo ormone viene trasportato ed immagazzinato nella ghiandola del seno che ne controlla il rilascio.

La presenza di MHI in circolo blocca la produzione ed il rilascio di ecdisone da parte della ghiandola Y.

Uno stimolo sensoriale del sistema nervoso centrale dà inizio alla fase di pre-ecdisi ed alle fasi successive. La stimolazione può essere esogena (durata del giorno o stagioni) oppure endogena (crescita dei tessuti molli).

La regolazione ormonale del processo di ecdisi è ben rappresentata dai seguenti schemi grafici (Fig. 40, 41 e 42).

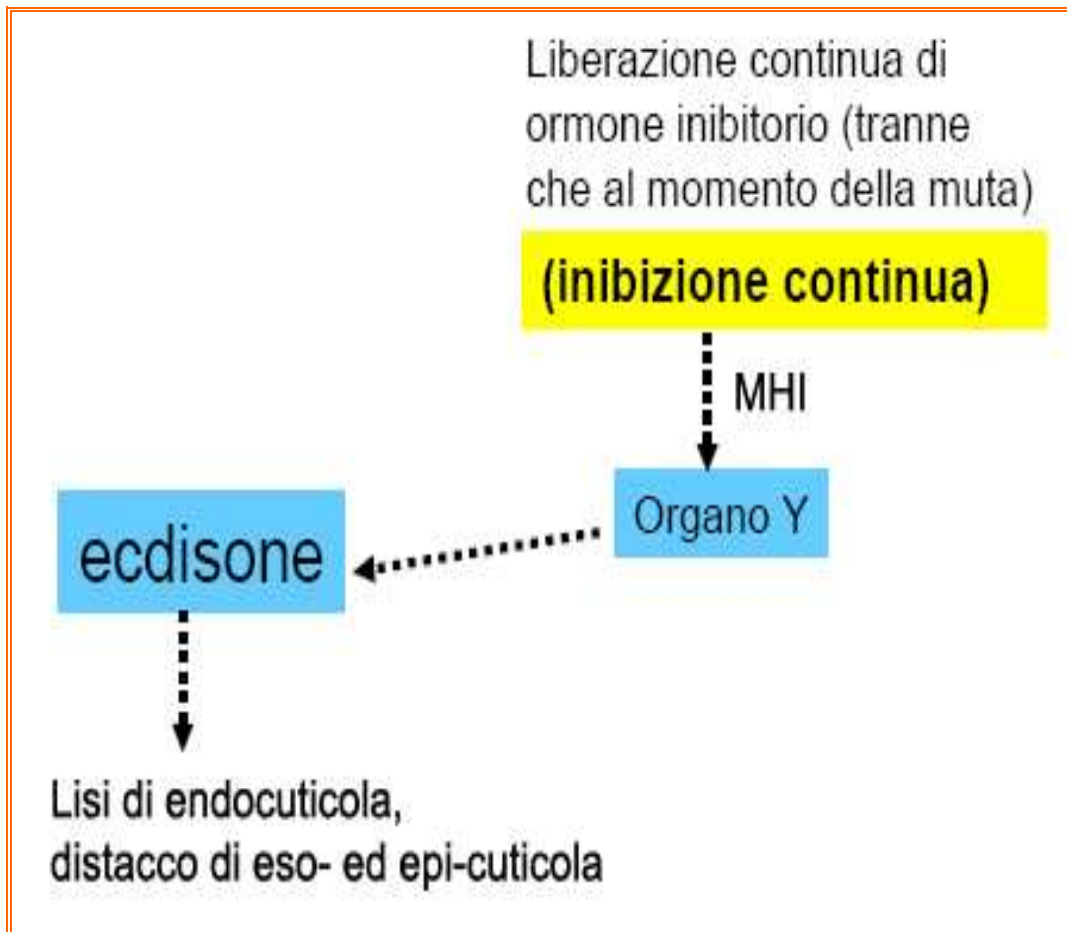


Fig. 40 - Schematizzazione della fase di intermuta.

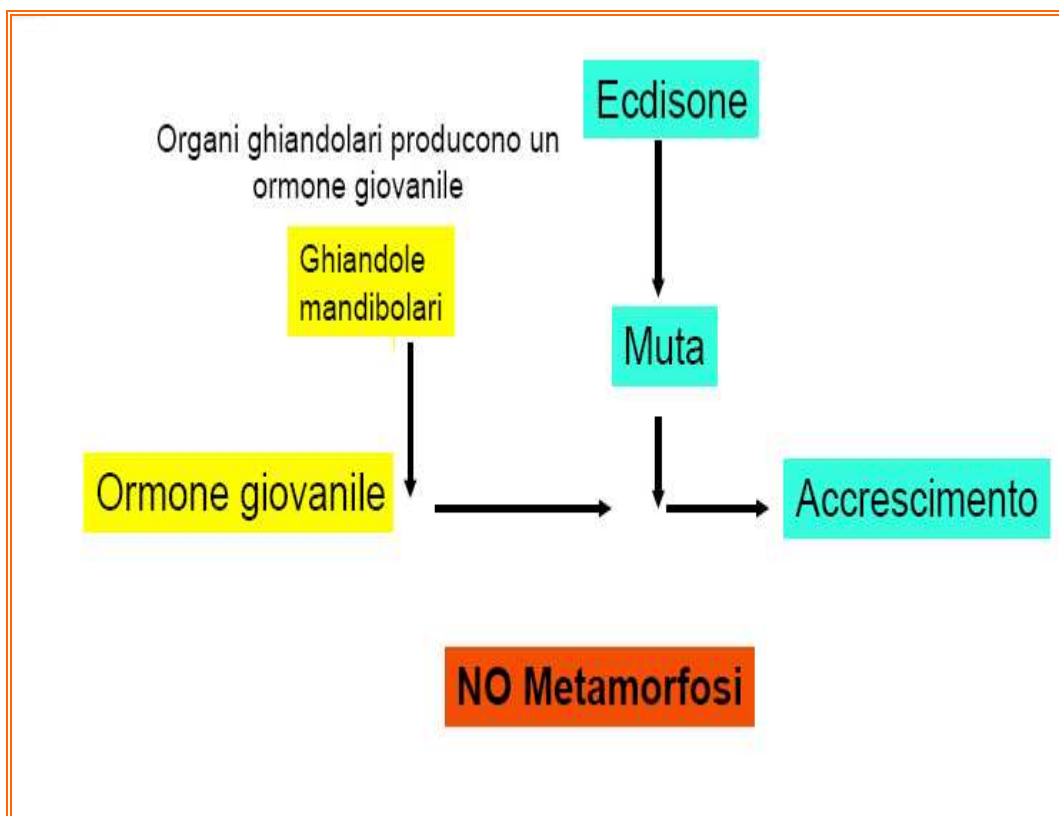


Fig. 41 - La presenza di ormone giovanile provoca ecdisi ed accrescimento.

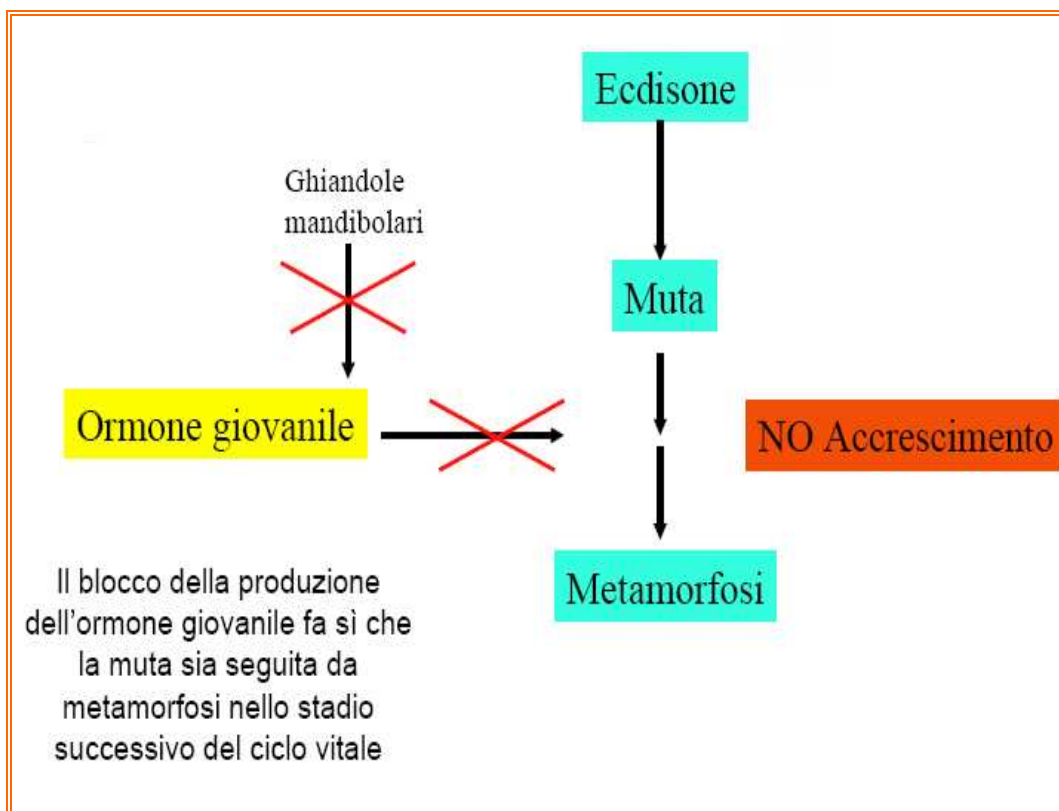


Fig. 42 - Il blocco di rilascio dell'ormone giovanile porta a metamorfosi, dopo la muta, nello stadio vitale successivo.



La muta rientra in un complesso ciclo fisiologico di scambi di calcio tra il gambero e l'ambiente, è suddivisa in quattro fasi ed è controllata da specifici ormoni prodotti dai centri neuroendocrini.

La durata delle quattro fasi (pre-ecdisi, ecdisi, post-ecdisi, intermuta) è strettamente connessa al tenore di calcio nell'acqua. Durante la fase di pre-ecdisi, l'animale elimina nell'ambiente acquatico il 18-22% del calcio solubile ed inizia un processo di decalcificazione dell'esoscheletro. L'erosione del vecchio esoscheletro facilita, infatti, la fuoriuscita del corpo dell'animale durante il successivo stadio dell'esuviazione. Contemporaneamente a questo processo di erosione dell'esoscheletro, nello stomaco cardiaco, si formano particolari formazioni calcaree di forma discoidale, denominate gastroliti che verranno immessi nella cavità dello stomaco all'incombere della muta, dove frantumati e disciolti contribuiranno alla calcificazione del nuovo esoscheletro.

Prima di spogliarsi del carapace, il gambero compie dei movimenti atti a liberare l'animale dall'esoscheletro. Inizialmente una prima parte del corpo fuoriesce tra il margine posteriore del cefalotorace ed il primo segmento addominale, poi lentamente si libera il resto del corpo, grazie anche ad una o più forti contrazioni (Fig. 43). Il processo può durare da pochi minuti ad alcune ore e richiede un dispendioso consumo energetico, tanto da lasciare il crostaceo esausto e vulnerabile. Il gambero non può nuotare né fuggire rapidamente prima che siano trascorse almeno 48 ore.



Fig. 43 - Esoscheletro liberato da un gambero di fiume, dopo il processo di ecdisi.

Nello stadio di post-ecdisi, il carapace si indurisce progressivamente grazie al tenore di calcio dell'acqua, assorbito attraverso le branchie: il recupero della durezza del carapace sarà tanto più veloce quanto maggiore è la concentrazione di calcio ambientale. I gamberi giovani o in fase di muta possono essere soggetti a cannibalismo o divenire facili prede, mentre da adulti il gambero non ha molti nemici naturali oltre a pesci a dieta carnivora ed uccelli ittiofagi. Molti soggetti durante la fase di post-ecdisi sono soliti cibarsi della propria esuvia, come ulteriore fonte di calcio, accelerando così l'accrescimento del nuovo esoscheletro.

Durante il periodo di intermuta, quando non vi è né calcificazione, né preparazione alla muta successiva, gli scambi di calcio tra gambero ed ambiente si presentano in equilibrio elettrochimico.

Per i gamberi, inoltre, in occasione della muta è possibile rigenerare appendici mutilate o mancanti: negli animali giovani gli arti rigenerati risultano indistinguibili dagli altri, mentre negli adulti la rigenerazione segue tempi più lunghi e spesso l'arto rigenerato rimane di dimensioni ridotte.

### **Cenni di etologia**

*A. pallipes* complex è un animale solitario con un'attività prevalentemente crepuscolare condizionata, oltre che dalla luce, anche dalla temperatura dell'acqua: è relativamente euritermo, non sopportando temperature superiori ai 23°C, ma tollerando a lungo quelle prossime allo zero.

Nonostante venga considerato territoriale, non è raro individuare popolazioni concentrate su poche decine di metri quadri lungo i corsi d'acqua. L'elevata densità di una popolazione, rilevabile in natura, è imputabile a condizioni ambientali particolarmente propizie (clima, disponibilità di rifugi, cibo, ossigeno, ioni calcio disciolti, ecc...).

Le colonie di gamberi si stabiliscono in un sito in relazione: alla temperatura, all'illuminazione ed alla disponibilità alimentare. Negli stagni, gli spostamenti verso il fondo o verso la superficie seguono frequentemente l'andamento della temperatura. Gli spostamenti possono avvenire nell'ambito dello stesso corso d'acqua da monte a valle e viceversa: le condizioni avverse o l'eccessiva densità di

popolazione sono spesso alla base della migrazione di questi animali, il che ha dato in passato l'illusione del fallimento di alcune opere di ripopolamento.

Il gambero è un animale che di notte si presenta molto attivo, mentre trascorre la maggior parte del giorno nascosto tra tronchi e ceppi sommersi, banchi di macrofite, lettiere di foglie e rami, anfratti rocciosi o in tane da esso stesso scavate lungo le rive dei corsi d'acqua.

La caccia occupa gran parte dell'attività notturna dei gamberi, la quale è attuata strisciando sul fondo dei torrenti con le chele protese in avanti, pronte all'attacco, nell'intento di procacciarsi attivamente le prede. Nell'eventualità esso venga avvicinato, può avere differenti reazioni: fuggire repentinamente, oppure affrontare l'avversario con le chele in posizione d'attacco, comportamento questo tipico dei maschi di tutte le specie di gamberi d'acqua dolce.

I gamberi si nutrono lentamente ma non a lungo, tendendo a spostarsi in altre zone dopo un breve periodo: questo comportamento ha la funzione di evitare la cattura da parte dei predatori (pesci, uccelli acquatici e piccoli mammiferi carnivori).

La specie sembra essere intollerante nei confronti di qualunque forma d'inquinamento delle acque; in caso di alterazione ambientale, il gambero di fiume tende a spostarsi se possibile in un loco più idoneo. Ciononostante, se non ha possibilità di scelta, riesce ad adattarsi alle avversità dell'ambiente nel quale è relegato, pur in condizioni di rischio. Da questo fatto si deduce di conseguenza che la presenza di *A. pallipes* complex in un torrente non è garanzia dell'ottima qualità delle sue acque, così come non è vero il contrario.

In presenza di disagio ambientale particolarmente grave, *A. pallipes* complex è ad ogni modo in grado di uscire dall'acqua (la respirazione branchiale può avvenire anche ad un'atmosfera umida) in cerca di un altro corso idrico vicino. Un'altra reazione a fenomeni d'inquinamento può anche essere l'interramento, comportamento messo in atto anche per difendersi dalle rigide temperature invernali.

## **I.d. Importanza ecologica del gambero di fiume**

Il gambero di fiume *A. pallipes* complex è attualmente a rischio di estinzione e, per questo motivo, esso viene considerato oggetto di tutela. Il motivo di questo depauperamento faunistico è da ricercarsi quasi esclusivamente alla consistente diminuzione degli areali di distribuzione della specie dovuti, per via diretta o indiretta, alle attività antropiche.

Le cause della rarefazione sono molteplici:

- forte suscettibilità ad alcune malattie, siano esse micotiche, batteriche o parassitarie, spesso introdotte con gamberi alloctoni, portatori asintomatici;
- inquinamento ambientale diffuso (fitofarmaci, pesticidi, metalli pesanti, concimi chimici, reflui zootecnici, ecc...);
- predazione ad opera di mammiferi, pesci ed uccelli;
- pesca e bracconaggio;
- alterazione degli habitat (regimazioni idrauliche, captazioni idriche in alveo, sbarramenti, disboscamenti, ecc...).

In Europa, si è cercato di interrompere il declino delle specie indigene di gambero attraverso l'elaborazione di normative volte alla conservazione della loro integrità. In particolare, *Astacus astacus*, *Austropotamobius pallipes* ed *Austropotamobius torrentium* sono stati inseriti sia nell'allegato III della Convenzione di Berna del 1982 (Convenzione per la conservazione della vita selvatica e dei suoi biotopi in Europa) sia nell'allegato V della Direttiva Habitat (Direttiva 92/43/CEE) del 21 maggio 1992, dove sono elencate le specie per le quali si richiede l'adozione di misure di gestione per il loro prelievo e sfruttamento.

*Austropotamobius pallipes* è definita come specie che richiede la designazione di aree speciali di conservazione (allegato II della Direttiva Habitat).

La Direttiva 92/43/CEE è stata recepita in Italia con il DPR 357 del 1997 "Regolamento recante attuazione della Direttiva 92/43/CEE relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali, nonché della flora e della fauna selvatiche".

Nonostante tutto, la legislazione si presenta ancora carente per quanto concerne la prevenzione dei fattori che minacciano le specie indigene, in particolare riguardo l'introduzione di specie alloctone.

Ai fini della reintroduzione è fondamentale la verifica preventiva dell'identità della specie, originariamente presente nell'area, tramite l'analisi dei dati di distribuzione (forniti dalla letteratura) e dell'identità genetica delle popolazioni, appartenenti allo stesso bacino o più prossime geograficamente.

Prima dell'attuazione di un qualsiasi piano di ripopolamento, appare inoltre indispensabile la valutazione delle condizioni dell'habitat acquatico.

Risultano fondamentali, inoltre, i piani di monitoraggio ambientale e le indagini sanitarie sulle popolazioni astacicole, al fine di garantire l'idoneità del sito alla sopravvivenza dei gamberi, per prevenire il diffondersi di malattie ed evitare la futura perdita di soggetti.

#### **I.e. Status ecologico di *Austropotamobius pallipes***

La progressiva rarefazione delle popolazioni di *Austropotamobius pallipes* rappresenta la più grave delle minacce, poiché potrebbe portare alla sua completa estinzione. Eventuali azioni di contrasto nei confronti di tale declino potrebbero essere correttamente programmate solo conoscendo la reale distribuzione della specie sul territorio nazionale o, meglio ancora, all'interno dei siti di tutela, conoscenze attualmente scarse, ma in parte acquisite in alcuni Stati membri dell'Unione Europea. L'eventuale scomparsa di alcune popolazioni costituirebbe per l'intera specie la perdita di una porzione importante, sia in termini quantitativi che in termini biogeografici (cioè in merito alla distribuzione della specie).

L'assenza o la limitata presenza dei gamberi fluviali costituisce una grave mancanza in termini di biodiversità e rappresenta anche una grave perdita per le comunità macrozoobentoniche d'acqua dolce, venendo a mancare un importante anello nella catena trofica dell'ecosistema fluviale (i gamberi sono animali onnivori-detritivori e sono attivi nei processi di degradazione della sostanza organica particellata).

Inoltre, l'ulteriore rarefazione di *Austropotamobius pallipes* potrebbe incidere negativamente sull'immagine di parchi e riserve nazionali, soprattutto sotto il profilo della efficacia delle azioni di conservazione degli habitat, perpetrate nelle aree protette.

D'altronde il progressivo degrado ambientale costituisce un importante fattore di contrasto alla sopravvivenza di questi animali: i corsi d'acqua superficiale sono sempre più afflitti dall'inquinamento delle acque, dalla canalizzazione degli alvei e delle sponde, dalla captazione delle acque e dalla deforestazione. Tali fenomeni si verificano soprattutto sui corsi d'acqua di medio e basso corso, ma non mancano situazioni di pericolo a carico degli habitat rappresentati dai tratti torrentizi dei principali fiumi e dai loro affluenti di montagna. Questi biotopi sono minacciati soprattutto dagli interventi di canalizzazione, spesso condotti senza alcuna considerazione faunistica, e dalle sempre più frequenti richieste di derivazione d'acqua. Quest'ultima minaccia risulta particolarmente subdola, in quanto la generale riduzione delle disponibilità di acque potabili induce numerosi enti, anche quelli che dovrebbero tutelare le risorse ambientali, alla continua ricerca di acque naturali piuttosto che all'implementazione di politiche di riduzione degli sprechi e di aumento dell'efficienza del riutilizzo delle acque.

Le patologie si sono dimostrate anch'esse un elemento focale nella rarefazione delle popolazioni di *A. pallipes* soggette all'attacco di numerosi microrganismi patogeni, quali: Funghi (*Aphanomyces astaci*, *Saprolegnia* spp. e *Fusarium* spp.), Protozoi (*Thelohania contejeani* e *Psorospermium haeckeli*), Batteri (*Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas putrida*) e virus.

Gli effetti dei suddetti microrganismi si manifestano a vari livelli, spesso intaccando la funzionalità di organi e sistemi biologici, ma anche riducendo il potenziale riproduttivo della specie distruggendo le uova ed il novellame. Tutti gli organismi citati sono pericolosi agenti patogeni nei confronti di *A. pallipes*. In particolare, il fungo *Aphanomyces astaci*, che ha contaminato le acque d'Europa a causa dell'importazione di gamberi americani *Pacifastacus leniusculus*, *Orconectes limosus*, *Procambarus clarkii*, ha decimato le popolazioni locali a partire dall'inizio del secolo scorso (v. Cap. II.b).

Nonostante la forte rarefazione della specie, la pressione di pesca è ancora presente tutt'oggi. Anche nelle Regioni dove *A. pallipes* è protetto da specifiche norme, la pesca viene comunque effettuata illegalmente, mettendo a rischio le poche popolazioni rimaste. In particolare, nelle aree protette, specie nei periodi di massima affluenza turistica, si registrano episodi di bracconaggio, nonostante i controlli effettuati dagli enti preposti. La pesca diviene molto dannosa soprattutto

quando vengono raccolti soggetti giovanili o, peggio ancora, femmine ovigere. Nel primo caso, questa pratica incide negativamente sul reclutamento, ovvero sull'accrescimento degli individui più giovani, che riduce o impedisce il rinnovamento delle popolazioni naturali.

Nel secondo caso, vengono distrutte le uova e, quindi, vengono meno i presupposti per la nascita delle nuove generazioni. In entrambi i casi, la pesca indiscriminata produce un effetto immediato di invecchiamento delle popolazioni che, nel tempo, perdono le loro naturali capacità di rigenerazione.

Non a caso, infatti, i più gravi danni correlati alla pesca derivano dalla scarsa conoscenza biologica della specie, frequente fra turisti e bracconieri.

L'introduzione di gamberi alloctoni ha ulteriormente aggravato la sopravvivenza dei gamberi indigeni, che risultano profondamente danneggiati dalla continua competizione con le specie esotiche.

A partire dal 1860 è stata avviata l'introduzione nelle acque europee di specie alloctone di gamberi più interessanti sotto il profilo zootecnico rispetto a quelle autoctone: *Orconectes limosus* (Fig. 44), *Pacifastacus leniusculus* (Fig. 46), *Astacus leptodactylus* (Fig. 47) e *Procambarus clarkii* (Fig. 48).

Queste specie hanno, a loro volta, introdotto molti degli agenti patogeni precedentemente elencati, che hanno in seguito decimato le popolazioni locali, prive di difese specifiche nei loro confronti.

La diminuzione delle popolazioni locali ha ulteriormente incoraggiato l'introduzione di gamberi esotici, che in molti casi hanno stabilmente soppiantato le specie autoctone, in particolare negli ambienti fluviali a lento decorso e nei laghi.

*Austropotamobius pallipes* non è in grado di ricolonizzare gli ambienti ove vivono gamberi esotici, sia perché questi sono vettori di malattie, sia perché le popolazioni esotiche sono in grado di adattarsi ai più disparati ecosistemi acquatici, risultando maggiormente competitive.

## **Il gambero americano *Orconectes limosus***

*Orconectes limosus* o gambero americano (Fig. 44), possiede chele dalle dimensioni ridotte, lunghezza del corpo simile a quella di *Austropotamobius pallipes* e strisce trasversali di colore rosso sulla parte posteriore dell'addome. Questa specie è caratterizzata da prominenti spine ai lati del carapace (dalle quali deriva il nome comune anglosassone *spiny-cheek crayfish*), un unico lungo paio di creste post-orbitali con spina apicale ed un rostro dalla forma particolarmente acuminata con margini lisci.

Originaria del nord America, questa specie è stata introdotta in Europa a partire dal 1890 e da allora, si è diffusa fino a diventare la specie di più frequente riscontro in Europa centrale: è, infatti, una specie molto prolifica, aggressiva e poco esigente nei confronti della qualità dell'acqua.

L'habitat ideale del gambero americano è rappresentato dai corsi d'acqua con poca corrente ed acque stagnanti, che presentino un substrato fangoso o sabbioso nel quale sia possibile scavare buche.

*O. limosus* riesce anche a tollerare lunghi periodi di emersione (persino alcune settimane) ed un moderato livello di salinità dell'acqua.

Grave risulta la competizione tra *Orconectes limosus* e *Austropotamobius pallipes*, soprattutto negli ambienti lacustri italiani. Con l'invasione dei laghi: Garda, Iseo, Varese, Caldonazzo, Levico, ecc... si è assistito alla repentina scomparsa delle specie indigene (Zanini, 1999; Confortini & Natali, 1995).



Gambero americano - *Orconectes limosus*



CHELE



Fig. 44 - Caratteristiche morfologiche del gambero americano, *Orconectes limosus*.

## Il gambero della California *Pacifastacus leniusculus*

*Pacifastacus leniusculus* o gambero della California (Fig. 46) presenta una colorazione marrone ed è facilmente riconoscibile dall'articolazione delle chele, di colore bianco-bluastro. La lunghezza del maschio può arrivare fino a 16 cm, dall'apice del rostro al telson, mentre le femmine non superano in genere i 12 cm. Le chele sono grandi e larghe nel maschio e possono effettuare ampi movimenti dorsali anche verso la parte posteriore del corpo (Fig. 45).



Fig. 45 - Esemplare di *Pacifastacus leniusculus*.

Questa specie presenta: due paia di creste post-orbitali (la coppia craniale presenta una spina apicale mentre quella caudale ha dimensioni inferiori) ed un rostro con apice appuntito ed un paio di spine subapicali.

In età giovanile, *P. leniusculus* può essere confuso con *Astacus astacus* e con *Austropotamobius pallipes*, ma in realtà si distingue da entrambi, per la mancanza

di spine sul dorso del carapace e per la conformazione liscia associata ad una colorazione dorsale bianco-bluastro delle sue chele, che presentano singole macchie bianco-giallastre sul margine dorsale.

Questa specie colonizza corsi d'acqua e laghi dal fondale melmoso e ricco di vegetazione, è attiva sia di giorno sia di notte e predilige una temperatura dell'acqua compresa tra i 20 e i 25°C.

*Pacifastacus leniusculus* importato in Europa dal nord America durante gli anni '60 e '70 è stato sconsideratamente diffuso in Svezia. Da dove è stato introdotto in laghi e corsi d'acqua del nord e centro Europa, nei Paesi dell'Europa orientale, Regno Unito, Spagna, Francia, Austria e Germania, arrivando così fino in Italia (Machino, 1997; Capurro *et al.*, 2007).

È una specie molto tollerante nei confronti delle avversità ambientali, in particolare alle acque salmastre ed alle variazioni termiche, mentre non sopravvive in acque a basso tenore di ossigeno e ad un pH inferiore a 6 (Southy-Grosset, *et al.*, 2006). A seguito di ricerche di laboratorio, il gambero della California ha dimostrato una maggior tolleranza ad incrementi di temperatura ambientale ed un tasso di crescita superiore, rispetto ad *A. pallipes* ed *Astacus leptodactylus*.

Il gambero della California costituisce un vettore di afanomicosi ed è considerato come specie invasiva dal rapido accrescimento, diretta competitorice della fauna autoctona. Inoltre, con la sua attività di scavo danneggia strutturalmente argini di fiumi e rive lacustri.

Gambero della California - *Pacifastacus leniusculus*



Fig. 46 - Caratteristiche morfologiche del gambero della California, *Pacifastacus leniusculus*.

### **Gambero turco o della Galizia *Astacus leptodactylus***

*Astacus leptodactylus*, detto anche gambero dalla zampe sottili (Fig. 47), può raggiungere una taglia da 15 a 20 cm. Questa specie presenta un carapace ovoidale più o meno allungato, coperto di spine e tubercoli, ma di fragile consistenza.

Il rostro dalla forma appuntita e prominente porta un paio di spine sub-apicali ben evidenti. La forma delle chele è stretta ed allungata ed il margine interno si presenta liscio.

*A. leptodactylus* proviene dai fiumi che sfociano nel Mar Caspio e nel Mar Nero. La sua introduzione in Italia centrale, così come per il resto d'Europa, risale all'inizio del secolo scorso, probabilmente allo scopo di ripopolare alcuni corsi d'acqua. La sua diffusione nel nostro Paese si può considerare fallita.

La maturità sessuale viene raggiunta dopo il secondo o al massimo terzo anno di vita: è una specie ad alta fecondità ed ha un tasso di crescita abbastanza veloce.

A differenza delle specie indigene, *Astacus leptodactylus* non necessita di acque di buona qualità, vive per lo più in stagni e laghi e tollera bassi tenori di ossigeno, alti livelli di solidi sospesi, acque salmastre, sbalzi termici e temperature superiori ai 21°C (Southy-Grosset, *et al.*, 2006).

*Astacus leptodactylus* è considerato specie invasiva e si insedia formando dense colonie. A causa della sua numerosità e dell'alta fecondità compete con facilità nei confronti dei gamberi autoctoni.

Gambero turco - *Astacus leptodactylus*



Fig. 47 - Caratteristiche morfologiche del gambero turco, *Astacus leptodactylus*.

## **Il gambero rosso della Louisiana *Procambarus clarkii***

Il gambero della Louisiana, *Procambarus clarkii* (Fig. 48), proviene dagli Stati meridionali del nord America, ad esclusione dell'Australia è stato diffuso in tutti i continenti. In Europa è attualmente rinvenibile in Spagna, Francia, Germania ed Italia.

Il carapace ha una colorazione rossa con granulazione chiara e scura in contrasto, il corpo si presenta robusto con carapace granuloso e recante un paio di denti post-orbitali. Il rostro è piuttosto breve, triangolare, depresso, con margini laterali divergenti sui quali sono presenti un paio di denti. Le chele sono ben sviluppate e recano evidenti spine rosse, con margine interno alquanto irregolare ed estremità uncinata. Queste chele presentano la parte distale della branca inferiore in grado di combaciare con la corrispondente sezione della branca superiore, realizzando una superficie tagliente paragonabile ad un paio di tronchesi. Questa caratteristica distingue nettamente il gambero rosso e gli fornisce un ottimo strumento per la predazione.

Contrariamente alle altre specie di gambero, la femmina è generalmente più grande del maschio, il quale presenta però chele di maggiori dimensioni e più robuste; mediamente la lunghezza del corpo si aggira sui 7-11 cm, corrispondente ad un peso di circa 100 g.

Questa specie predilige le acque stagnanti a lento corso e paludi, acquitrini e stagni soggetti ad essiccazione estiva; si può rinvenire in risaie, laghi e stagni costieri salmastri. Il gambero rosso è in grado di sopravvivere all'essiccamento del suo habitat scavando profonde tane nel letto dei canali, rifugi dove trova l'umidità necessaria a mantenerlo in vita fino alla successiva stagione umida.

È in grado, inoltre, di tollerare temperature piuttosto elevate e concentrazioni relativamente modeste di ossigeno disciolto. È molto tollerante all'inquinamento ambientale.

Gambero rosso della Louisiana - *Procambarus clarkii*

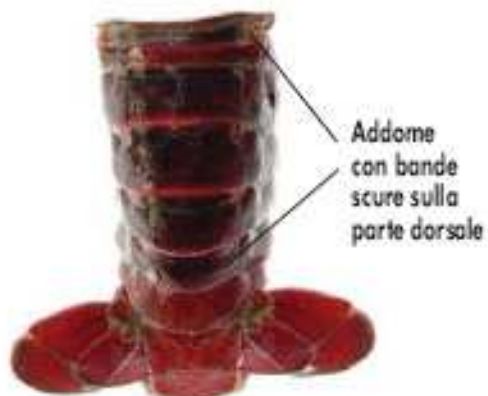
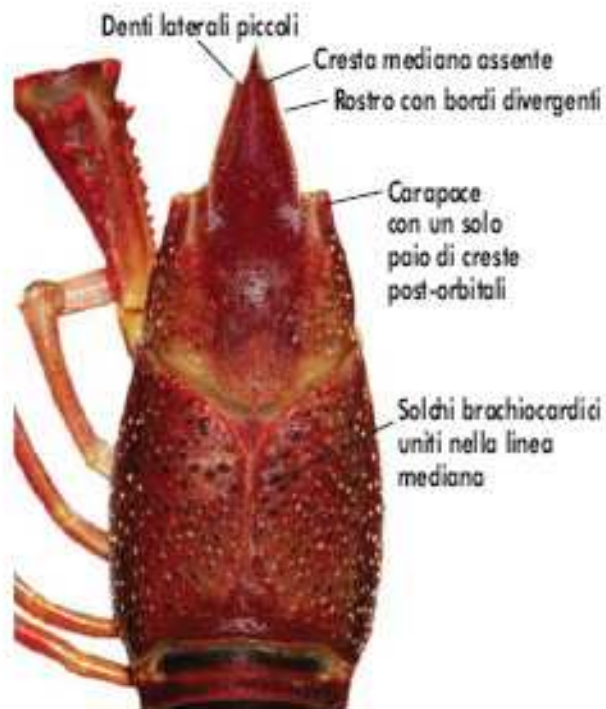


Fig. 48 - Caratteristiche morfologiche del gambero della Louisiana, *Procambarus clarkii*.



*Procambarus clarkii* è onnivoro, nutrendosi di vegetali, di anellidi, larve di insetti, anfibi e pesci. Il sovraffollamento, provocato dalla elevata capacità riproduttiva tipica della specie, comporta frequentemente una forte competizione alimentare che può innescare fenomeni di cannibalismo ed aumentare la tendenza predatoria della specie verso anfibi e pesci.

Il ciclo riproduttivo si ripete 2-3 volte l'anno nelle regioni tropicali ed 1-2 volte nelle zone subtropicali. Ogni femmina può portare fino a 700 uova per ogni ciclo riproduttivo. L'incubazione delle uova può durare, a seconda della temperatura ambientale, da 20 giorni a 3 mesi. La maturità sessuale viene raggiunta in natura in 3-5 mesi, ma in allevamento anche in soli 2 mesi.

Gli individui adulti, vengono attivamente predati soltanto da pesci di grandi dimensioni (Fig. 49a, 49b, 49c) o da uccelli acquatici.



Fig. 49a - Esemplare di pesce siluro catturato in natura che presenta un gambero di fiume nella cavità orale.

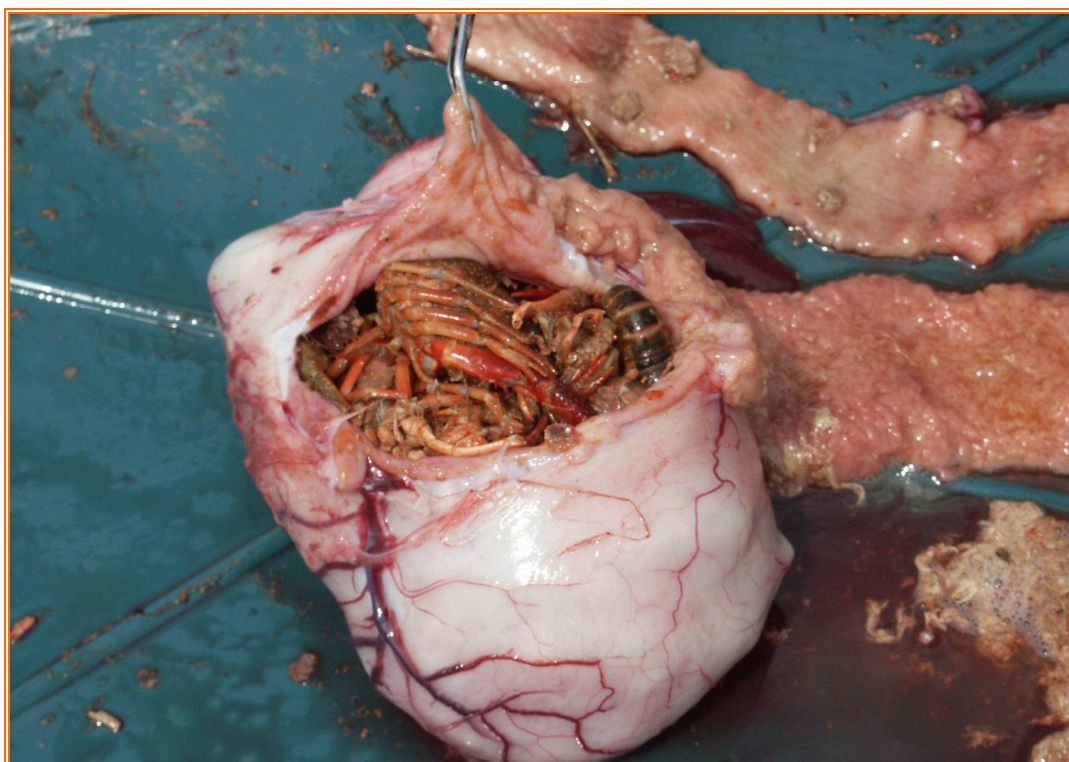


Fig. 49b - Operazione di apertura di uno stomaco di pesce siluro.



Fig. 49c - Contenuto stomacale, composto quasi nella sua interezza da esemplari di *P. clarkii*, in un esemplare di pesce siluro.

*P. clarkii* da oltre 20 anni è presente nel territorio nazionale: inizialmente introdotto a scopo alimentare in alcuni allevamenti del nord e del centro Italia, per la fuga, o la deliberata immissione, ha invaso le acque libere di alcune regioni, causando perciò gravissimi problemi ecologici.

Attualmente, la specie si è diffusa ed acclimatata in molte zone del bacino del fiume Po, dell'Adige, dell'Arno e del Tevere.

La resistenza alle malattie, il rapido ritmo di accrescimento e l'elevata fecondità fanno di questa specie il gambero di acqua dolce più allevato e pescato al mondo. Purtroppo la sua facilità d'allevamento ne fa anche una specie ad alta potenzialità infestante (Fig. 50). Per la sua abitudine a scavare lunghe tane, provoca gravi problemi strutturali alle sponde degli argini dei fiumi che colonizza.

In alcuni contesti si è tentato anche di sfruttare la sovrappopolazione del gambero rosso a scopo commerciale, ma attualmente mancano normative a riguardo.



Fig. 50 - Gamberi della Louisiana catturati in un canale della Pianura Padana.

**VISIONE DORSALE**



**Gambero di fiume**  
*Austropotamobius pallipes*



**Gambero di fiume europeo**  
*Astacus astacus*



**Gambero turco**  
*Astacus leptodactylus*



**Gambero rosso della Louisiana**  
*Procambarus clarkii*



**Gambero americano**  
*Orconectes limosus*



**Gambero della California**  
*Pacifastacus leniusculus*

Fig. 51 - Confronto dorsale tra i gamberi di fiume frequentemente riscontrabili.

## I ROSTRI



**Gambero di fiume**  
*Austropotamobius pallipes*



**Gambero di fiume europeo**  
*Astacus astacus*



**Gambero turco**  
*Astacus leptodactylus*



**Gambero rosso della Louisiana**  
*Procambarus clarkii*



**Gambero americano**  
*Orconectes limosus*



**Gambero della California**  
*Pacifastacus leniusculus*

Fig. 52 - Confronto dorsale dei rostri tra i gamberi di fiume frequentemente riscontrabili.

## LE CHELE



**Gambero di fiume**  
*Austropotamobius pallipes*



**Gambero di fiume europeo**  
*Astacus astacus*



**Gambero turco**  
*Astacus leptodactylus*



**Gambero rosso della Louisiana**  
*Procambarus clarkii*



**Gambero americano**  
*Orconectes limosus*



**Gambero della California**  
*Pacifastacus leniusculus*

Fig. 53 - Confronto tra chele dei gamberi di fiume frequentemente riscontrabili.

## **I.f. Allevamento dei gamberi**

In passato, i gamberi erano assai abbondanti nelle acque italiane e la loro qualità gastronomica li rendeva particolarmente apprezzati.

Oggi questi crostacei si sono molto rarefatti: è possibile riscontrarli solamente in pochi corsi d'acqua e quasi sempre in quantità modeste.

Le cause di questa situazione sono molteplici, ma tra tutte spiccano le epidemie, soprattutto quella comunemente nota come “peste del gambero” causata dal fungo *Aphanomyces astaci*, a partire dagli anni 1876-80 pressoché in tutti i Paesi europei. A queste, non meno importanti, sono da aggiungere uno sforzo di pesca eccessivo (fino all'entrata in vigore del divieto di prelievo), il bracconaggio ed i fenomeni d'inquinamento delle acque.

La riduzione degli Astacidi ha indotto diversi Stati a promuovere ricerche e studi sulle specie suscettibili di allevamento e sulle metodiche dell'allevamento stesso, sia per il ripopolamento dei corsi d'acqua naturali, sia per le produzioni da avviare al mercato per il diretto consumo. L'allevamento dei gamberi d'acqua dolce ha avuto origine a partire dalla metà del 1800 in Europa, con particolare concentrazione in Francia, Svezia e Germania, dove sono stati realizzati i primi allevamenti all'interno di canali artificiali.

In base alle conoscenze odierne, si possono attuare quattro tipologie di allevamento: estensivo, semi-intensivo, integrato ed infine intensivo.

### **Allevamento estensivo**

Per l'allevamento estensivo o naturale si utilizzano ampi spazi acquei, naturalmente ricchi di gamberi, dalle caratteristiche chimico-fisiche ed alimentari ottimali (Fig. 54). Non si interviene né sulla riproduzione né sull'alimentazione, ma solamente con un'adeguata protezione del patrimonio naturale (ad esempio il controllo dei predatori) ed una raccolta calcolata.

L'allevamento estensivo, infatti, si basa praticamente sull'utilizzo delle risorse trofiche degli ecosistemi confinati da parte degli animali allevati.

È tuttora il metodo di allevamento più diffuso a livello mondiale (soprattutto in Paesi come Stati Uniti, Turchia, Svezia e Spagna), poiché è quello che consente di ottenere le maggiori produzioni: i gamberi vengono seminati in vasti bacini idrici

(laghi, bracci morti dei fiumi, cave allagate, stagni naturali, risaie, lagune, acquitrini e paludi alluvionali) con una densità ridotta, di circa 1-2 individui/m<sup>2</sup> mantenendo un rapporto ideale tra maschi e femmine di 2:3.

Questi valori indicativi possono variare a seconda della qualità dell'acqua e della capacità dell'ambiente di fornire il nutrimento necessario alla popolazione.

Nelle condizioni climatiche dell'Europa occidentale, a titolo di esempio, si può ipotizzare che stagni con densità di 10000-15000 gamberi per ettaro, forniscano mediamente 100-120 kg/ha di pescato annuo.



Fig. 54 - Allevamento estensivo naturale.

#### Allevamento semi-intensivo

È un allevamento possibile, ad esempio, nei corsi d'acqua o deviazioni di corsi d'acqua corrente (Fig. 55).

L'alimentazione è garantita soprattutto da vegetali acquatici e dalla microfauna che si sviluppa naturalmente o che il corso apporta (eventualmente vengono fertilizzati i letti dei corsi idrici); saltuariamente può essere fornita un'alimentazione di tipo artificiale.





Fig. 55 - Allevamento semi-intensivo.

### Allevamento integrato

Questa tipologia di allevamento viene normalmente praticata in impianti di acquacoltura in cui le principali specie allevate sono di solito carpe o trote. È possibile incrementare le rese economiche dell'azienda ingrassando sino alla taglia commerciale giovani gamberi prodotti partendo da femmine ovigere o da stadi giovanili degli stessi, in vasche o laghetti inutilizzati o scarsamente produttivi. Per l'alimentazione vengono utilizzati scarti di allevamento (mangimi e pesci morti) oppure vegetali freschi.

Questo tipo di allevamento non ha dato in passato i risultati sperati per l'eccessiva competizione tra le specie e per i metodi di cattura che interferiscono con le diverse produzioni.

### Allevamento intensivo

L'allevamento intensivo si basa sulla messa a punto di tecnologie capaci di far superare i limiti produttivi legati alle sole risorse ambientali, consentendo di ottenere produzioni elevate e programmate (Fig. 56a, 56b). L'intervento umano è

importante e riguarda in particolare l'alimentazione artificiale, la selezione, il confinamento, la schiusa e l'allevamento dei gamberi giovani.

Al fine di una buona riuscita dell'allevamento è necessario tutelarsi in particolar modo da: predatori naturali, inquinamento, ambienti acquatici poco idonei ed organismi patogeni.



Fig. 56a - Allevamento intensivo.



Fig. 56b - Vasche utilizzate per l'allevamento intensivo.

In generale per alimentare stagni o bacini destinati all'astacicoltura è sufficiente disporre di acqua limpida, in quantità di circa un litro/minuto per metro cubo.

I bacini si possono distinguere in bacini di schiusa e svezzamento, e bacini di accrescimento o ingrasso. Questi ultimi a loro volta si dividono in naturali ed artificiali: per i primi (corsi d'acqua, stagni, laghi) si considera superficie utile quella in cui l'acqua non supera il metro e mezzo di profondità, mentre nei secondi sono consigliabili: un dimensionamento in profondità di 0,5 m ed in larghezza di 3 m, sponde verticali che impediscano la fuga e fondo ciottoloso fornito di rifugi e mangiatoie; infine, il tutto deve poter essere ombreggiato con apposite coperture.

Nelle vasche si possono immettere da 5 a 20 soggetti di seconda estate, oppure adulti (intendendo soggetti riproduttori) per metro quadro disponibile. Data l'elevata densità dei soggetti allevati, si deve curare in particolar modo la presenza di un numero sufficiente di rifugi individuali, costituiti da tegole, mattoni forati o loro frammenti, pezzi di tubi in PVC di vario diametro, al fine di evitare fenomeni di cannibalismo.

L'alimentazione si basa sulla somministrazione razionata di mangime commerciale pellettato, per le varie fasi di vita dei gamberi, integrata con vegetali freschi, come carote e patate, finemente sminuzzati.

L'allevamento intensivo può essere dotato di incubatoi per la riproduzione e la schiusa delle uova: l'incubazione artificiale fornisce rese superiori all'incubazione naturale, anche se uno dei principali problemi rimane lo sviluppo di funghi patogeni (Perez *et al.*, 1999). La struttura degli incubatoi può essere molto simile a quella in uso per l'allevamento degli avannotti di salmonidi, utilizzando anche vasche di tipo californiano (Fig. 57).

Le vasche di schiusa e svezzamento, di forma rettangolare e larghe al massimo due metri, vanno collocate sotto copertura (capannoni, serre, ecc...) per ombreggiare e mantenere costante la temperatura dell'acqua. Il ricambio dell'acqua deve avvenire entro 24 ore, se necessario si interviene con ossigenatori o aeratori, oppure pompe atte allo scopo.

I riproduttori possono provenire dall'ambiente naturale, per diminuire i costi di stabulazione, inoltre in condizioni particolari le femmine prelevate in natura e mantenute in cattività possono divenire ovigere in percentuale maggiore di quelle della stessa popolazione allo stato selvatico (Taugbol & Skurdal, 1998).



Fig. 57 - Vasche di tipo californiano.

Le femmine prossime all'emissione delle uova possono essere stabulate all'interno di "gabbie parto" di rete zincata e provviste di coperchio anti-fuga, sollevate dal fondo della vasca. Anche in questo caso, le vasche devono essere dotate di un adeguato numero di ricoveri per i gamberi e di una mangiatoia.

Le dimensioni ottimali delle maglie della rete si aggirano sui  $4 \text{ mm}^2$ , con un filo di 1 mm di diametro per consentire il passaggio dei piccoli gamberi, una volta avvenuto il completo distacco dalla madre, ma allo stesso tempo permettere alla femmina adulta una corretta deambulazione sul fondo della gabbia. Ottenuta la schiusa delle uova, le gabbie parto con le femmine vengono rimosse.

In queste stesse vasche, i giovani gamberi iniziano ad alimentarsi e trascorrono la stagione autunnale ed invernale fino all'estate successiva, per infine passare ai bacini di ingrasso.

L'alimentazione sarà in parte naturale, a base di diatomee e zooplancton, e in parte o del tutto artificiale. In linea di massima sono possibili:

- un'alimentazione semi-integrativa di quella naturale: somministrazione di un grammo di mangime alla settimana per soggetto;
- un'alimentazione integrativa di quella naturale: 3% del peso vivo al giorno;
- un'alimentazione totalmente artificiale: 5% del peso vivo somministrato quotidianamente, ma la quantità di alimento varia soprattutto in funzione della temperatura.

## II. Le micosi del gambero

### II.a. Cenni sul sistema immunitario dei crostacei

I crostacei possiedono un sistema difensivo molto primitivo, simile a quello degli insetti e non manifestano memoria immunitaria (produzione anticorpale), e reagiscono nei confronti di un patogeno unicamente mediante risposte di tipo aspecifico, attraverso una risposta immunitaria naturale innata (Tab. 2).

<b>Barriere fisico-chimiche</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- esoscheletro esterno</li><li>- melanizzazione</li><li>- inibitori della proteinasi</li><li>- inibitori della chitinasi</li></ul>
<b>Cellulare</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- fagocitosi</li><li>- incapsulazione</li><li>- citotossicità</li></ul>
<b>Umorale</b> (alcuni componenti possono avere origine emocitaria)	<ul style="list-style-type: none"><li>- sistema attivante la profenolossidasi</li><li>- peptidi antibatterici</li><li>- peptidi antimicotici</li><li>- agglutinine</li><li>- inibitori della proteinasi.</li></ul>

Tab. 2 - Sistema immunitario a disposizione del gambero di fiume.

Questi animali presentano organi ematopoietici nella regione epigastrica ed emociti di tipo ialino, semigranulare e granulare, con produzione di sostanze antimicrobiche.

Le reazioni immunitarie sono:

- fagocitosi, ad opera di emociti ialini nei confronti di patogeni di piccole dimensioni (batteri), è la difesa cellulare più comune.
- opsonizzazione ed utilizzo di peptidi antimicrobici e antimicotici (peneidine), prodotti da parte di emociti granulari. Migrazione di emociti nel sito di infezione con un locale e massivo rilascio di peptidi, comparsa

in circolo e nei tessuti di emociti che producono peneidine. Le peneidine presentano sia attività contro i batteri Gram<sup>+</sup>, sia antimicotica.

- formazione di noduli (Fig. 58), con presenza di melanina. Quando colonie di microrganismi non possono venir contrastate con fagocitosi, i patogeni sono aggrediti con strati di emociti, i noduli vengono melaninizzati.
- incapsulazione (Fig. 59), processo che porta alla formazione di una sorta di granuloma. Si manifesta quando l'area occupata dai patogeni è vasta, intervengono così emociti di vario genere per isolarla.

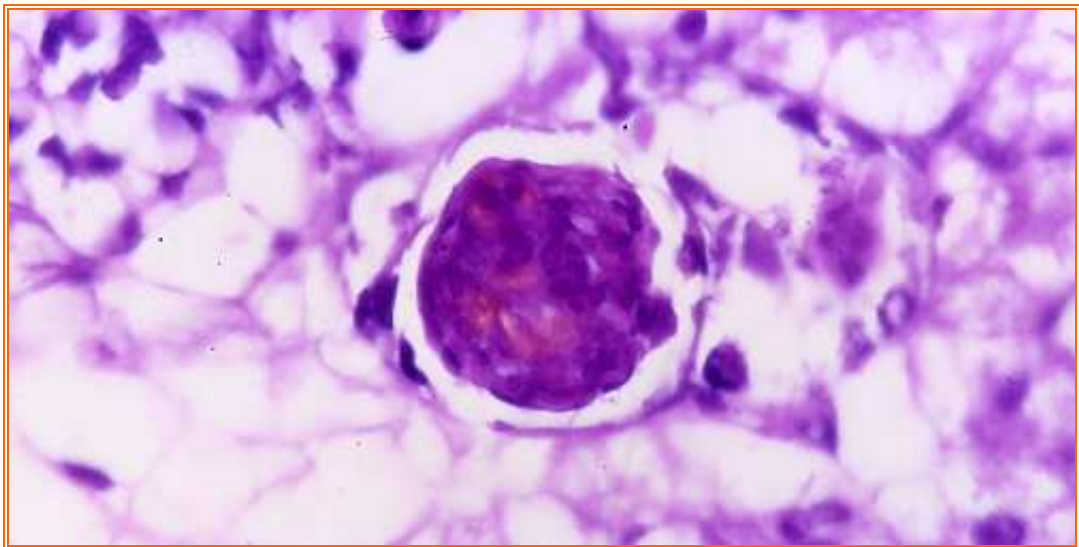


Fig. 58 - Nodulo nell'intestino di gambero con enterite batterica (E. & E.).

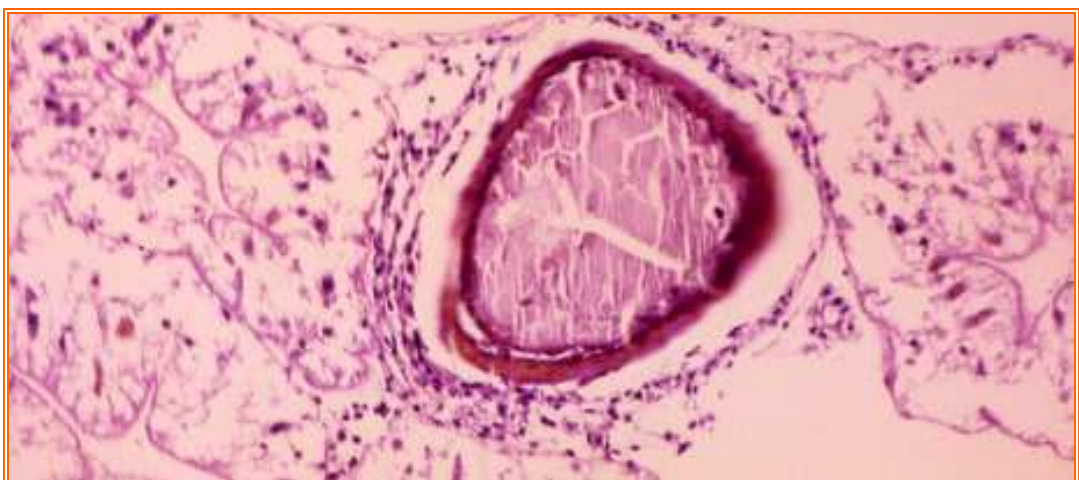


Fig. 59 - Epatopancreas di gambero della Louisiana affetto da enterite batterica con incapsulazione (E. & E.).

- citotossicità, fenomeno che sembra essere presente nei crostacei.
- lectine: azione agglutinante, legano specifici carboidrati, possono agglutinare microrganismi e fungere da opsonine.
- sistema attivante la profenolossidasi (Fig. 60): sistema a cascata che comporta la distruzione di batteri e funghi. Molecole recettrici (lectine di tipo C, proteine che legano il glucano e proteine che legano i lipopolisaccaridi) captano acido lipoteicoico, peptidoglicano, lipopolisaccaridi,  $\beta$ -1,3-glucano. Si attiva una proteinasi sierica che innesca il sistema a cascata, attivando la profenolossidasi. Questa catalizza l'ossidazione del fenolo a chinone e la polimerizzazione non enzimatica dei chinoni intermedi in melanina. Durante la degranulazione degli emociti viene rilasciata peroxinectina che stimola la fagocitosi, l'incapsulazione e la degranulazione, svolge anche attività perossidasi.

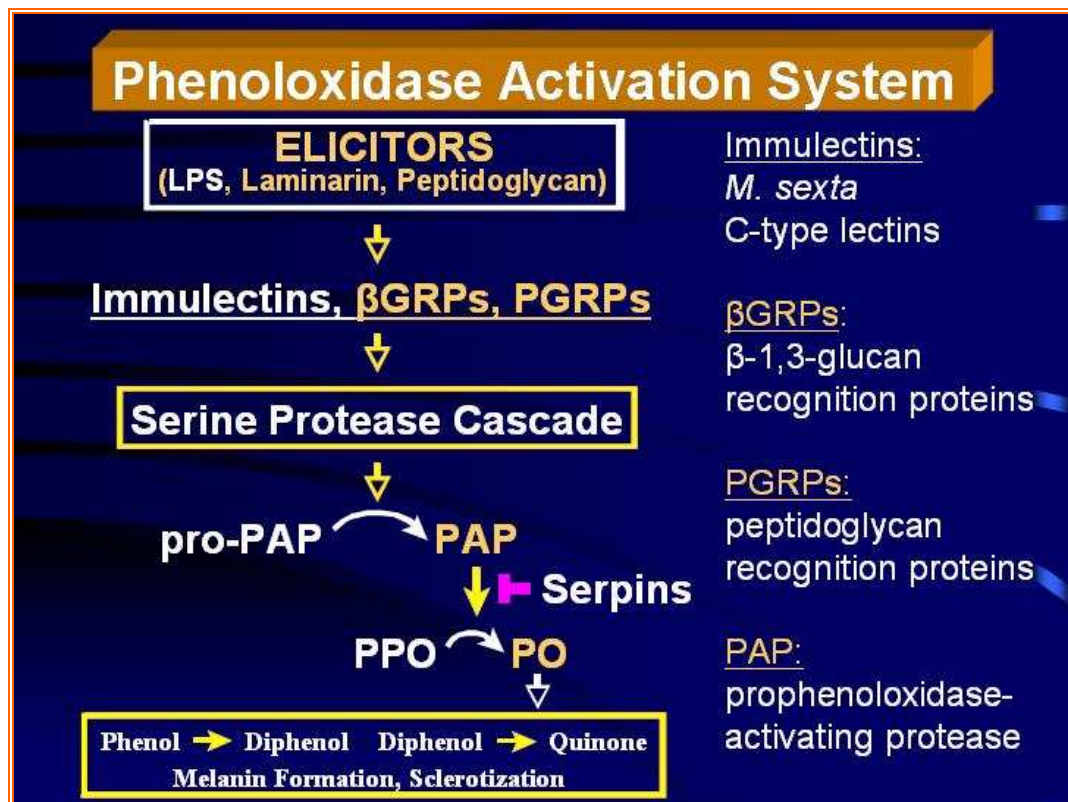


Fig. 60 - Rappresentazione schematica del sistema attivante la profenolossidasi.

- reazione di coagulazione (Fig. 61): sistema a cascata che coinvolge due proteine, una lipoproteina prodotta nell'epatopancreas che trova nell'emolinfa, e la transglutaminasi-sintetasi prodotta negli emociti e rilasciata nel plasma.

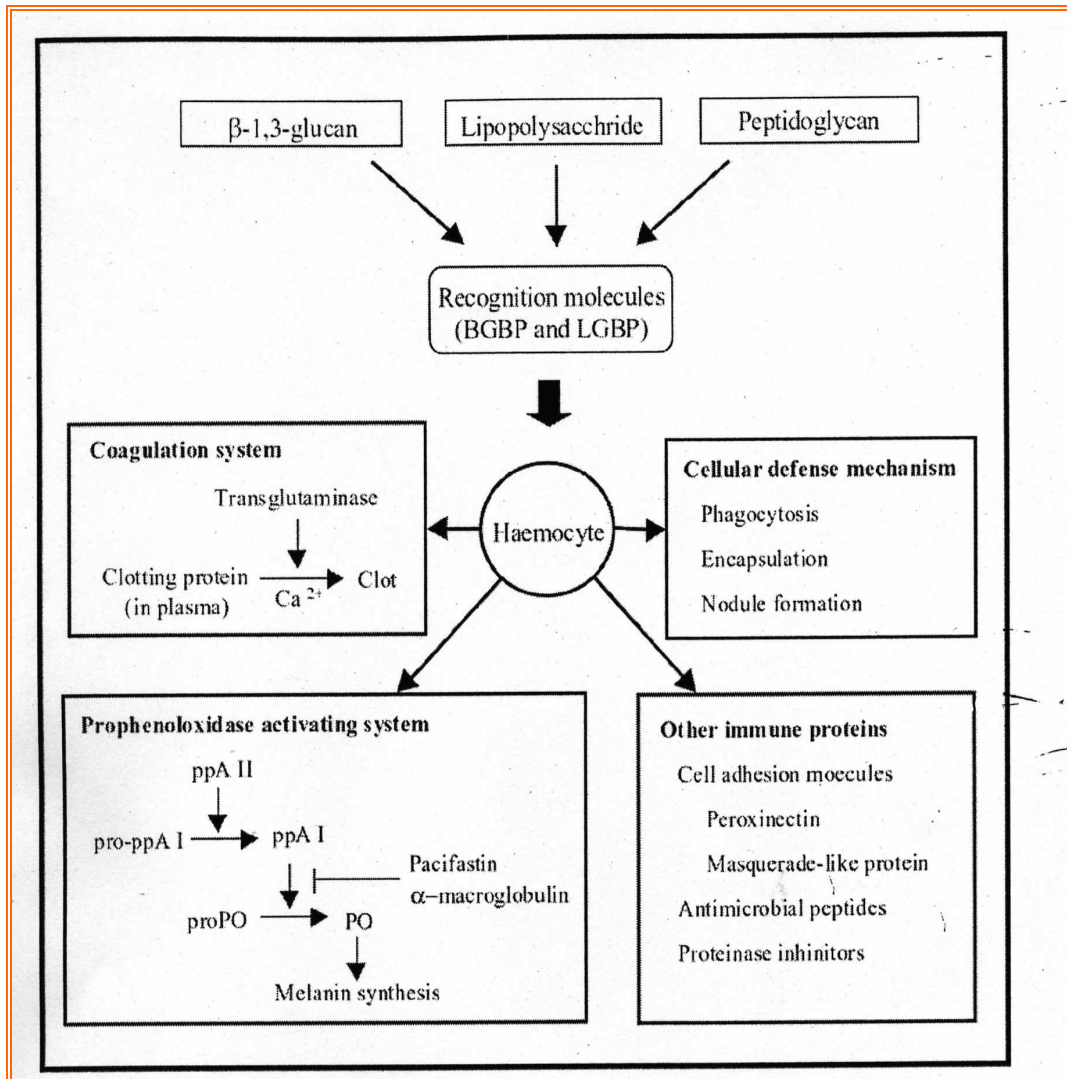


Fig. 61 - Rappresentazione schematica del processo di coagulazione.

## **II.b. Principali micosi dei gamberi di fiume**

L'importanza delle parassitosi malattie fungine negli animali, rispetto a quelle di altri organismi patogeni, può essere valutato in base a svariati punti di vista: economico, numerico, ecologico, ...

Le scarse conoscenze rendono, spesso, difficili paragoni in questo senso.



Dalla letteratura recente di Medicina Umana e Veterinaria si evince che i funghi svolgono un ruolo quantitativamente secondario rispetto alle patologie di origine batterica. La stessa constatazione si può riflettere nei pesci.

Nel trattato di Scaperclaus (1954), sulle patologie ittiche, nel confronto tra batteriosi e micosi, quest'ultime giocano un ruolo del tutto secondario.

Tuttavia, la situazione risulta completamente capovolta per quanto concerne gli invertebrati, acquatici e non.

I funghi, negli insetti, risultano seri patogeni come i batteri (Steinhaus, 1963); così come in numerosi altri gruppi di invertebrati, tra i quali i crostacei (Johnson, 1968; Johnson & Chapman, 1969).

Utilizzando il sistema sopraccitato di comparazione, tra patologie provocate da patogeni diversi, si può affermare che: mentre i batteri rivestono un ruolo preponderante nei vertebrati, nei crostacei, come per gli altri invertebrati, i miceti risultano essere i parassiti maggiormente dannosi.

Le diversità tra ambiente acquatico e terrestre sembrano essere del tutto influenti nel condizionare la patogenicità dei vari organismi.

I vertebrati sembrano aver evoluto, rispetto agli altri animali, una risposta immunitaria più efficiente nei confronti delle micosi. Infatti, la produzione di immunoglobuline risulta essere un sistema di difesa molto efficace nei confronti delle micosi (Smith *et al.*, 1966; Grey, 1969). Anche se questa non è l'unica difesa immunitaria a protezione dei vertebrati rispetto ai miceti.

Tra funghi e batteri esistono delle oggettive differenze fisiologiche, alle quali consegue un diverso tipo di resistenza. La capacità di penetrare meccanicamente, di rispondere chemiotropicamente e la trasmissione di materiale intracellulare per lunghe distanze sono alcune delle caratteristiche precipue delle ife.

Mentre la composizione chimica della parete cellulare batterica risulta essere molto diversa rispetto a quella dei miceti.

La maggior parte dei funghi parassiti dei crostacei appartengono alle muffe d'acqua e sono per lo più oomiceti. Sono rappresentati anche ascomiceti e funghi imperfetti, ma non basidiomiceti.

Attualmente gli oomiceti non vengono più considerati appartenenti al regno funghi, ma come protisti eterotrofi, strettamente affini alle alghe, poiché la loro parete non è costituita da chitina ma il componente preponderante è la cellulosa.

Vengono, perciò, considerati come degli pseudofunghi appartenenti al Regno Chromista, al Phylum degli Oomycota e alla Classe degli Oomycetes (Tab. 3).

<b>Caratteristiche</b>	<b>Oomiceti</b>	<b>Funghi</b>
<b>Riproduzione sessuale</b>	Eterogametangi. Fecondazione di oosfere con nuclei provenienti dagli anteridi, che vanno a formare le oospore.	Non vengono prodotte oospore; la riproduzione sessuale porta allo stadio di zigospore, ascospore e basidiospore.
<b>Ploidia nucleare del micelio vegetativo</b>	Diploidi.	Aploide o dicariotici.
<b>Composizione della parete cellulare</b>	$\beta$ -glucani, cellulosa.	Chitina, cellulosa (raramente presente).
<b>Flagelli delle zoospore, se prodotte</b>	Eteroconti, un flagello flessibile diretto posteriormente, l'altro fibroso, ciliato diretto anteriormente.	Quando sono presenti, generalmente dispongono di un solo flagello flessibile, orientato posteriormente.
<b>Mitocondri</b>	Con creste tubulari.	Con creste appiattite.

Tab. 3 - Tratti di distinzione più evidenti tra oomiceti e gli altri funghi.

Questi pseudofunghi presentano un micelio con ife non settate, caratterizzati da riproduzione asessuata e dalla presenza di zoospore biflagellate.

La riproduzione sessuata avviene attraverso fusione di due strutture, un oogonio (femminile) ed un anteridio (maschile). L'anteridio invia circa dieci nuclei all'interno dell'oogonio, e da questi per cariogamia, dai nuclei presenti, si ha la formazione di nuovi nuclei che costituiranno il corredo dell'oospore sessuata. Spesso l'oospore è destinata a dare origine alla prima infezione, germinando e dando origine a uno sporangio con all'interno zoospore, che una volta infettato il crostaceo reinnestano il ciclo asessuato.

La difficoltà principale nella diagnosi dei parassiti oomiceti dei crostacei acquatici, specialmente quelli più longevi, consiste nel fatto che molti funghi saprofiti prosperano sulla superficie dell'ospite, particolarmente in corrispondenza di ferite, rendendo difficile l'isolamento.

## Note storiche sulla comparsa delle micosi dei gamberi

I reperti storico-bibliografici, in merito alla comparsa di patologie nei crostacei, sono molto numerosi (Fig. 62).

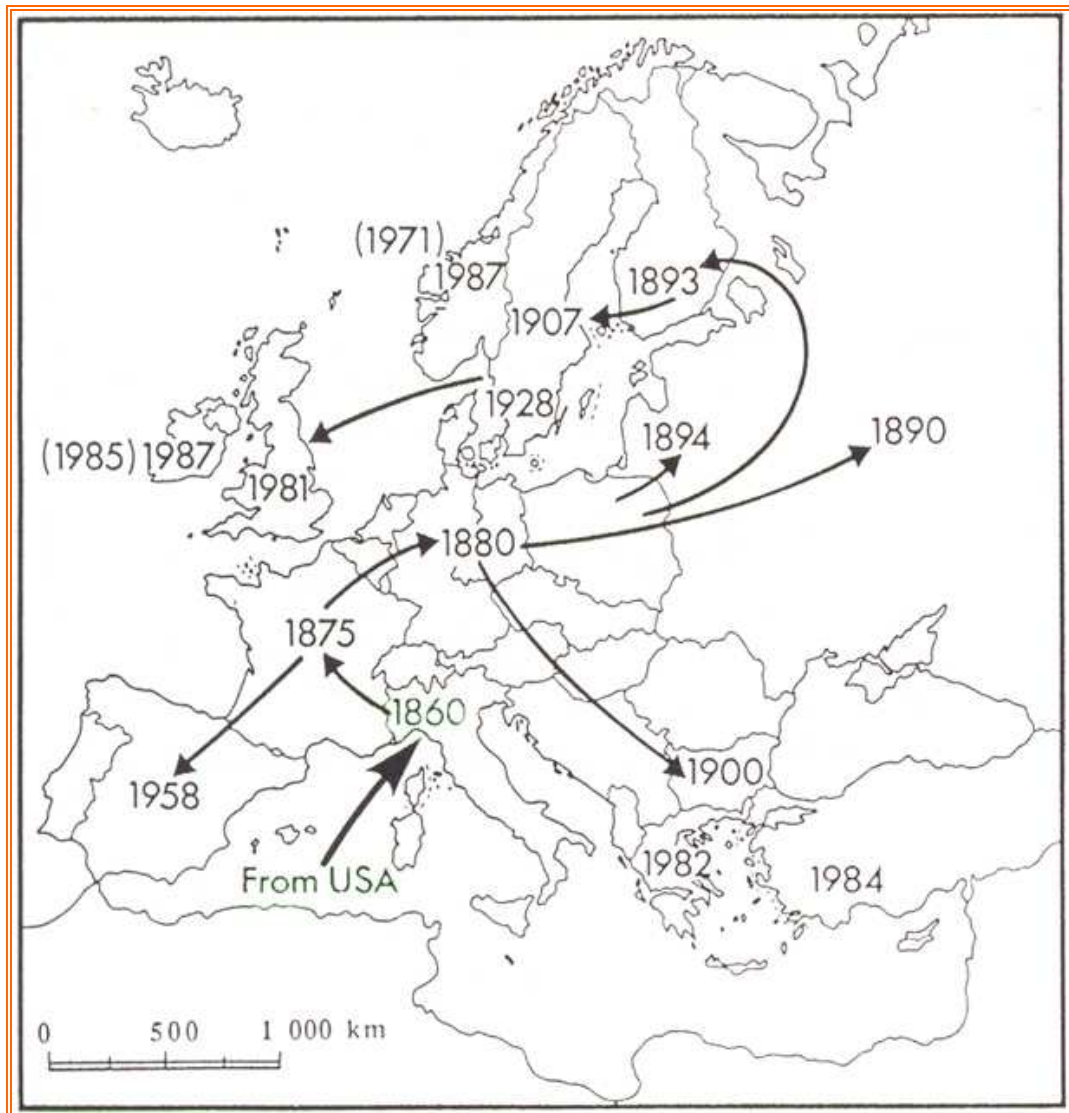


Fig. 62 - Diffusione della peste del gambero d'acqua dolce.

La popolazione astacicola era consistente ed ampiamente diffusa fino al 1859, anno in cui fece la sua prima comparsa la “peste dei gamberi” nel nord Italia, provocata dall'oomicete *Aphanomyces astaci* (Cornalia, 1860; Ninni, 1865).

Il primo reperto bibliografico, in ordine cronologico, risulta essere l'adunanza del 28 Novembre 1860 sulla malattia dei gamberi, riportata negli “Atti della società italiana di scienze naturali” del Prof. Emilio Cornalia. Il suo studio si riferisce alla

massiccia moria di gamberi di fiume che si verificò in Lombardia, soprattutto nelle province di Milano e Brescia.

L'autore descrive l'insorgenza della malattia nell'estate del 1859, illustrando la gravità del fenomeno e confermando la massiccia distribuzione di gamberi di fiume nel nord Italia.

Nel testo del prof. Cornalia viene descritta, benché in modo approssimativo, la sintomatologia che presentavano le popolazioni di gambero colpite (Fig. 63):

- punteggiature giallastre che tendono a virare al rosso, dilatandosi fino ad arrossare completamente l'intero corpo del gambero;
- letargia e zampe intorpidite che si staccano con facilità;
- disorganizzazione e profonda alterazione delle uova nelle femmine ovigere.



Fig. 63 - Storica rappresentazione grafica della moria di gamberi in seguito a peste.

In un altro reperto storico, “Memorie dell’Accademia d’Agricoltura e Commercio ed Arti di Verona”, è presente una “Nota sulla malattia dei gamberi che ammorbò le acque del veronese nell’anno 1861” che venne letta all’Accademia dell’Agricoltura, Arti e Commercio nella giornata del 4 Luglio 1861 dal socio attivo Pietropaolo Martinati.

Il documento storico inizia riportando una frase di un pescatore del lago di Garda in risposta ad una richiesta di gamberi per motivi di studio da parte del Dott. Martinati:

*« Se v’aspettate che un gambero vi porti  
Voi l’aspettate invan, son tutti morti. ».*

Frase che ben rappresenta lo stato di vasta diffusione e patogenicità dell’agente eziologico in esame nel testo storico.

Il Dott. Martinati proprio dubitando della veridicità della frase del pescatore, iniziò una ricerca sull’eventuale decesso dei gamberi di fiume, imbattendosi nel testo precedentemente documentato del Prof. Cornalia. Così iniziò a studiare il fenomeno che ormai si era esteso anche alla provincia di Verona.

Il testo è ricco di descrizioni prettamente pittoresche, ma vengono anche indicati numerosi dati di valenza storica che permettono una miglior descrizione per quanto concerne la diffusione della patologia.

L’autore basandosi sulle indagini pervenute all’epoca della stesura del testo, reperendo dati con particolare dovizia da numerose aree geografiche, deduce che la malattia diffuse dalla Lombardia al Veneto verso la fine del 1860.

Il Dott. Martinati accenna anche a segni patognomici della malattia, ritenuta al tempo ancora misteriosa, ed evidenzia una linearità tra le sue osservazioni e quelle risalenti all’anno precedente indicate nel testo del Prof. Cornalia.

Nel 1865 in una nota del Prof. Andrea Pericle Ninni, docente della facoltà di Modena, “Sulla mortalità dei gamberi nel Veneto e più particolarmente nella provincia trevigiana, accompagnata da esemplari di gamberi ammalati e sani”, si ha conferma del percorso di diffusione della malattia, in perfetta sintonia con gli altri testi esaminati, avvalorandoli ulteriormente.

Il testo fornisce interessanti notizie sulla diffusione della patologia all'interno della marca trevigiana, dove viene descritta in modo dettagliato, datando la prima comparsa nel 1864 a partire dalle sorgenti del fiume Sile.

Mediante la stesura di questo reperto bibliografico si infoltiscono le osservazioni sul comportamento dei gamberi ed i riscontri anatomico-patologici.

Dal punto di vista comportamentale, l'autore narra di un'azione del patogeno che interessa principalmente gli organi respiratori e che spinge l'animale colpito ad allontanarsi dal corpo idrico arrampicandosi sulle sponde dei ruscelli. Dopo poco tempo, il soggetto risulta evidentemente indebolito, le zampe si intorpidiscono e tendono a divaricare le une dalle altre. L'evolvere della malattia è fulmineo, il gambero infettato viene a morte rapidamente.

### *Aphanomyces astaci*

#### Ciclo biologico

*Aphanomyces astaci* è un oomicete che causa malattia e mortalità in molte specie di gamberi d'acqua dolce (Fig. 64).

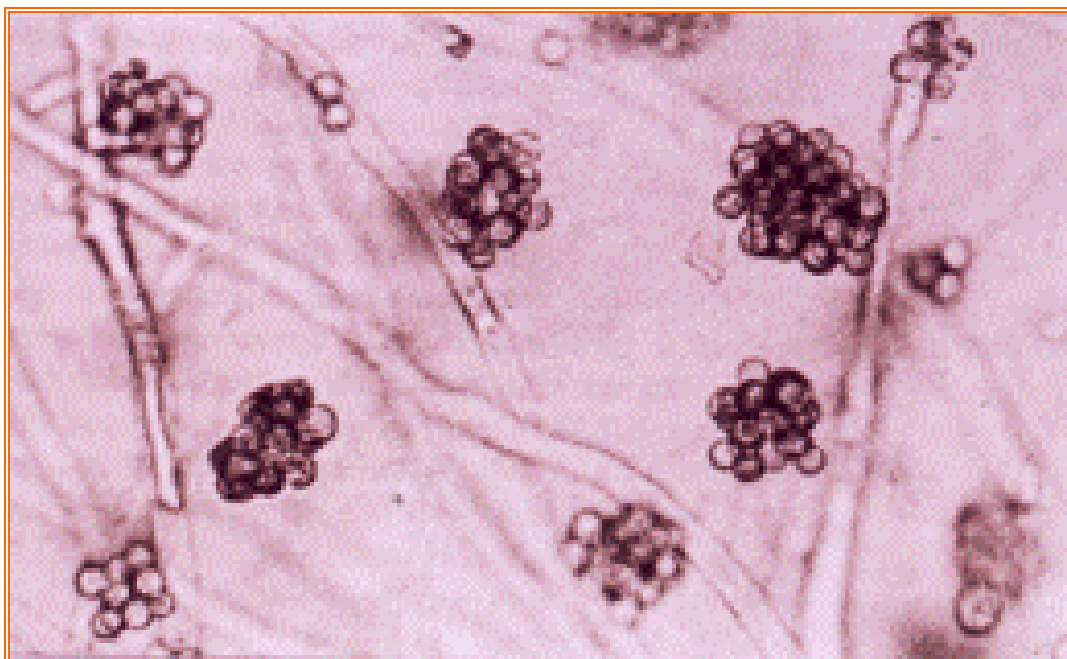


Fig. 64 - Osservazione microscopica di *Aphanomyces astaci*.

Esso forma miceli leggermente ramificati, la cui dimensione delle ife, che contengono un protoplasma altamente granulare, è variabile, mediamente 4-8  $\mu\text{m}$ . Zoosporangi sviluppano su ife extramatriciali che sviluppano verso l'esterno della superficie dell'esoscheletro.

Lo zoosporangio (Fig. 65) si accresce con la formazione di filamenti per moltiplicazione asessuata, e si distingue dalle ife perché quest'ultime non sono settate, trasparenti e con estremità tondeggianti.

Queste producono aplanospore (primarie) non mobili con un diametro di 8,1-9,5  $\mu\text{m}$  e si rinvencono organizzate in fila all'interno del filamento dello sporangio. Dopo poche ore le aplanospore si esistono come zoospore mobili biflagellate (forme secondarie) tipicamente reniformi.

Queste spore possono rimanere mobili per diversi giorni ed hanno la capacità di ripetere fasi di incitamento ed esistamento (Fig. 66).

Le cisti di *Aphanomyces astaci* non sono dei veri e propri stadi di resistenza, infatti la sopravvivenza delle forme cistiche varia da uno a due giorni.

Gli zoosporangi emettono un elevato numero di zoospore primarie quando i gamberi infetti sono moribondi o poco dopo il decesso dell'ospite (batteri e funghi opportunisti, sovrastano *A. astaci* non rendendolo rinvenibile già dopo 24 ore *post-mortem*).

Le spore del fungo responsabile della peste non sopravvivono nell'acqua per lunghi periodi in assenza dell'ospite.

Il tempo di sopravvivenza normalmente è in dipendenza del ceppo e della temperatura ambientale.

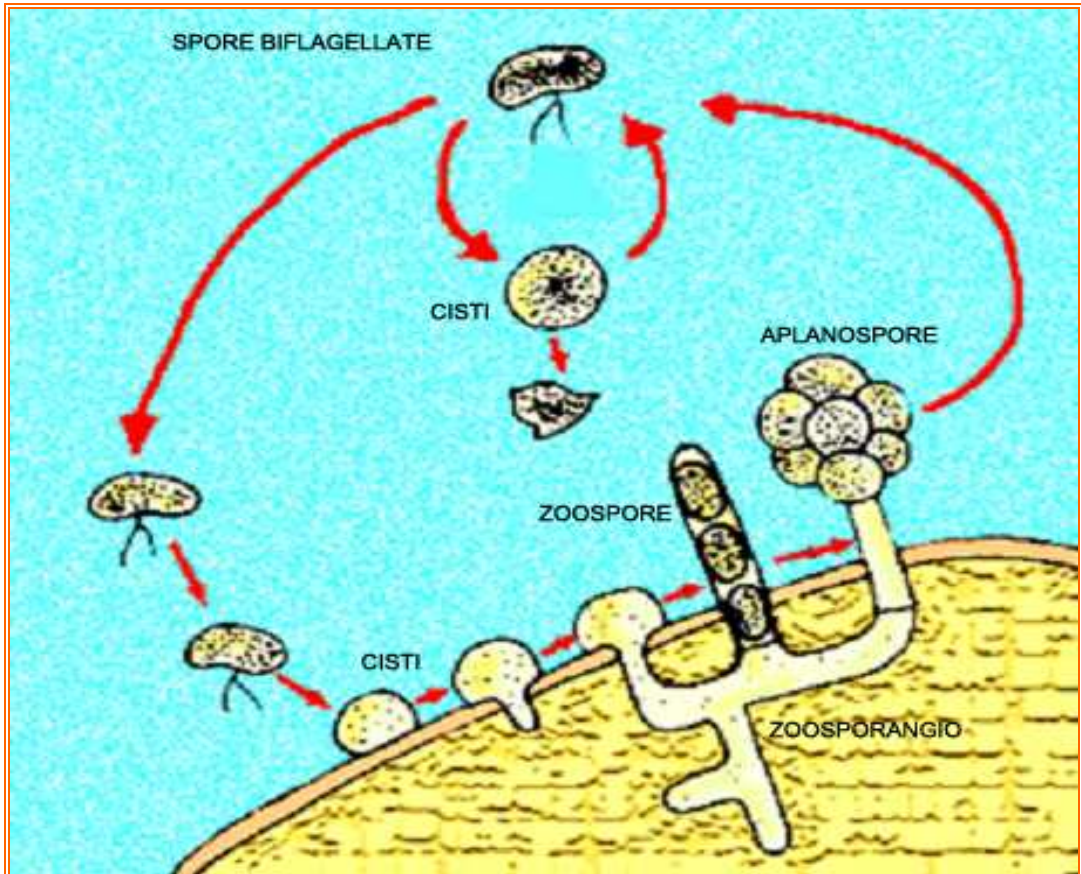


Fig. 65 - Rappresentazione grafica del ciclo vitale di *Aphanomyces astaci*.

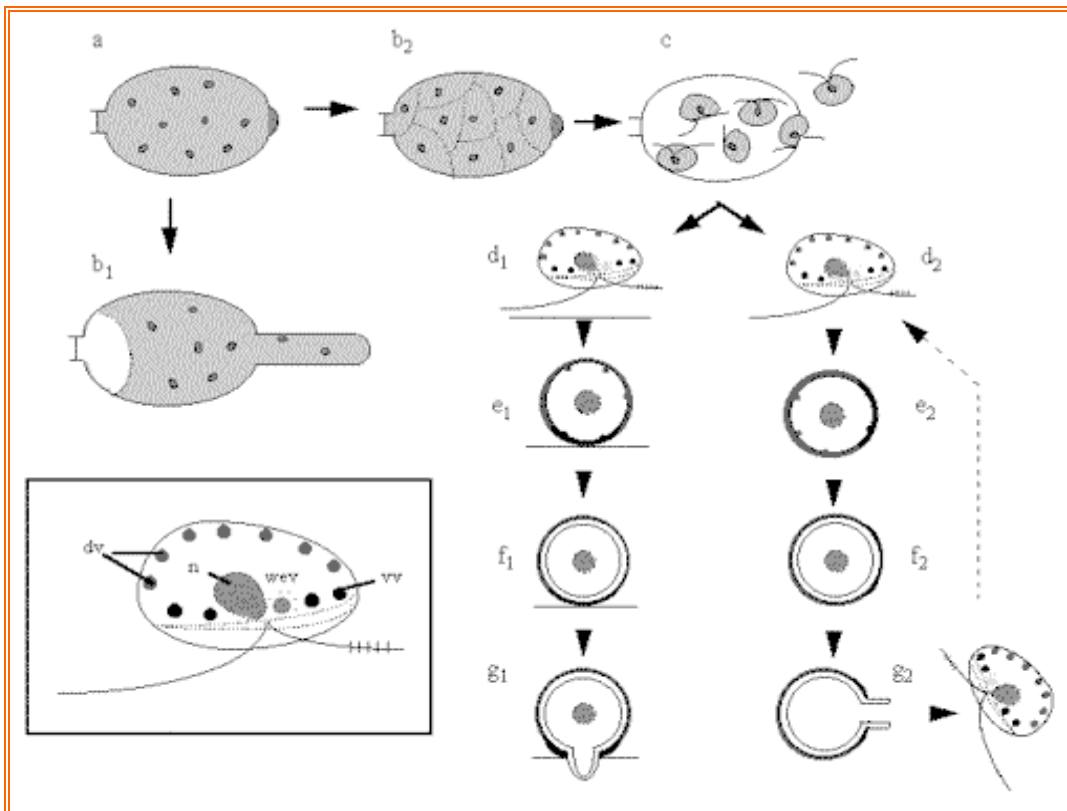


Fig. 66 - Ciclo biologico di *Aphanomyces astaci*.



Le zoospore vengono attratte chemiotatticamente sui gamberi e spesso si collocano nei pressi di lacerazioni della cuticola, dove si incistano (Fig. 67).

Se il sito prescelto non risulta idoneo all'incistamento, possono tentare nuovamente la ricerca di una zona più idonea della cuticola. La zona di giunzione tra due segmenti addominali è il sito più opportuno per la germinazione del fungo incistato.

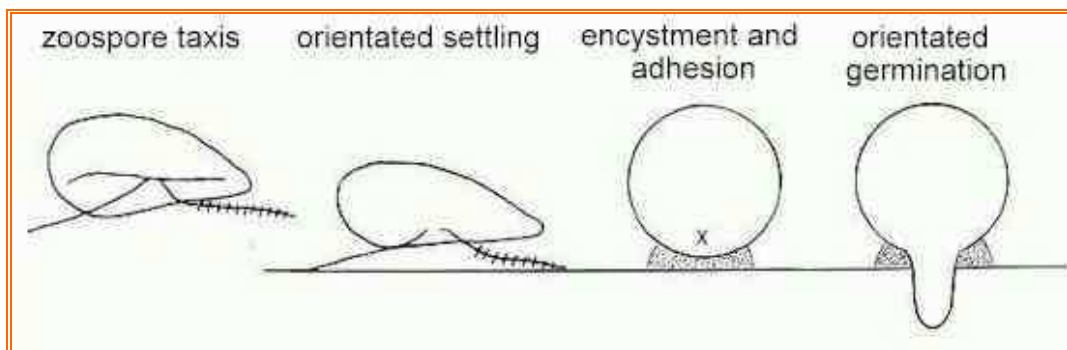


Fig. 67 - Le zoospore vengono attratte chemiotatticamente sull'esoscheletro del gambero, aderiscono con il loro flagello e si incistano nella cuticola ove germinano.

La germinazione procede grazie alla secrezione di enzimi lipolitici che penetrano attraverso lo strato lipidico della cuticola.

Si genera un tubo germinativo di penetrazione e le ife con attività proteasica e chitinasica cominciano a svilupparsi, progredendo parallelamente alle fibrille chitinose all'interno della cuticola (Fig. 68).

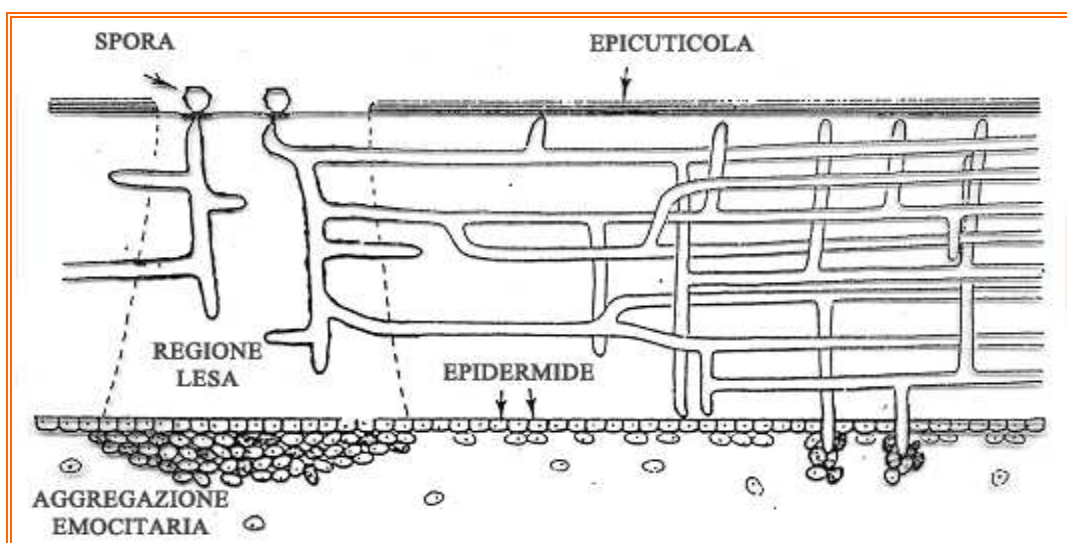


Fig. 68 - Infezione dell'esoscheletro da parte di *Aphanomyces astaci*.

## Patologia ed epidemiologia

Il micete è patogeno per tutte le specie europee e determina una mortalità del 100% nei soggetti infetti di *Austropotamobius pallipes* complex, *Astacus astacus* ed *Astacus leptodactylus*.

*Aphanomyces astaci* è un parassita obbligato e diretto dei gamberi d'acqua dolce, è stato segnalato anche nel granchio cinese, *Eriocheir sinensis*, specie esotica ed invasiva presente in molte regioni europee.

È stato riportato che il fungo può crescere in scaglie di pesce d'acqua dolce isolate (Fig. 69).

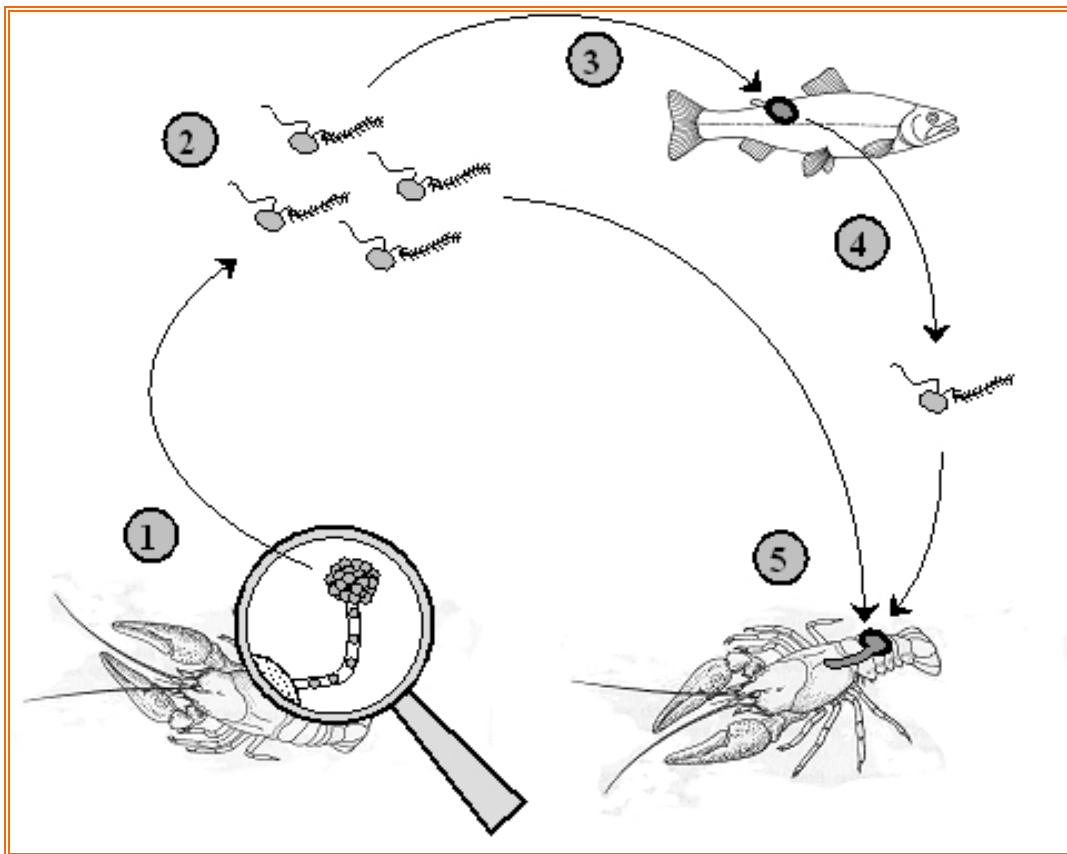


Fig. 69 - Ciclo dell'afanomicosi.

*Aphanomyces astaci* è particolarmente patogeno solo nel range dei gamberi europei, i gamberi americani come *Procambarus clarkii*, *Orconectes limosus* e *Pacifastacus leniusculus* sono molto resistenti nei confronti dell'afanomicosi e soccombono esclusivamente per infezioni acute in esemplari stressati. In queste specie sembra si instauri un rapporto di convivenza ospite-parassita, che invece

non avviene nelle specie d'origine europea. Proprio questa relazione tra *A. astaci* ed i gamberi americani, rende quest'ultimi vettori ideali della malattia nei confronti di altri gamberi presenti nello stesso corpo idrico.

Il decesso dei gamberi si manifesta in genere una o due settimane a seguito del contatto con il fungo, ciononostante possono sopravvivere anche per tempi più lunghi, fino a cinque settimane. La malattia evolve in tempi più rapidi in presenza di alte temperature. È da tempo sospettato che l'introduzione di *A. astaci* in Europa sia dovuta all'importazione di specie nord-americane portatrici del fungo parassita. Tale ipotesi è stata avallata da un'analisi RAPD-PCR (*Random Application of Polymorphic DNA - Polymerase Chain Reaction*) su ceppi di *A. astaci* che ha dimostrato l'alta probabilità che il fungo sia stato introdotto dai gamberi di fiume nord-americani (Huang *et al.*, 1994; Dièguez-Uribeondo *et al.*, 1995).

L'Italia è l'unico paese europeo in cui la malattia non è stata più segnalata dal 1900 in poi. L'agente eziologico della peste è stato identificato nel 1903 in Germania (Schikora, 1903). L'unico isolamento di *A. astaci*, con relativa segnalazione, in Italia è stata effettuata nell'area a sud del Po in gambero rosso della Louisiana (Galuppi *et al.*, 2002).

Clinicamente i gamberi che vengono infettati da *A. astaci* appaiono apatici, se prelevati dall'acqua lasciano penzolare le chele ed il carapace diventa molle e delicato, di colore nettamente più pallido rispetto al gambero sano.

In seguito ad afanomicosi vengono frequentemente persi arti o parti di essi. La mortalità sopravviene per paralisi, ed i soggetti morti si presentano in posizione capovolta (Fig. 70).

I segni clinici della peste del gambero dipendono dalla correlazione tra intensità dell'infezione e la temperatura alla quale l'infezione ha luogo.

Se sono presenti un gran numero di zoospore, la morte è rapida e gli animali manifestano alterazioni come lo sbiadimento dei muscoli caudali.

Se la dose infettante è bassa, l'infezione procede molto lentamente e generalmente si manifesta con un imbrunimento (melanizzazione) dell'esoscheletro.

Questa infezione di tipo cronico può provocare lesioni focali evidenti in cui ife incapsulate e melanizzate, possono essere osservate nei punti meno rigidi dell'esoscheletro.



Fig. 70 - Esemplici di *Astacus leptodactylus* affetti da peste del gambero. La mortalità avviene per paralisi, i soggetti morti si presentano in posizione capovolta.

Negli ospiti recettivi si manifestano:

- riduzione della motilità;
- perdita della coordinazione motoria e paralisi di probabile origine neurotossica (Unestam & Weiss, 1970);
- assenza di fuga nel periodo finale dell'infezione; gli animali sono visibili alla luce del giorno, muovendosi con andamento instabile, scoordinato e con il corpo incurvato.

Durante il decorso della malattia sono visibili poche lesioni, mentre dopo il decesso possono essere visibili alcuni miceli.

Nelle specie resistenti, come *Pacifastacus leniusculus*, si evidenziano aree brune per presenza di melanina e possono essere visibili ife su cefalotorace, zampe, chela ed addome (Fig. 71).

Nei gamberi sensibili ad afanomicosi il muscolo infettato appare biancastro, in contrasto con il grigio madreperlaceo del muscolo sano, a volte possono anche presentarsi delle aree brunastre dovute al fenomeno della melanizzazione.

Esami microscopici a fresco, ed istologici, permettono l'osservazione del patogeno nello strato chitinoso o nei muscoli. Per quanto concerne la trasmissione della micosi, non sono noti ospiti intermedi o secondari, anche se uccelli ed altri animali acquatici vengono considerati come portatori, fonti di trasmissione di zoospore.

I gamberi infetti del nord America, che presentano lesioni melaniche, ricoprono il ruolo di reservoir dell'infezione diffondendo la malattia alle specie sensibili.

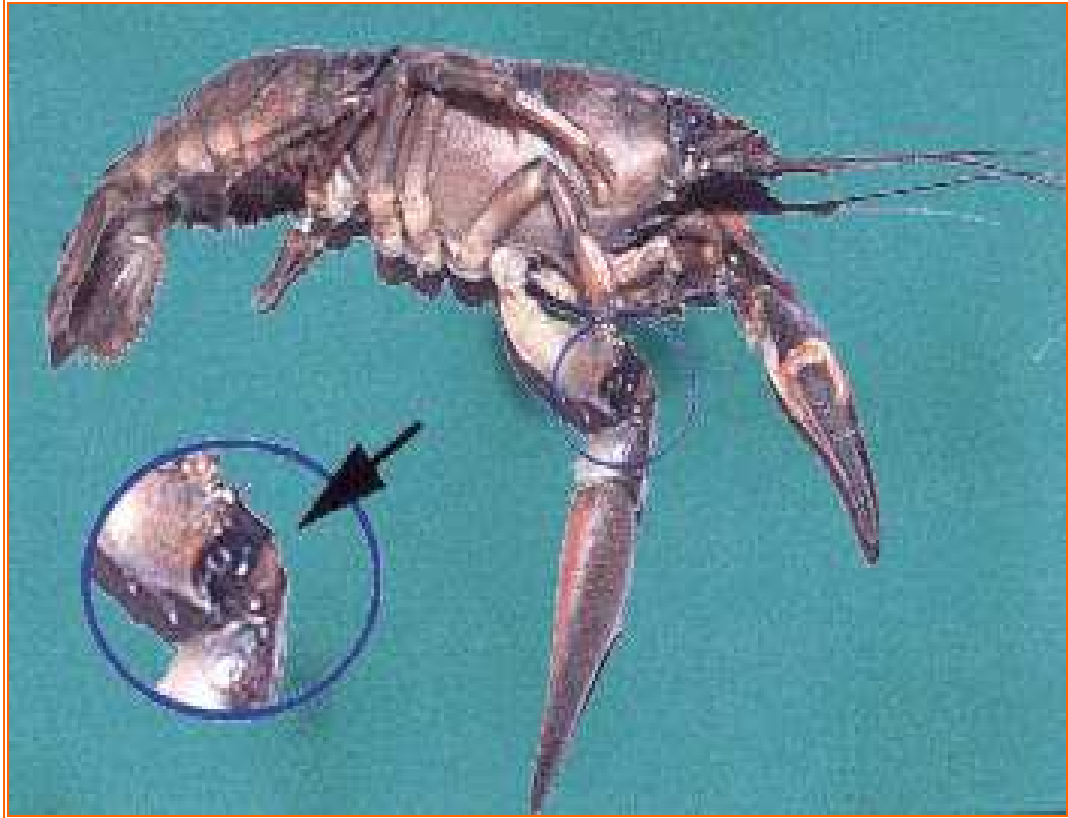


Fig. 71 - Esemplare di *P. leniusculus*, con presenza di aree brune per formazione di melanina; le ife possono essere visibili su cefalotorace, zampe, chele e addome.

A seguito dello scoppio della malattia in una popolazione esposta, le zoospore si propagano rapidamente verso valle del torrente, mentre la diffusione verso monte è molto più lenta ed è dovuta esclusivamente al movimento dei gamberi.

In questo caso, dighe o tratti privi d'acqua o ancora, aree inadatte ad ospitare il crostaceo impediscono ulteriormente il diffondere della malattia verso la sorgente idrica.

### Diagnosi

Porzioni di carapace di addome, arti, e dorso vengono prelevate mediante strumenti sterili e seminate direttamente o previa immersione in alcool 70° e successivo lavaggio con soluzione fisiologica.

Come terreno di coltura viene utilizzato River water Glucose Yeast Extract Agar (RGY) con aggiunta di penicillina (4 unità/ml) o acido ossolinico (10mg/l) in piastre sterili contenenti acqua distillata, penicillina e semi di canapa sterili per favorire la sporulazione degli oomiceti mediante incubazione a 25°C per 7 giorni con verifiche giornaliere.

### Terapia e profilassi

L'unico metodo di contrasto nei confronti di questa malattia è la profilassi. Secondo la direttiva comunitaria 91/67/CEE recepita a livello nazionale dal DPR n. 555 del 30 Dicembre 1992, che stabilisce norme di polizia sanitaria per i prodotti dell'acquacoltura, la "peste del gambero" rientra fra le patologie della lista III, allegato A, per cui è prevista l'approvazione di programmi facoltativi o obbligatori da parte dei singoli stati membri.

Sono considerate cause di diffusione lo spostamento di barche provenienti da specchi d'acqua differenti ove la malattia è presente.

È necessario tenere sotto stretto controllo l'importazione dei gamberi alloctoni. Nel caso in cui, nonostante le misure di profilassi, la malattia si dovesse manifestare, è necessario raccogliere tutti i gamberi morti e bruciarli, per evitare che il fungo continui a crescere e a produrre spore. Prima di ripopolare la zona bisogna attendere almeno un anno.

Le spore possono essere distrutte con:

- essiccamento oltre 48 ore ed il congelamento a - 20°C per più di 2 ore (Smith & Soderhall, 1986);
- verde malachite alla concentrazione di 1 ppm è il fungicida più efficace nei confronti di *A. astaci*, prodotto colorante che risulta essere altamente nocivo per la salute umana, e pertanto il suo impiego in acquacoltura è vietato;
- esposizione di 30 minuti in ipoclorito di sodio (sostanza tossica per gli organismi acquatici) alla concentrazione di 100 ppm, funge da trattamento disinfettante, ma è opportuno precisare che l'eventuale presenza di materia organica ne diminuisce l'efficacia.

L'unico prodotto legale nel nord Europa, a disposizione degli allevatori, è il cloruro di magnesio che immesso in acqua, previene la trasmissione del micete andando a ridurre la sporulazione. Il fungo, essendo un parassita obbligato, non sopravvive per lunghi periodi in assenza di ospiti ed il periodo di sopravvivenza sembra attestarsi sulle 8-12 settimane.

### ***Fusarium* spp.**

*Fusarium* (Fig. 72) è un vasto genere di funghi per la maggior parte riconducibile a forme imperfette di Ascomiceti, classe Sordariomycetes, famiglia Nectriaceae, che rivestono un particolare interesse medico-sanitario, essendo forme fitopatogene, in grado di produrre micotossine dannose all'uomo e agli animali.



Fig. 72 - *Fusarium* spp. isolato da lesioni dell'esoscheletro di gambero d'acqua dolce.

Le specie di *Fusarium* sono molto diffuse e si possono rivenire frequentemente, data la loro capacità infettante nei confronti sia dei crostacei d'acqua dolce sia di quelli marini. In acqua dolce, questo genere è considerato come un patogeno opportunisto, la cui presenza può essere correlata a ferite sull'esoscheletro, ad inquinamento ambientale o fattori chimico-fisici sfavorevoli o stressanti che

riducano le difese immunitarie dell'animale. Le specie di *Fusarium* che infettano i gamberi d'acqua dolce sono *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. tabacinum*, *F. roseum* var. *culmorum*. La specie che frequentemente colpisce *A. pallipes* è *Fusarium tabacinum* (Alderman, 1985). Il decesso può manifestarsi a distanza di alcuni mesi dalla contrazione dell'infezione: è una patologia di tipo cronico. La causa della morte è da attribuire ad alterazioni nel processo di ecdisi, la produzione di esotossine e da alterazioni osmotiche in conseguenza dell'interferenza con la muta. Il tasso di mortalità è variabile in funzione di: specie di gambero infettato, specie di fungo, tempo di esposizione al patogeno e condizioni fisiche dei gamberi, soprattutto l'eventuale presenza di lesioni sull'esoscheletro. La mortalità aumenta in condizioni di allevamento, con picchi massimi nel periodo in concomitanza dell'ecdisi (Chinain & Vey, 1988); un'infezione batterica di irruzione secondaria può aumentare il tasso di mortalità. In alcuni ospiti, l'infezione causata da *Fusarium* spp. compare con lesioni sull'esoscheletro, branchie ed emociele. La presenza del fungo è accompagnata da depositi di melanina nella cuticola e nelle branchie e l'aggregazione degli emociti conduce alla formazione di ampie incapsulazioni e granulomi. La malattia è anche conosciuta come “*Brown Abdomen Disease*”, per la massiccia melanizzazione delle lesioni (Fig. 73).



Fig. 73 - Esemplare di *A. pallipes* affetto da fusariosi.



*F. tabacinum* associato a batteri chitinolitici Gram negativi fra cui *Pseudomonas* spp. ed altri funghi, come ad esempio *Ramularia astaci*, *Didymaria cambiari*, causa la malattia del carapace o “*Burn Spot Disease*”, una delle più diffuse malattie dei crostacei sia d’acqua dolce che marini, la cui eziologia è pertanto polifattoriale. *Pseudomonas* spp. viene isolato per primo dalle lesioni ma numerose altre specie batteriche sono coinvolte nel processo patologico: *Citrobacter freundii*, *Aeromonas liquefaciens*, *Pseudomonas alkaligenes*, *Enterobacter* spp., *Achromobacter* spp. e *Bacillus* spp. Disturbi metabolici e traumi fungono da fattori predisponenti per l’ingresso dei batteri e per la conseguente diffusione della patologia.

La malattia del carapace è caratterizzata dalla presenza di lesioni che appaiono di color marrone, accompagnate da ulcere necrotiche sull’esoscheletro.

Essa costituisce una delle patologie più diffuse ed interessa un range di specie molto vasto, comprendendo anche specie marine: aragoste, granchi e molte specie di gamberi d’acqua dolce (*Astacus astacus*, *A. leptodactylus*, *Cambarus affinis*, *Orconectes limosus*, *Austropotamobius pallipes*, *Procambarus clarkii*, *Cherax albidus-destroyer* e *C. tenuimanus*).

Le lesioni interessano l’esoscheletro, ed i filamenti branchiali. Nei gamberi d’acqua dolce, la regione più frequentemente colpita inizialmente è la faccia ventrale degli uropodi, ma in seguito le lesioni diffondono a cefalotorace, addome e branchie (Unestam, 1973; Amborsky *et al.*, 1975).

In infezioni di modesta entità le necrosi si limitano al tessuto cuticolare, ma nei casi più severi l’infezione può provocare anche l’erosione del telson ed un interessamento dei tessuti molli sottostanti l’esoscheletro.

### ***Saprolegnia parasitica***

Al genere *Saprolegnia* appartengono funghi oomiceti saprofiti, diffusi in acqua dolce, patogeni nei confronti di un’ampia gamma di specie animali acquatiche.

La saprolegniosi costituisce un grave problema di carattere sanitario ed economico negli allevamenti di salmonidi. La micosi è infatti causa di perdite correlate alla mortalità nel settore dei riproduttori, in quello dell’incubazione e dell’avannotteria.

Si tratta di un'infezione micotica sostenuta da organismi appartenenti alla famiglia Saprolegniaceae, classe Oomycetes, saprofiti ambientali che sviluppano su materiale organico animale e vegetale e che, nelle acque dolci, possono intaccare tessuti di pesci e crostacei nei quali causano lesioni caratteristiche dovute allo sviluppo di ife.

Il micelio vegetativo di *Saprolegnia parasitica* è rappresentato da ife non settate, ramificate e produce zoospore mobili biflagellate (Fig. 74).

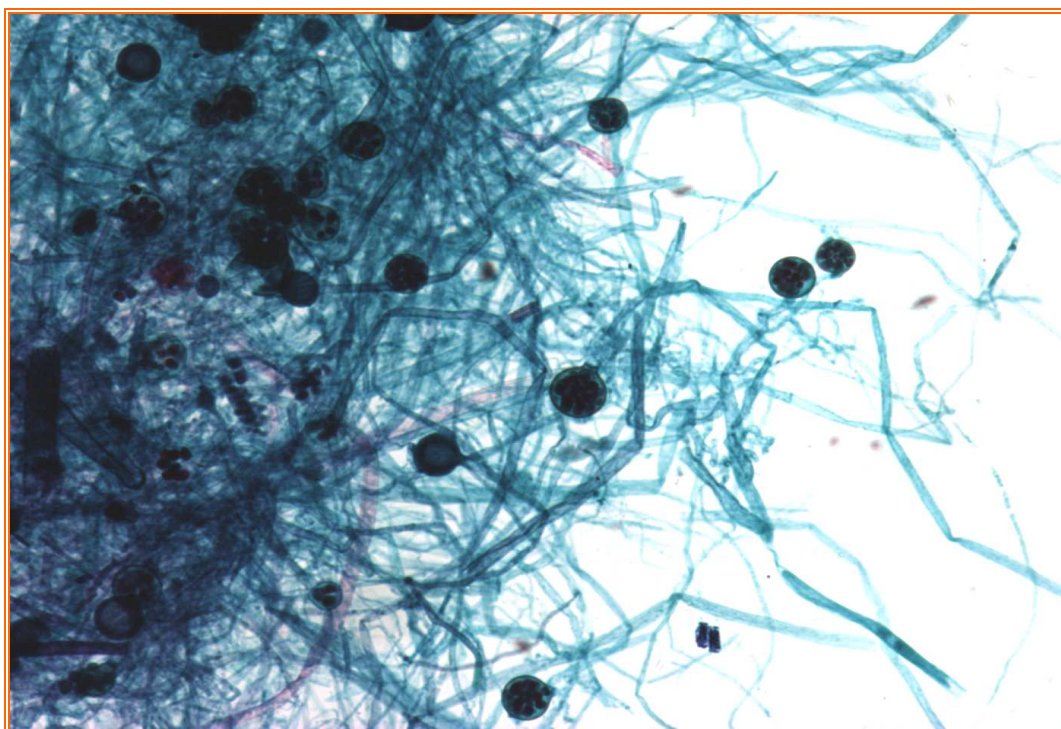


Fig. 74 - Osservazione microscopica di *Saprolegnia parasitica*.

Per quanto riguarda i gamberi d'acqua dolce, *Saprolegnia* attacca il guscio invadendo le cellule dell'embrione e provocandone la morte (Fig. 75), coinvolgendo progressivamente l'intera massa ovigera (Fig.76).

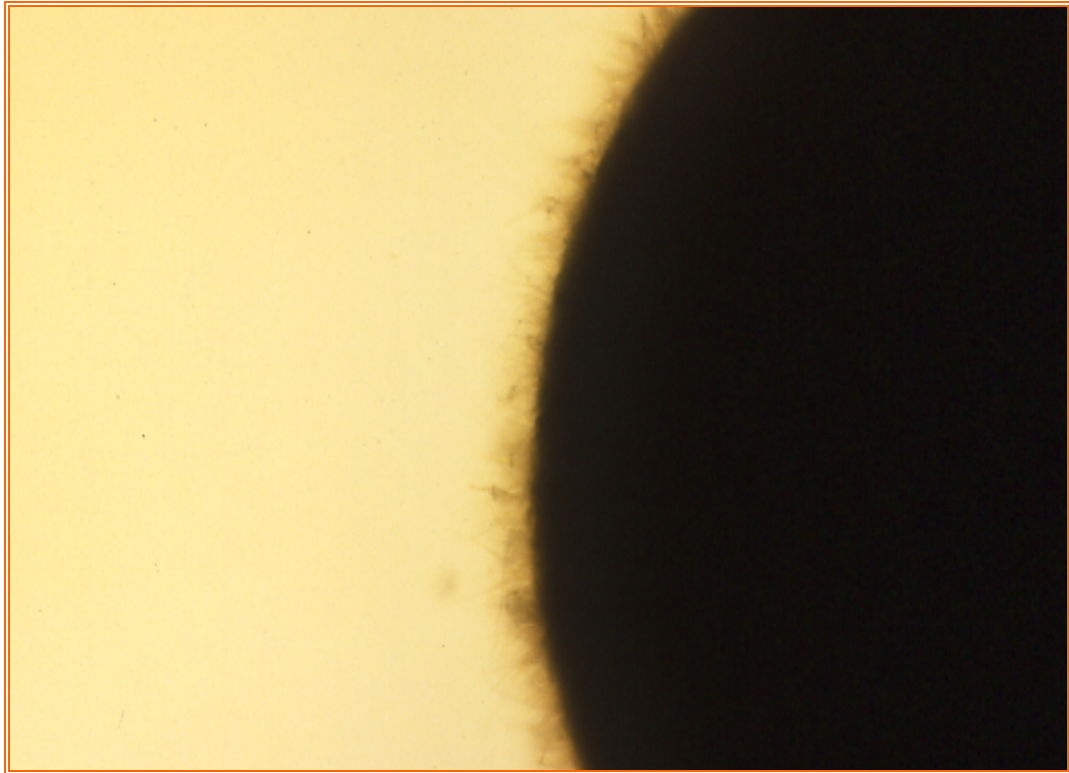


Fig. 75 - Preparato a fresco di un uovo affetto da *Saprolegnia* spp., osservato al microscopio ottico.



Fig. 76 - Uova infettate da *Saprolegnia* spp.

*Saprolegnia parasitica* è considerato un patogeno di irruzione secondaria: il gambero è maggiormente sensibile alla saprolegniosi in condizioni ambientali predisponenti.

Il genere *Saprolegnia* presenta un ciclo riproduttivo sia per fasi sessuate sia asexuate (Fig. 77).

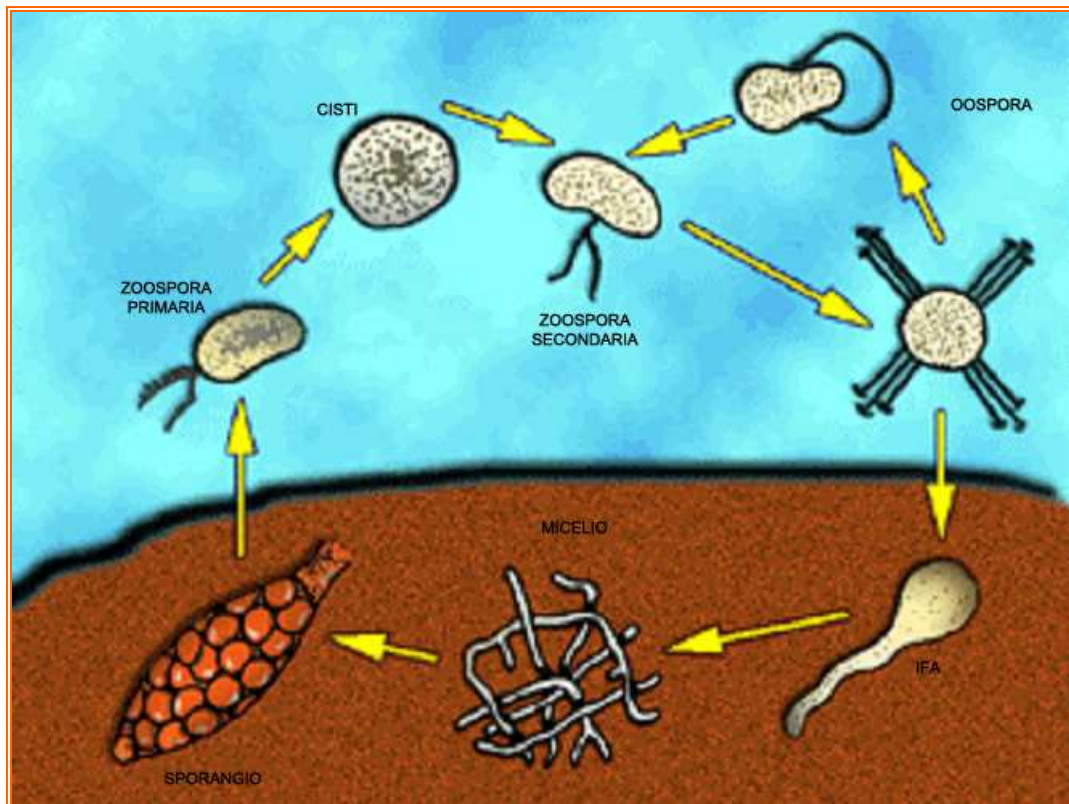


Fig. 77 - Ciclo di *Saprolegnia parasitica*.

Nella riproduzione vegetativa, le zoospore biflagellate (zoospore primarie), liberate dallo sporangio, nuotano per un certo periodo ed in seguito esistono. Ciascuna di esse può dare origine ad una zoospora secondaria, che in seguito si incisterà anch'essa per germinare, producendo così un nuovo micelio (Bailey, 1994).

La riproduzione sessuata è determinata dalla presenza di organi maschili e femminili su di uno stesso individuo, caratteristica delle specie omotalliche.

Nel corso della riproduzione sessuata si formano oogoni e anteridi sulle ife somatiche (la meiosi ha luogo in tali strutture). Gli oogoni sono costituiti da cellule in cui vengono prodotte cellule uovo sferiche, chiamate oosfere. Gli anteridi si sviluppano dagli apici di altri filamenti dello stesso individuo, formando numerosi



Gli sporangi contengono centinaia di zoospore mobili che si diffondono rapidamente nel mezzo acquatico andando in questo modo ad infettare nuovi ospiti.

### Diagnosi ed isolamento

L'identificazione di *Saprolegnia parasitica* nei gamberi di fiume è riportata graficamente nello schema in Fig. 79.



Fig. 79 - Tecnica di isolamento e coltivazione di *Saprolegnia parasitica*

## Terapia

È possibile contrastare l'azione patogena del fungo trattando gli esemplari infetti con verde malachite concentrato a 0,1 ppm per quattro giorni di somministrazione riducendo drasticamente l'infezione e la mortalità larvale (Louis *et al.*, 1999). Questa terapia è peraltro vietata.

## ***Dictyuchus* spp.**

Fungo appartenente alla famiglia delle Saprolegniaceae, che infetta prevalentemente *Procambarus clarkii*.

È stato riscontrato in pianura padana dove ha provocato formazione di colonie cotonose sulla cuticola dell'esoscheletro dei gamberi alloctoni. *Dictyuchus* spp. (Fig. 80) era stato isolato in precedenza in *Pacifastacus* spp.

Il suo significato patogeno è ancora discusso (Galuppi *et al.*, 2002; Vey, 1977).



Fig. 80 - Foto ricavate da osservazioni microscopiche dei vari stadi vitali di funghi appartenenti al genere *Dictyuchus*.

### *Trichosporon beigelii*

*Trichosporon beigelii* (Fig. 81) è stato isolato nel 2003, nel corso di un esperimento, su esemplari di *Astacus astacus* mantenuti in condizioni sperimentali sotto trattamento con cloruro di magnesio.



Fig. 81 - *Trichosporon beigelii* osservato al microscopio.

Il fungo è stato rinvenuto sulla cuticola, che aveva manifestato una forte reazione melanotica decisamente superiore a quella che di solito provoca *Aphanomyces astaci*.

Seppur in assenza di riscontri in natura, si è ipotizzato che in futuro questo micete possa divenire un problema per i gamberi allevati (Soderhall *et al.*, 1993).



## Parte Sperimentale

### III. Materiali e metodi

#### III.a. Centro Sperimentale di Bolzano Bellunese

Presso la trotticoltura del Centro Sperimentale di Acquacoltura di Bolzano Bellunese, gestito dall'Amministrazione Provinciale di Belluno (Fig. 82, 83 e 84), nel periodo compreso tra autunno 2005 e autunno 2006 è stata condotta una prova sperimentale di allevamento intensivo di *A. pallipes* complex, provenienti dal torrente che alimenta l'impianto di acquacoltura.

Il Centro sfrutta le acque provenienti dal torrente Ardo, che nasce dal monte Schiara, nel Parco Nazionale Dolomiti Bellunesi. Dopo un percorso tortuoso, tra gole e forre, lungo 16 km, sfocia nel Piave alla destra del promontorio roccioso su cui sorge la città di Belluno.



Fig. 82 - Centro Sperimentale d'acquacoltura di Bolzano Bellunese.



Fig. 83 - Torrente Ardo deputato all'approvvigionamento idrico del Centro Sperimentale.



Fig. 84 - Centro Sperimentale d'acquacoltura di Bolzano Bellunese.

Nell'ottobre 2005, 15 maschi e 17 femmine sono stati stabulati per gli accoppiamenti, all'interno dell'avannotteria, in una vasca in cemento di 4 x 0,60 x 0,30 m di profondità e con ricambio idrico di circa un litro/minuto per m<sup>2</sup>. La vasca era coperta con griglie al fine di evitare la fuga ed era fornita di mattoni forati come rifugio per i gamberi. Durante la stagione invernale (dicembre 2005), tutti i gamberi sono stati spostati in una vasca in vetroresina di dimensioni 1 x 1 x 0,30 m di profondità, a lento ricambio (Fig. 85).



Fig. 85 - Vasca in vetroresina utilizzata per la stabulazione.

Nella successiva primavera (aprile 2006) 11 femmine, di cui 6 ovigere, sono state trasferite in vasche di tipo californiano, normalmente utilizzate per l'incubazione delle uova di salmonidi (Fig. 86a, 86b).



Fig. 86a - Vasche di tipo californiano utilizzate per l'allevamento dei gamberi.



Fig. 86b - Vasche di tipo californiano utilizzate per l'allevamento dei gamberi.

La temperatura dell'acqua in allevamento oscillava tra valori di 3-4°C in inverno e 9°C in estate. L'alimento, che veniva somministrato due volte a settimana, era costituito inizialmente da mangime pellettato per trota e frammenti di carote e patate, ma questo tipo di alimentazione non risultava idoneo, dato che il mangime tendeva a galleggiare ed i vegetali non venivano consumati. Conseguentemente, si è ritenuto opportuno modificare la dieta mediante la somministrazione di avannotti di trota in quantità crescente con l'aumentare della temperatura e dell'appetito dei gamberi; durante la stagione calda venivano somministrate anche porzioni di muscolo di trota (Fig. 87).

Nel giugno 2006, si è verificata un'improvvisa moria di 19 soggetti stabulati nella vasca in vetroresina (Fig. 88).

I 2 esemplari sopravvissuti sono deceduti successivamente nonostante fossero stati spostati in altro ricovero.

È ipotizzabile che l'eziologia sia riconducibile alla comparsa di un elevato numero di popolazioni micotiche o batteriche, conseguenza di un inidoneo sistema di scarico idrico della vasca stessa; infatti, quest'ultima presentava lo scarico modificato dal gestore dell'allevamento: l'acqua reflua veniva captata in superficie tramite un tubo di 30 cm di altezza, che fungeva da livello, non allontanando la sostanza organica sedimentata sul fondo (Fig. 85).



Fig. 87 - Porzione di muscolo di trota.



Fig. 88 - Gamberi morti nel mese di giugno 2006.

Nella vasche californiane, in seguito alla fuga di 2 soggetti, rimanevano 9 femmine, che sottoposte ad eccessive manipolazioni, perdevano un abbondante numero di uova (Fig. 89).



Fig. 89 - Uovo embrionato distaccato dall'addome.

All'inizio del mese di agosto 2006, momento della schiusa (Fig. 90 e 91) ritardata per le basse temperature ambientali, si contavano circa 150 nati (Fig. 92 e 93).



Fig. 90 - Uova di *A. pallipes* complex.



Fig. 91 - Larve alla schiusa di *A. pallipes* complex.



Fig. 92 - Stadi giovanili di *A. pallipes* in vasche californiane.



Fig. 93 - Stadi giovanili di *A. pallipes*.



Le femmine, in seguito alla schiusa delle uova e dopo il distacco delle larve dall'addome, sono state spostate in un'altra vasca in vetroresina posta all'esterno dell'avannotteria ma, dopo pochi giorni dalla nuova stabulazione, tutti i soggetti venivano a morte (Fig. 94 e 95), presentando muscolatura flaccida con presenza di ife fungine a livello delle giunzioni del carapace (Fig. 96).

Diciannove soggetti morti nel giungo e 4 delle 9 femmine morte nell'agosto 2006 sono stati prelevati e sottoposti ad esame parassitologico, micologico, batteriologico ed istopatologico.



Fig. 94 - Vasca esterna in vetroresina, utilizzata per l'alloggiamento dei gamberi.



Fig. 95 - Seconda moria avvenuta nel mese di agosto nella vasca esterna.



Fig. 96 - Moria con muscolatura flaccida ed ife fungine visibili sul carapace.

### **III.b. Indagini diagnostiche effettuate**

#### **Esame necroscopico**

L'esame necroscopico dei gamberi è stato effettuato mediante esame ispettivo generale del margine dorsale e ventrale dell'esoscheletro, scopo di evidenziare la presenza: di aree brunastre, erosioni ed ulcere dovute all'azione chitinolitica di batteri o funghi.

In seguito, è stato sollevato con pinze il cefalotorace che ricopre le branchie per individuare eventuali lesioni.

Non è stato effettuato un esame anatomo-patologico dei singoli apparati, perché incompatibile con l'esame istopatologico, alterando la topografia degli organi interni.

#### **Indagini parassitologiche**

L'indagine parassitologica è stata eseguita macroscopicamente, alla necropsia, ed al microscopio a partire da raschiati a fresco dell'esoscheletro, delle branchie di ogni soggetto. I parassiti riscontrati sono stati fotografati, disegnati e misurati tramite l'ausilio di camera lucida.

La determinazione tassonomica dei protozoi è stata effettuata mediante le chiavi di identificazione fornite da Matthes & Guhl (1973) e Kudo (1977) e secondo le metodiche descritte da Corliss (1979).

Branchiobdellidi, riscontrati sulla superficie esterna dell'esoscheletro e sulle branchie venivano isolati dai gamberi, fissati in etanolo al 70%, contati, chiarificati con lattofenolo ed esaminati al microscopio ottico, previa colorazione con carminio boracico e montati su vetrino con Glicerina-Jelly o con il fluido di Hoyer. L'identificazione della specie è stata eseguita con camera lucida e determinata usando come chiave di identificazione la morfologia delle mascelle, del dotto spermatico e della spermateca (Pop, 1965; Gelder *et al.*, 1990, 1994).

## **Indagini micologiche**

Sui gamberi prelevati sono stati eseguiti esami colturali micologici da arti ed esoscheletro addominale mediante prelievo con strumenti sterili.

Frammenti di esoscheletro (1-2 mm<sup>2</sup>) e della cuticola che presentavano aree melanotiche sono stati risciacquati in acqua distillata e seminati su piastre di Glucose Yeast Extract Agar (RGY) (Min *et al.*, 1994) con aggiunta di penicillina G (6 mg l<sup>-1</sup>) e acido ossolinico (10 mg l<sup>-1</sup>) (Alderman & Polglase, 1986) per poi essere incubati a temperatura ambiente.

Le colonie isolate sono state esaminate macro e microscopicamente per l'identificazione.

I miceti filamentosi sono stati identificati (a livello di Genere) sulla base delle caratteristiche morfologiche, ovvero l'aspetto macro e microscopico delle colonie, incluse la presenza-assenza e le caratteristiche delle forme di riproduzione sessuata e asessuata (Barron, 1968; St-Germain & Summerbell, 1996; De Hoog & Guarro, 1996); i lieviti sono stati identificati utilizzando gallerie auxonografiche API 20c Aux (Biomerieux) e valutando la presenza-assenza di ife o pseudoife in piastra di Dalmau su Yeast Morphology Agar (DIFCO).

Se i miceti filamentosi si presentavano con ife tubulari, irregolarmente ramificate e scarsamente settate (simili a quelle degli oomiceti), frammenti di colonia venivano posti in acqua distillata, con e senza semi di canapa sterili, e posti ad incubare a 26°C e 18°C per verificare l'eventuale formazione di sporangi e/o strutture sessuate.

## **Indagini batteriologiche**

Per le indagini batteriologiche sono state eseguite semine dal seno pericardico di ciascun gambero. E' stata prelevata 0,1 ml di emolinfa, mediante siringhe sterili da 1 ml, e sono state effettuate semine su Agar Sangue.

Le piastre sono state incubate a 25°C, per 24-48 ore. Sono state eseguite subcolture su Agar Sangue e TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salts*) e, per l'identificazione, prove biochimiche in macrometodo (ossidasi, catalasi, OF test,

mobilità, capacità di crescita su MacConkey e idrolisi dell'esculina) ed in micrometodo (gallerie biochimiche, API 20E - API 20 NE, Biomerieux).

### **Indagini istopatologiche**

Per operare la fissazione ai fini istologici, prima della loro immersione in formalina tamponata al 10%, sono state effettuate delle infiltrazioni di fissativo a livello delle giunture del carapace mediante una siringa (Fig. 97).

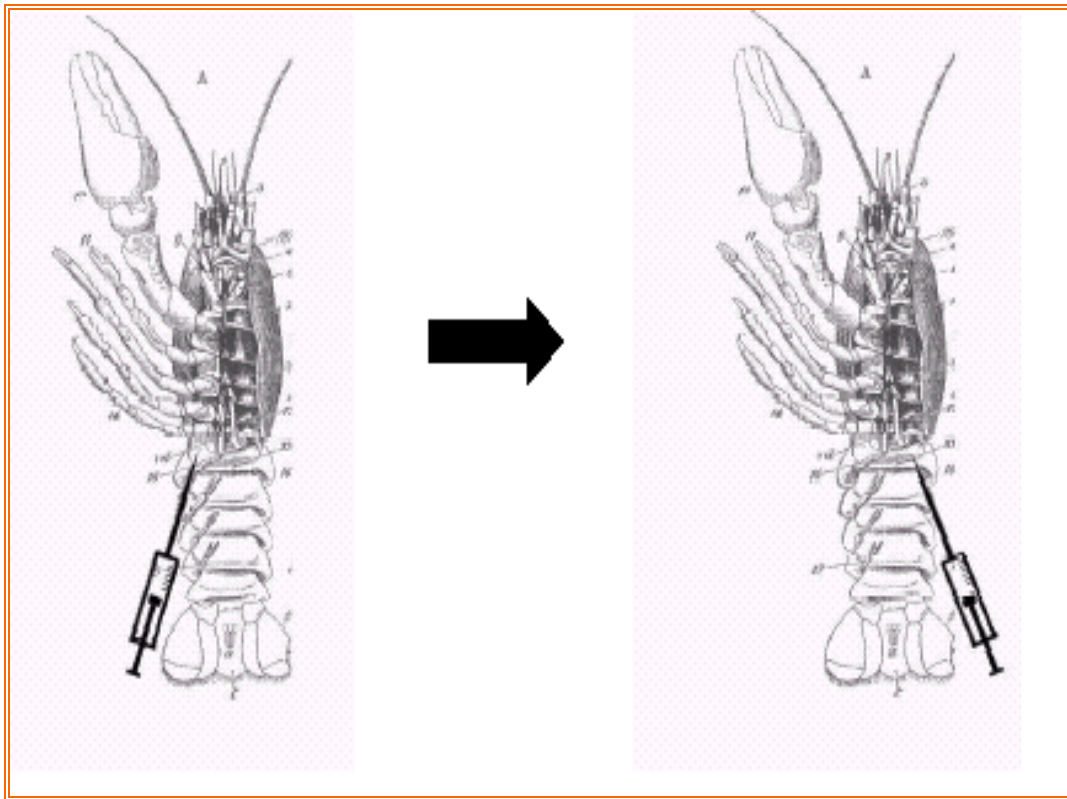


Fig. 97 - Infiltrazioni di fissativo a livello di giunture del carapace.

In seguito alla fissazione, l'addome è stato separato dal cefalotorace, e quest'ultimo è stato suddiviso in due porzioni mediante un taglio sagittale (Fig. 98).

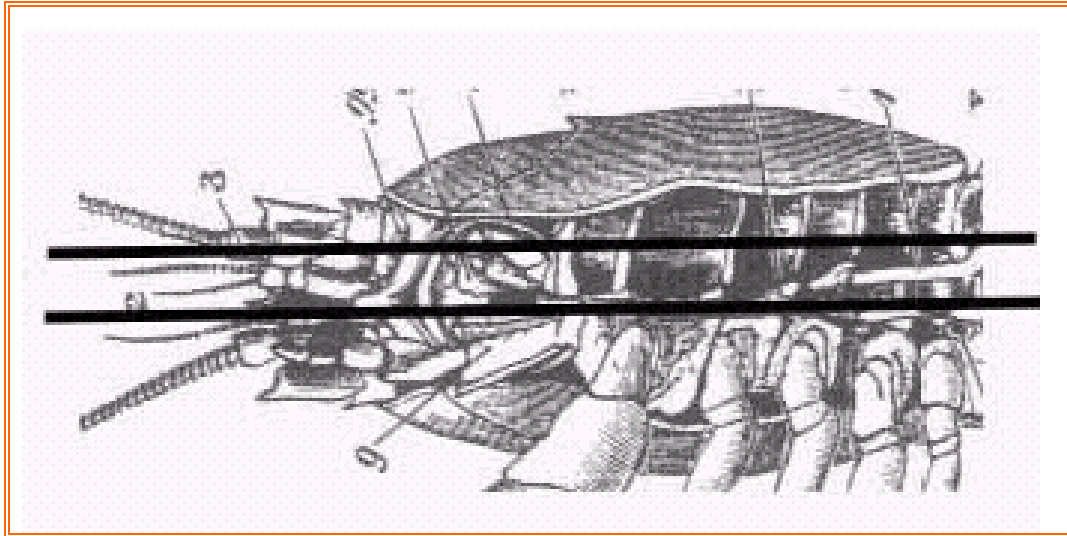


Fig. 98 - Rappresentazione grafica della regione dove operare il taglio sagittale.

Le due emisezioni del cefalotorace, un segmento addominale e porzioni di branchie sono state incluse in paraffina (Fig. 99) (Edgerton, 2004).

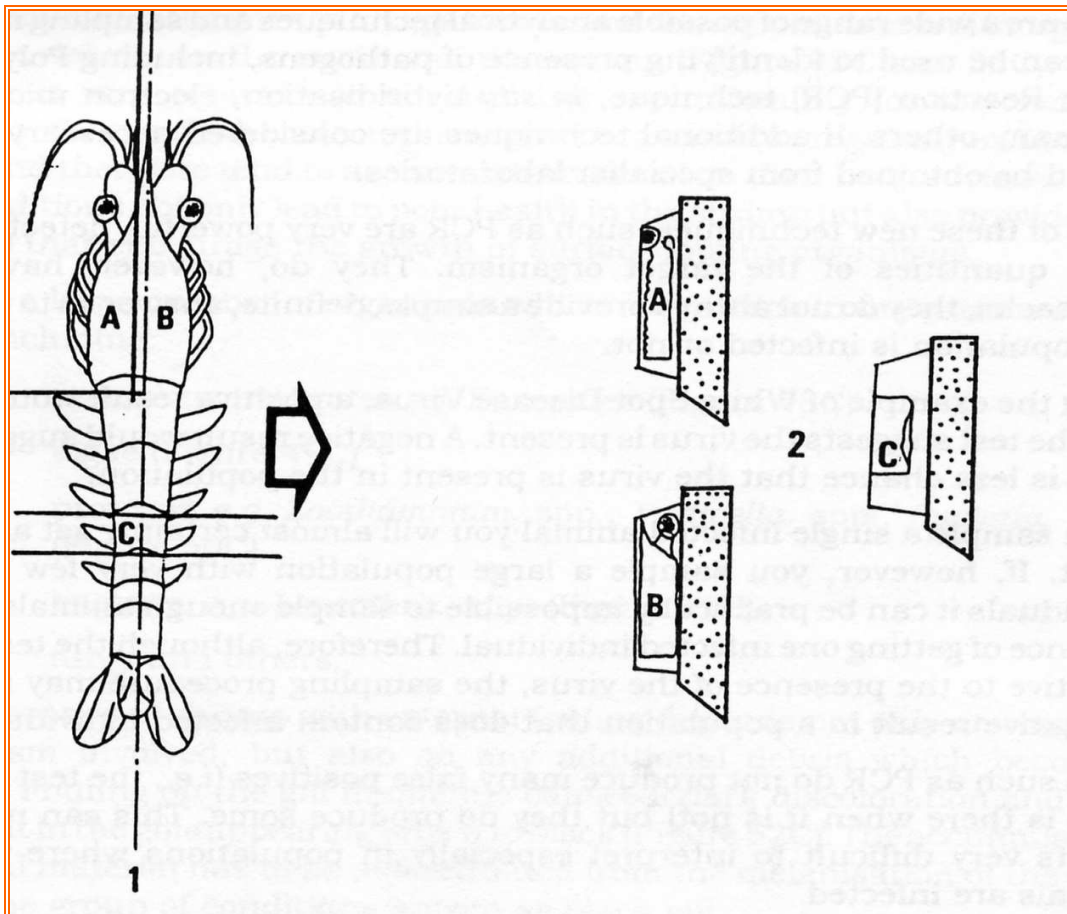


Fig. 99 - Prelievo di tessuti di gambero ed inclusione.

Le sezioni di 5 µm sono state colorate con Ematossilina-Eosina, PAS e Giemsa. Seguendo questa tecnica da ogni emiporzione del carapace sono osservabili: esofago, stomaco ghiandolare, epatopancreas, gonadi, cuore ed intestino (Fig. 100).

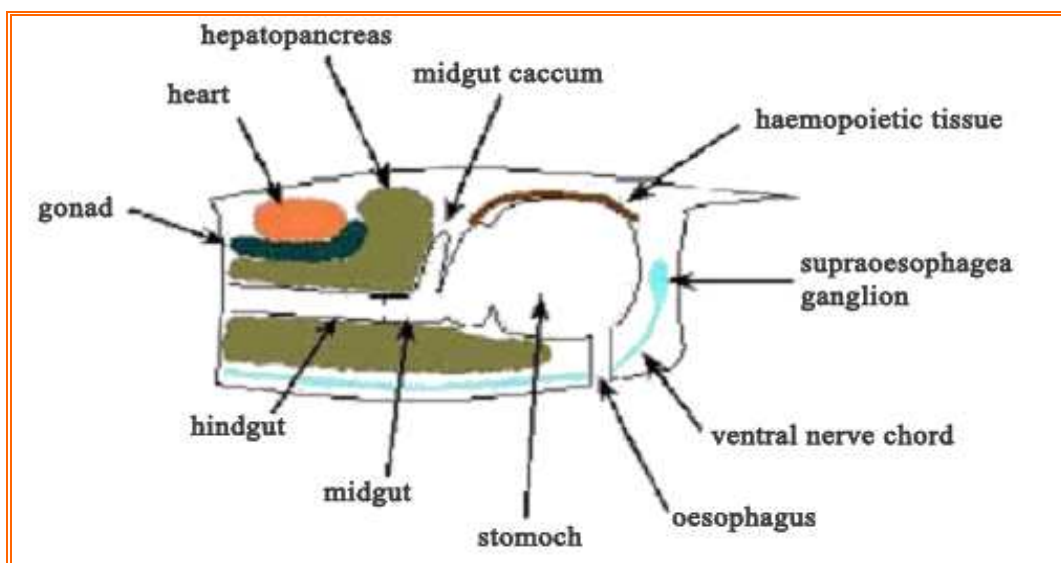


Fig. 100 - Rappresentazione grafica di una sezione istologica da cefalotorace.

Per i gamberi di taglia più grande è stata effettuata una riduzione, come rappresentato in Fig. 101.

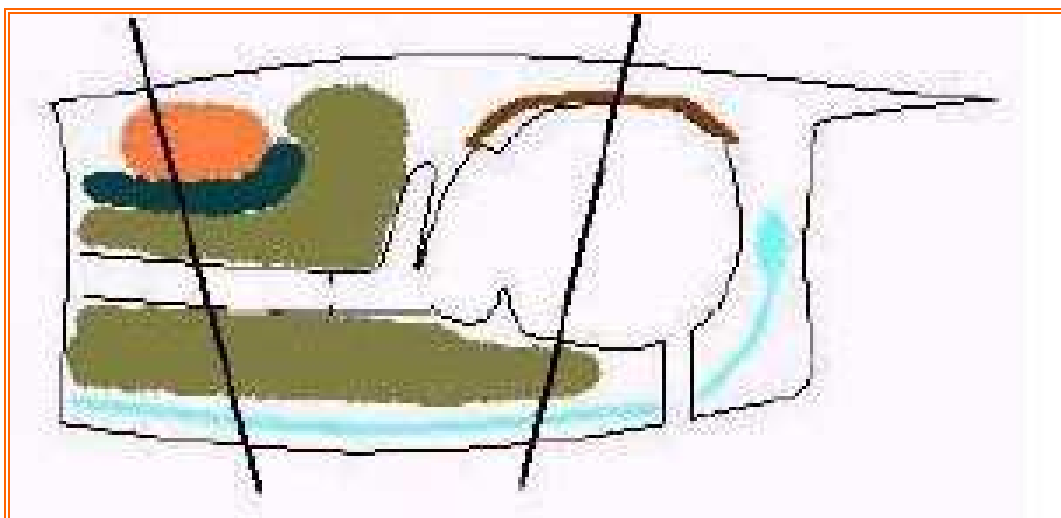


Fig. 101 - Rappresentazione grafica della riduzione dell'emiporzione.

Le sezioni istologiche sono state esaminate ai microscopi ottici mod. Leitz Ortoplan e Nikon microflex HFM; quest'ultimo modello è stato impiegato per la microfotografia.

## **IV. Risultati**

### **IV.a. Esame parassitologico**

Le indagini parassitologiche evidenziavano la presenza di *Cothurnia sieboldii* (protozoo ciliato peritrico di forma sferica), su carapace e filamenti branchiali di tutti i gamberi esaminati in assenza di lesioni (Fig. 102, 103 e 104).



Fig. 102 - *Cothurnia sieboldii*, protozoo ciliato peritrico di forma sferica protetto da una lorica.





Fig. 103 - Esame microscopico a fresco con individuazione di *Cothurnia sieboldii* sulla superficie dei filamenti branchiali di *A. pallipes*.

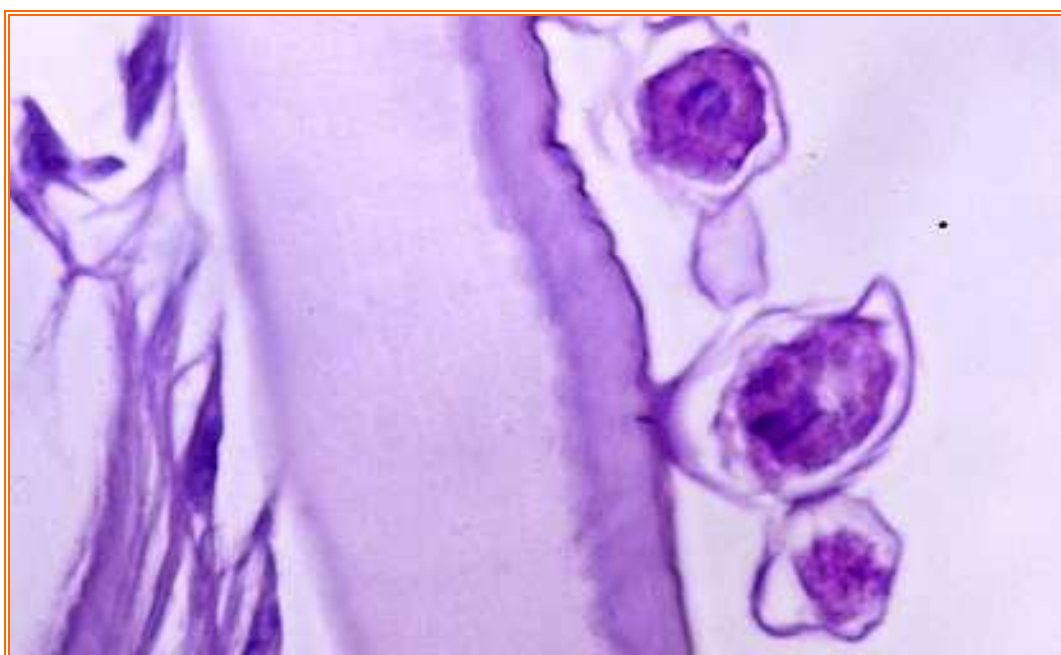


Fig. 104 - Esame istologico con individuazione di *Cothurnia sieboldii* sulla superficie dei filamenti branchiali di *A. pallipes* (E. & E.).

Si evidenziava, inoltre, la presenza di *Branchiobdella hexodonta* sull'esoscheletro di tutti i soggetti esaminati (Fig. 105, 106 e 107).



Fig. 105 - Individuazione di alcuni esemplari di *Branchiobdella hexodonta* adesa all'esoscheletro.



Fig. 106 - Apparato boccale di *Branchiobdella hexodonta* in un preparato a fresco.

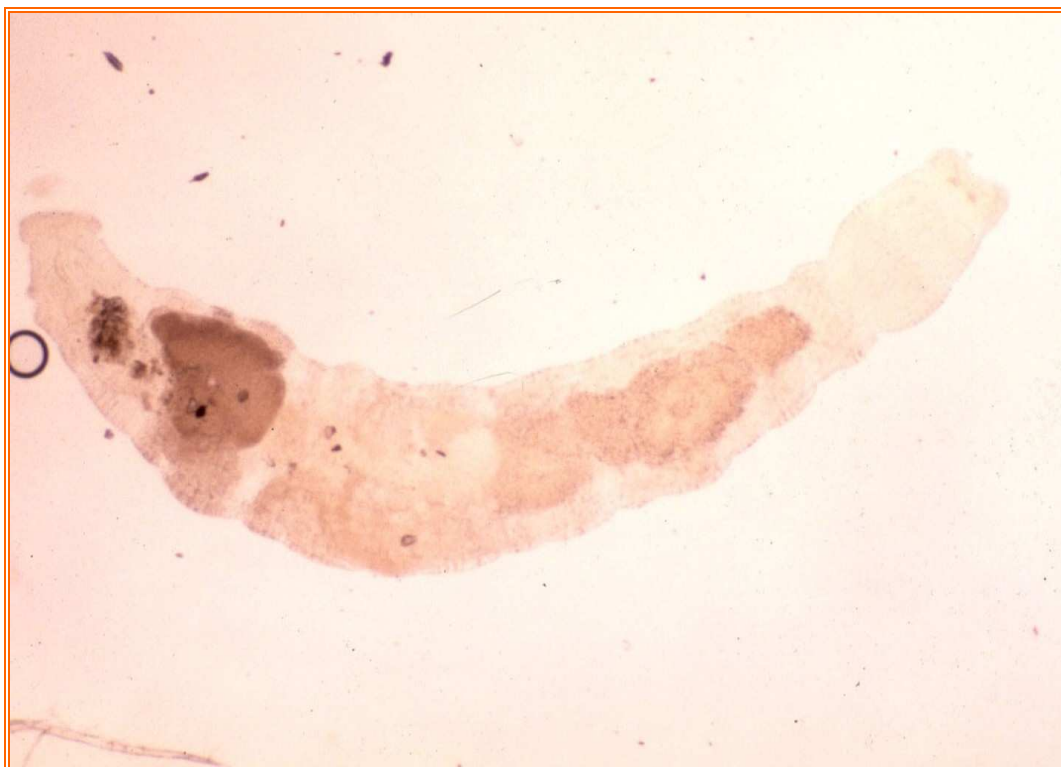


Fig. 107 - *Branchiobdella hexodonta* in un preparato a fresco da raschiati di esoscheletro.

#### **IV.b. Esame micologico**

All'esame microscopico a fresco, si notava la presenza di ife cenocitiche nelle branchie (Fig. 108).

All'esame micologico, dalle semine di arti e frammenti di esoscheletro addominale di tutti i gamberi esaminati, si riscontrava crescita di colonie bianche con micelio cenocitico (Fig. 108, 109 e 110).

Nei miceti isolati, la presenza di zoospore biflagellate piriformi è caratteristica della famiglia Saprolegniaceae.

La presenza di sporangi con lo stesso diametro delle ife vegetative e non ben evidenti, fa ritenere che i miceti isolati appartengano al genere *Leptolegnia* o ad alcune specie del genere *Aphanomyces*, diverse da *A. astaci*.

Non è stato possibile effettuare una identificazione più precisa.



Fig. 108 - Ife cenocitiche nelle branchie.



Fig. 109 - Zoospore biflagellate piriformi.

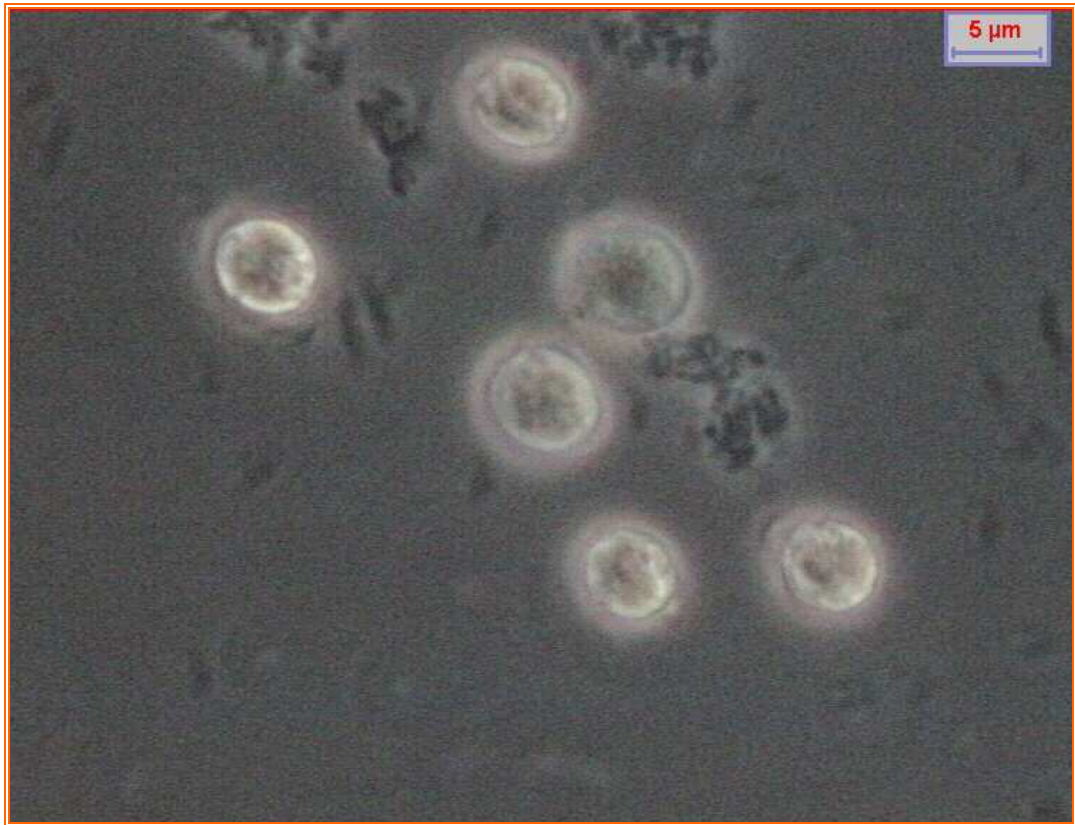


Fig. 110 - Colonie bianche con micelio cenocitico.

*Fusarium* spp. veniva isolato da branchie di un solo soggetto (Fig. 111).

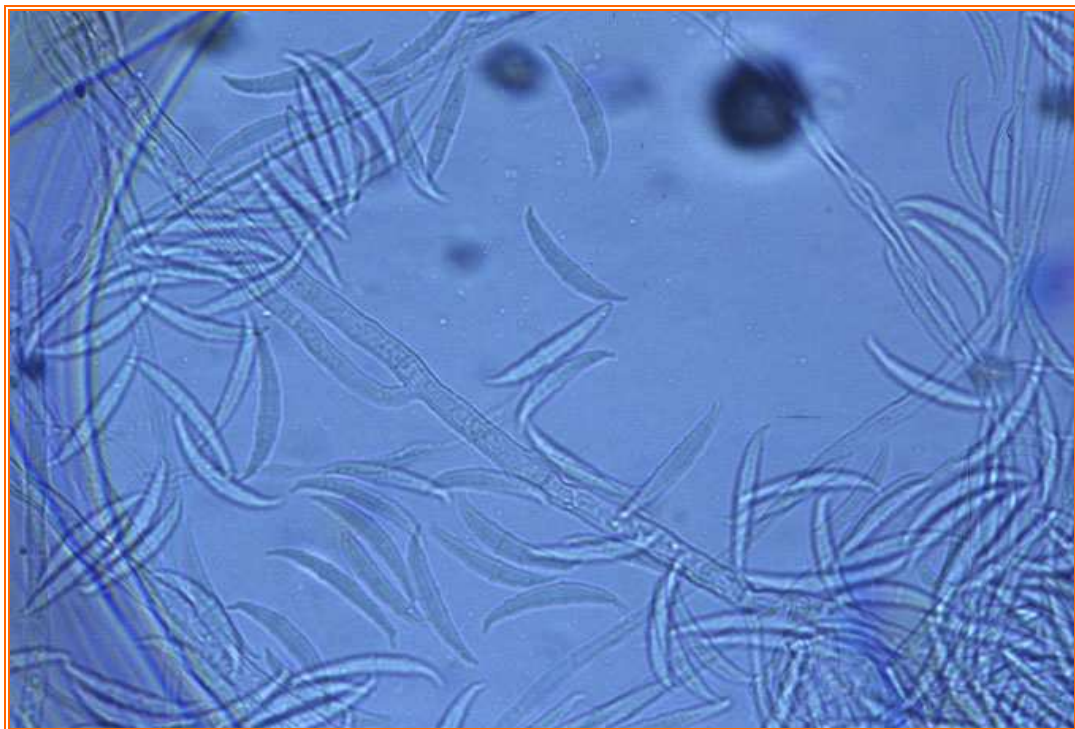


Fig. 111 - *Fusarium* spp.

All'esame istologico lo spessore dell'esoscheletro si presentava di aspetto cribroso, con lunghi tragitti fistolosi contenenti strutture allungate e ramificate PAS-positive, riferibili a ife fungine (Fig. 112 e 113).

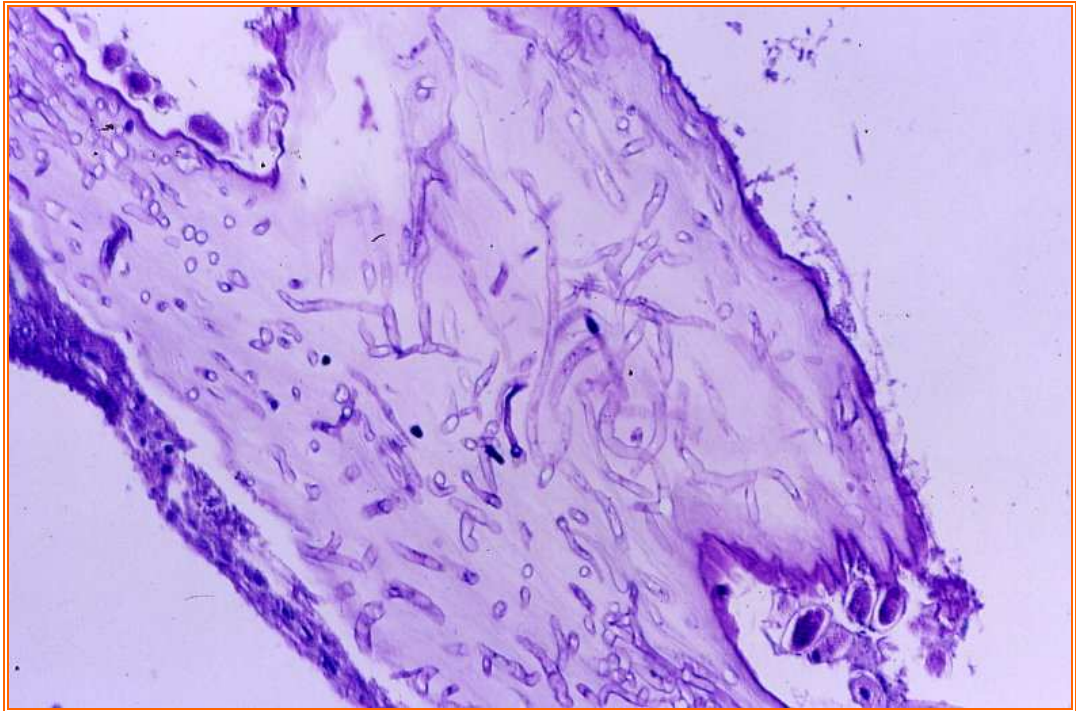


Fig. 112 - Ife fungine ramificate (PAS).

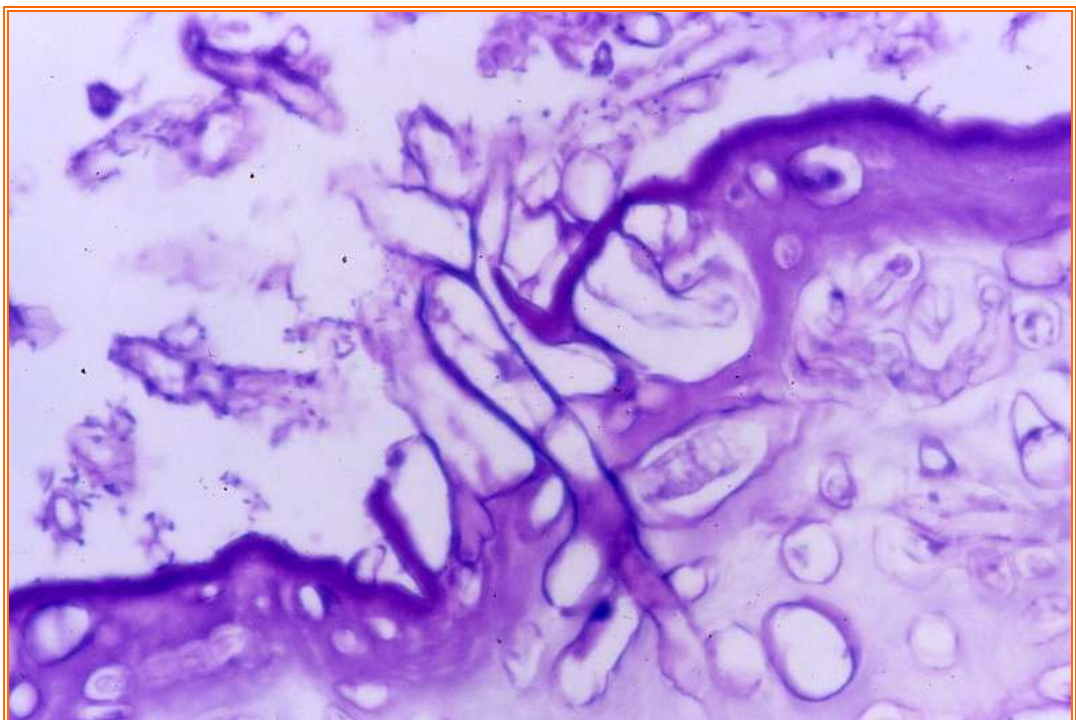


Fig. 113 - Ife fungine ramificate (PAS).

La presenza delle ife era più abbondante nelle porzioni molli dello sternum e delle articolazioni.

Tali lesioni si riscontravano anche nei gonopodi (Fig. 114) e nel peduncolo oculare (Fig. 115).

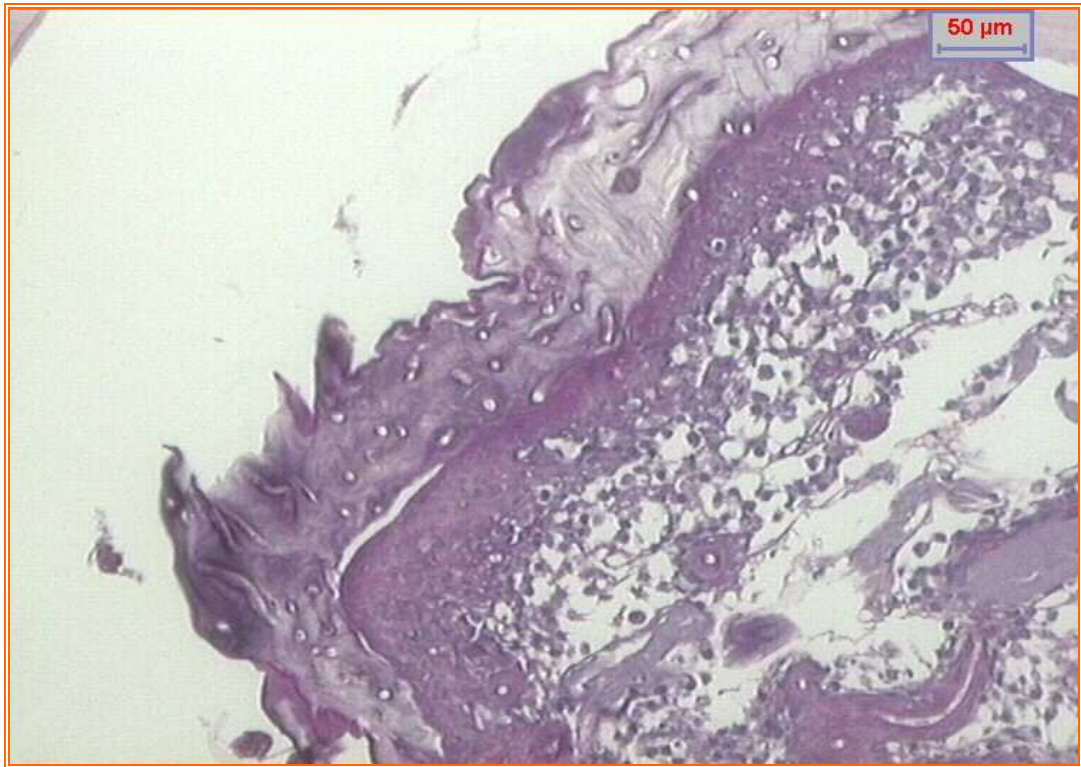


Fig. 114 - Lesioni nei gonopodi (PAS).

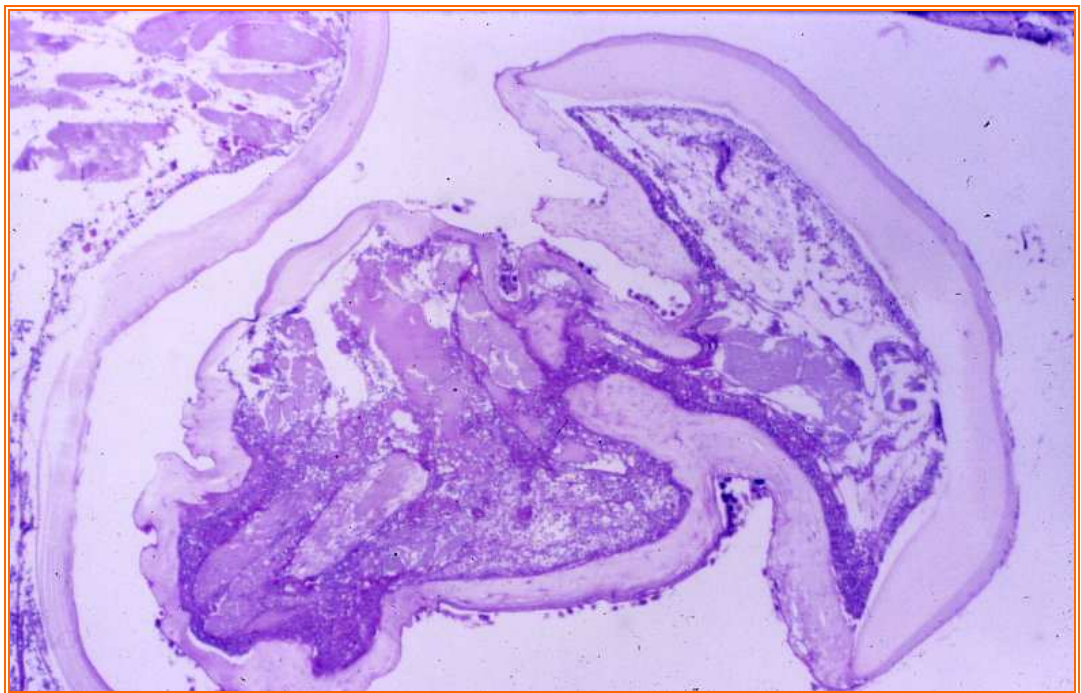


Fig. 115 - Lesioni nel peduncolo oculare (PAS).

A carico dell'ipoderma e della muscolatura erano presenti emociti e granulomi contenenti ife (Fig. 116 e 117).

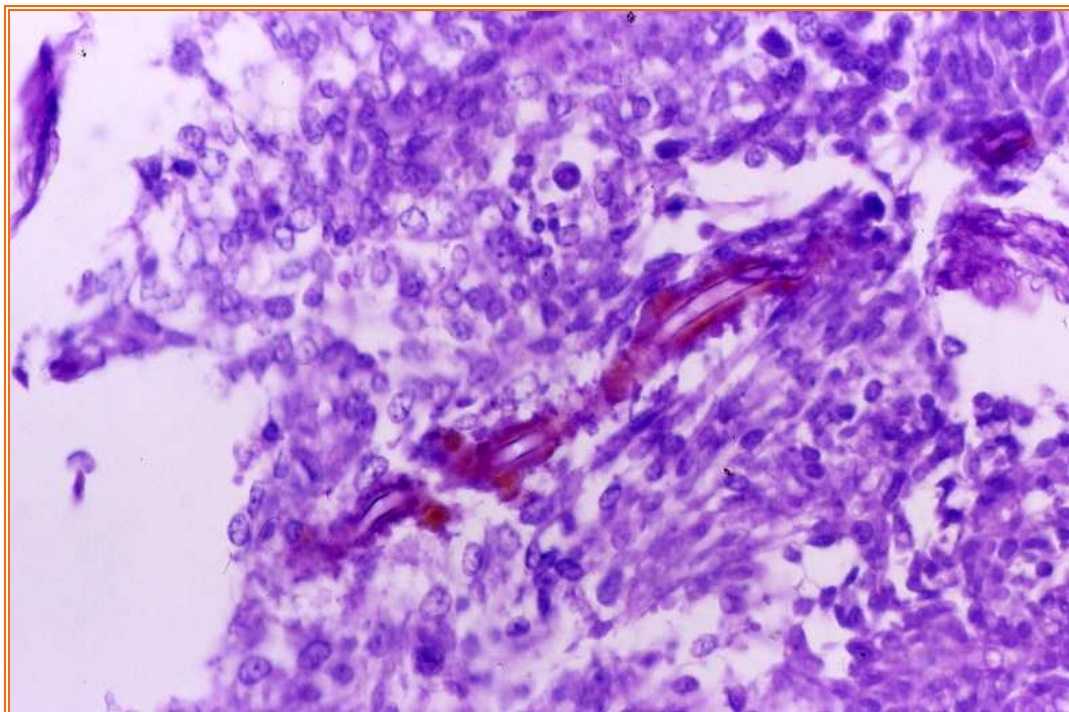


Fig. 116 - Ife circondate da melanina e da aggregati emocitari (PAS).

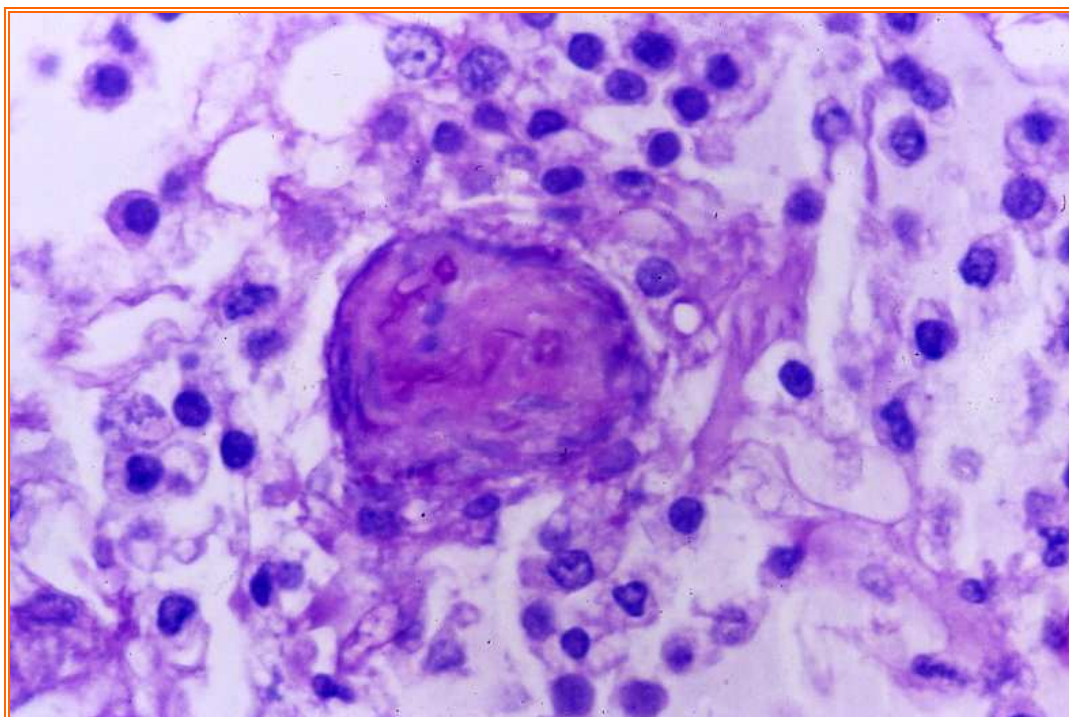


Fig. 117 - Granuloma contenente ife circondato da emociti (PAS).



La muscolatura e le ghiandole antennali talvolta risultavano colonizzate con fenomeni degenerativi e necrosi (Fig. 118 e 119). In alcuni casi, le ife si presentavano incapsulate da uno spesso deposito melanotico.

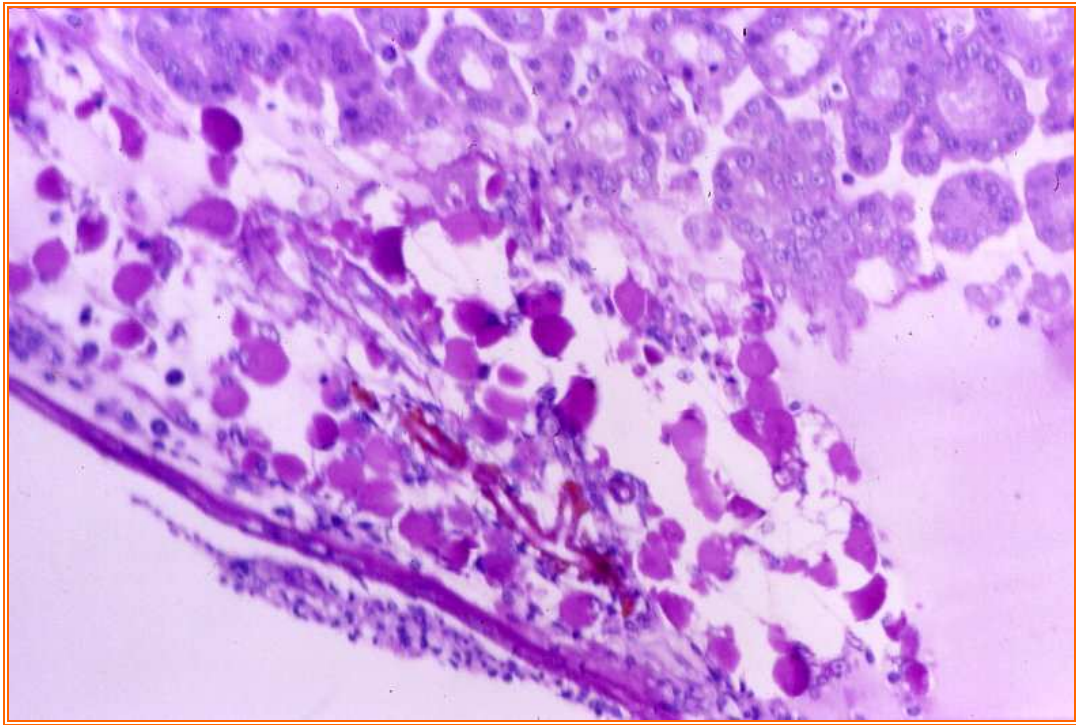


Fig. 118 - Muscolatura e ghiandola verde colonizzate con fenomeni degenerativi e necrosi (PAS).

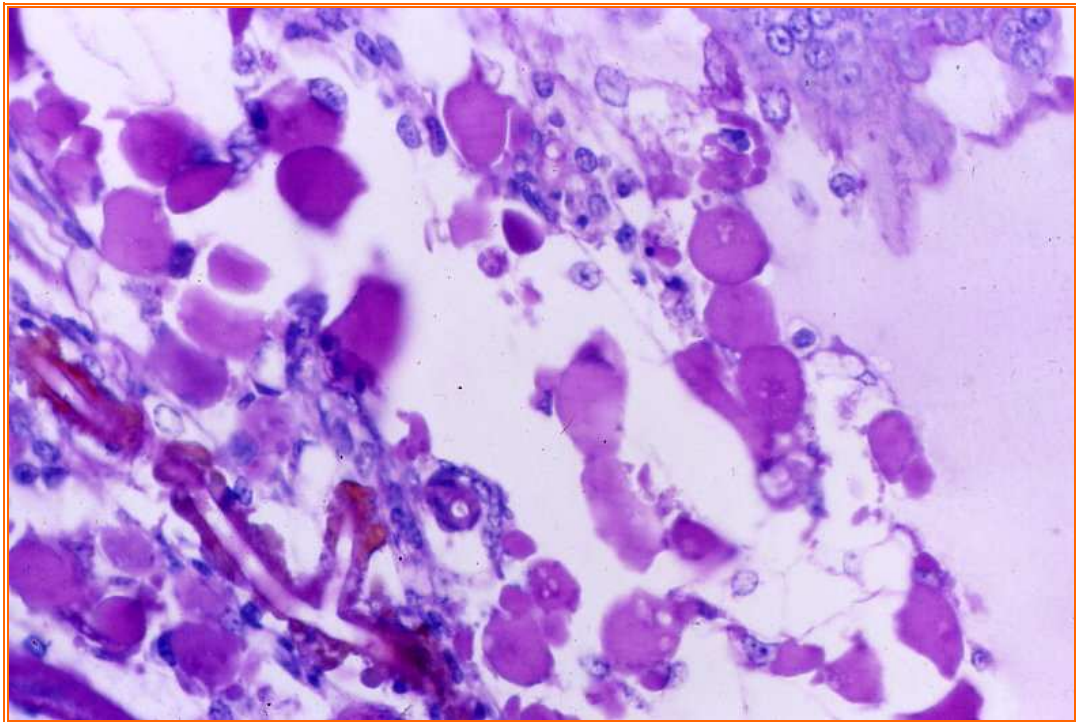


Fig. 119 - Muscolatura e ghiandola verde colonizzate con fenomeni degenerativi e necrosi (PAS).

In alcuni soggetti erano presenti granulomi con pigmento melanotico nelle branchie (Fig. 120).



Fig. 120 - Granulomi con pigmento melanotico (PAS).

#### **IV.c Esame batteriologico**

All'esame batteriologico si osservava un polimicrobismo aspecifico. All'esame istologico si osservavano batteri filamentososi sulla cuticola, nello spessore dell'esoscheletro in prossimità delle ife fungine e nell'ipoderma.

In considerazione di quanto riportato, è plausibile che la mortalità sia da attribuire ad una massiva infezione da Saprolegniaceae, sviluppatasi in maniera abnorme a causa della mancata rimozione dei residui di alimento di origine animale e da infezioni secondarie di origine batterica.

## V. Discussione

Negli invertebrati, i miceti spesso hanno un ruolo patogeno più rilevante rispetto ai parassiti e ai batteri (Unestam, 1973).

Nei gamberi d'acqua dolce sono state segnalate micosi, ma spesso non sufficientemente corredate da esaurienti descrizioni.

I miceti del genere *Acremonium*, sono stati isolati da gamberi sani e possono essere considerati come normali saprofiti che non provocano lesioni cuticolari. I generi *Fusarium* spp., *Penicillium*, *Gliocadium*, *Trichoderma*, *Geotrichum* e *Alternaria* sono stati riscontrati sia su gamberi vivi sia su quelli morti, ed anche per questi si ipotizza un comportamento prevalentemente saprofitico.

Nei gamberi d'acqua dolce, il fungo *Fusarium* spp. è considerato un patogeno opportunistico che può causare infezioni in seguito a condizioni di stress quali ferite, lesioni e inquinamento dell'acqua che possono diminuire la resistenza dell'animale (Edgerton *et al.*, 2002b). *Fusarium* spp. è stato descritto provocare malattie in gamberi marini e di acqua dolce (Johnson, 1983). *Fusarium solani* è descritto causare la malattia dell'addome bruno e infezioni branchiali in *A. leptodactylus* e *A. pallipes* (Maestracci & Vey, 1988).

In condizioni sperimentali, *Fusarium* spp. è in grado di determinare mortalità dopo diversi mesi dall'infezione, poiché la malattia ha un decorso lento.

La mortalità è da attribuire ad alterazioni fisiologiche per interferenza con le fasi di ecdisi, provocata dalla presenza di esotossine prodotte dal fungo, alterazione della pressione osmotica e delle concentrazioni di sodio e cloro nell'emolinfa. Infine, batteri secondari possono contribuire a determinare la morte dei soggetti colpiti.

In questo lavoro di tesi, *Fusarium* spp. è stato riscontrato in un solo esemplare, ma risulta comunque di interesse sperimentale perché è uno dei miceti che viene isolato più frequentemente. Esso viene riscontrato sia su gamberi senza lesioni apparenti, sia su gamberi che manifestano ulcere sull'esoscheletro, il che porta a ritenere il micete come patogeno opportunistico.

Nei gamberi allevati nel Centro Sperimentale di Acquacoltura di Bolzano Bellunese, le caratteristiche dei miceti hanno permesso la sola identificazione di Saprolegniaceae.

*Saprolegnia* spp. è un genere che comprende muffe acquatiche classificate nel regno prototista, Phylum Heterokonta, classe Oomycotea (Bruno & Wood, 1999) ed include specie che sono responsabili di significative infezioni in pesci. L'identificazione di queste specie con metodi microscopici e colturali è basata sull'ottenimento di strutture sessuali in vitro (oogoni femminili, anteridi maschili ed oospore durature). Per effettuare un'accurata identificazione della specie è necessario stimolare la produzione di strutture sessuali (Pickering & Willoughby, 1982).

La caratteristica delle cisti secondarie è anche usata per l'identificazione delle colture di *Saprolegnia* spp. isolate da pesci e gamberi mediante l'uso di microscopio elettronico o microscopio ottico a contrasto di fase (Pickering *et al.*, 1979; Hallett & Dick, 1986; Soderhall *et al.*, 1991). Anche studi biomolecolari possono servire allo scopo (Molina *et al.*, 1995; Dièguez-Uribeondo *et al.*, 1996). Nei ceppi di *Saprolegnia* isolati, sono state ottenute solamente fasi di riproduzione asessuata, senza cisti secondarie, e quindi non è stato possibile identificarne la specie.

Soderhall e coll., (1991) hanno affermato che, sebbene *Saprolegnia parasitica* causi gravi problemi nei pesci, non risulta possedere spiccata patogenicità nei confronti dei gamberi. Ad ogni modo, in allevamento intensivo *Saprolegnia* spp. può causare mortalità, specialmente in femmine con uova. Dièguez-Uribeondo e coll., (1994) in prove di infezione sperimentale con zoospore in gamberi sani (*Astacus astacus*, *Pacifastacus leniusculus* e *Procambarus clarkii*) hanno potuto constatare una mortalità del 20%; nel caso la cuticola dei gamberi fosse abrasa prima dell'infezione sperimentale, la mortalità aumentava significativamente risultando fino a tre volte superiore. È possibile che fattori predisponenti costituiscano la chiave per lo sviluppo dell'attività patogena nel fungo.

La presenza di *A. pallipes* complex si è diffusamente e progressivamente ridotta negli ultimi anni in molte aree geografiche europee fino quasi all'estinzione.

Allo stato attuale, le prospettive del gambero di fiume non lasciano adito a molte speranze, poiché la maggior parte dei nostri corsi d'acqua subisce un condizionamento antropico negativo.

Da questa ricerca emerge la sensibilità della specie a condizioni ambientali avverse sia in ambiente naturale che in allevamento e che pertanto giustamente viene elencata dalla IUCN tra le specie “vulnerabili” a fronte del rischio di estinzione. Per garantire la sopravvivenza del gambero sarebbe necessario che nessun tipo di acque reflue o inquinanti venga immesso nell'ambiente. Questo è possibile solo ove non siano presenti a monte centri abitati o aree sfruttate dall'uomo (scopi agricoli, industriali, sfruttamento forestale, ecc...) in quanto risulta inattuabile evitare immissioni nocive strettamente legate al nostro stile di vita.

Le uniche prospettive percorribili consistono nella conservazione e nell'introduzione di esemplari di gambero di fiume *A. pallipes* complex in aree a protezione totale (parchi con vincoli molto restrittivi) e la salvaguardia della risorsa acqua.

## VI. Bibliografia

Alderman D.J. (1985). *Fusarium tabacinum* (Beyma) Gams as a gill parasite in the crayfish, *Austropotamobius pallipes* Lereboullet. *Journal of Fish Disease* **8**:249-252.

Alderman D.J. & Polgase J.L. (1986). *Aphanomyces astaci*. Isolation and culture. *Journal of Fish Disease* **9**:367-379.

Amborsky R.L., Lo Piccolo G., Amborsky G.F. & Huner J. (1975). A disease affecting the shell and soft tissues of Louisiana crayfish, *Procambarus clarkii*. *Freshwater Crayfish* **2**:299-316.

Arrignon J. (1996). *Il Gambero d'Acqua Dolce e il suo Allevamento*, Edagricole, Bologna.

Bailey T.A. (1994). *Saprolegnia*. In "Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens". Fish Health Section, American Fisheries Society **IV** (1):3.

Barron G.L. (1968). *The Genera of Hyphomycetes from soil*. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, USA.

Bott R. (1950). *Die Flusskrebse Europas (Decapoda; Astacidae)*. *Proceedings Senck. Natural Society* **483**:1-36.

Bott R. (1972). *Besiedlungsgeschichte und Systematik der Astaciden West-Europas unter besonderer Berücksichtigung der Schweiz*. *The Revue Suisse de Zoology* **79**:387-408.

Brehm A.E. (1907). *Vita degli animali*. Vol. **10**. UTET, Torino.

Bruno D.W. & Wood B.P. (1999). *Saprolegnia* and other Oomycetes. Fish Diseases and Disorders **III**:896.

Capurro M., Galli L., Mori M., Salvidio S. & Arillo A. (2007). The signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852) [Crustacea: Decapoda: Astacidae], in the Brugnato Lake (Liguria, NW Italy). The beginning of the invasion of the River Po watershed?. Aquatic Invasions **2**:17-24.

Chinain M. & Vey A. (1988). Experimental study of *Fusarium solani*: infection in *Astacus leptodactylis* and *Pacifastacus leniusculus* (Crustacea, Decapoda). Diseases of Aquatic Organism **5**:215-223.

Comel C. (2000). Pietà e dissenso religioso nelle Ultime Cene. Civis, **16**:29-44.

Confortini I. & Natali M. (1995). Presenza del gambero americano *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817), in alcuni corsi d'acqua della pianura veronese.

Corliss J. O. (1979). The ciliated Protozoa. Pergamon Press, UK.

Cornalia E. (1860). Sulla malattia dei gamberi. Atti della società Italiana di Scienze Naturali **II**:334-336.

De Hoog G.S. & Guarro J. (1996). Atlas of Clinical Fungi. Centralbureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira I Virgili, Baarn and Delft, The Netherlands.

Dièguez-Uribeondo J., Cerenius L. & Soderhall K. (1994). *Saprolegnia parasitica* and its virulence on three different species of freshwater crayfish. Aquaculture **120** (3-4):219-228.

Dièguez-Uribeondo J., Huang T.S., Cerenius L. & Soderhall K. (1995). Physiological adaptation of an *Aphanomyces astaci* strain isolated from the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. Mycology Research **99** (5):574-578.

Dièguez-Uribeondo J., Cerenius L. & Soderhall K. (1996). Physiological characterization of *Saprolegnia parasitica* isolates from brown trout in Spain. *Aquaculture* **140**:247-257.

Edgerton B.F., Watt H., Becheras J.M. & Bonami J.R. (2002a). An intranuclear bacilliform virus associated with near extirpation of *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) from the Nant watershed in Ardèche, France. *Journal of Fish Disease* **25**:523-531.

Edgerton B.F., Evans L.H., Stephens F.J. & Overstreet R.M. (2002b). Synopsis of freshwater crayfish diseases and commensal organism. *Aquaculture* **206**:57-135.

Edgerton B.F. (2004). Pathology of redclaw, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Freshwater Crayfish* **14**:228-235.

Evans L.H., Edgerton B.F., Stephens F.J. & Overstreet R.M. (1999). *AQUIS Review of Freshwater Crayfish Diseases, Pest and Commodities* **I**:46-58.

Fratini S., Zaccara S., Barbaresi S., Grandjean F., Souty-Grosset C., Crosa G. & Gherardi F. (2005). Phylogeography of the threatened crayfish (genus *Austropotamobius*) in Italy: implications for its taxonomy and conservation. *Heredity* **94**:108-118.

Froggia C. (1978). Decapodi (Crustacea Decapoda). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane **4**. C.N.R., Roma.

Galuppi R., Quaglio F., Maxia M., Morolli C. & Tampieri M.P. (2002). Fungal infections in allochthonous freshwater crayfish in northern Italy. The Thirteenth Biennial Symposium of the International Association of Astacology. *Freshwater Crayfish* **13**:267-273.



Gelder S.R. & Hall L.A. (1990). Description of *Xironogiton victoriensis* from British Columbia, Canada, with remarks on other species and a Wagner analysis of *Xironogiton* (Clitellata: Branchiobdellida). Canadian Journal of Zoology **68**:2352-2359.

Gelder S.R., Delmastro G.B. & Ferraguti M. (1994). A report on branchiobdellidans (Anellida: Clitellata) and a taxonomic key to the species in northern Italy, including the first record of *Cambarinicola mesochoreus* on the introduced American red swamp crayfish. Bollettino di Zoologia **61**:179-183.

Grandjean F., Gouin N., Frelon M. & Souty-Grosset C. (1998). Genetic and morphological systematic studies on the crayfish *Austropotamobius pallipes*. Journal of Crustacean Biology **18**:549-555.

Grandjean F., Harris D.J., Souty-Grosset C. & Crandall K. A. (2000). Systematic of the European endangered crayfish species *Austropotamobius pallipes* (Decapoda: Astacidae). Journal of Crustacean Biology **20**:522-529.

Grandjean F., Bouchon D. & Souty-Grosset C. (2002a). Systematic of the European endangered crayfish species *Austropotamobius pallipes* (Decapoda: Astacidae) with a re-examination of the status of *Austropotamobius berndhauseri*. Journal of Crustacean Biology **22**:677-681.

Grey H.M. (1969). Phylogeny in immunoglobulins. Advances in Immunology **10**:51-104.

Hallett L.C. & Dick M.W. (1986). Fine structure of zoospore cyst ornamentation in the Saprolegniaceae and Pythiaceae. Transactions of the British Mycological Society **86**:457-463.

Huang T., Cerenius L. & Soderhall K. (1994). Analysis of the genetic diversity in the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*, by random amplification of polymorphic DNA. Aquaculture **126**:1-10.

Johnson P.T. (1968). An annotated bibliography of pathology in invertebrates other than insects:322.

Johnson P.T. & Chapman F.A. (1969). An annotated bibliography of pathology in invertebrates other than insects. Miscellaneous Publication, Centre of Pathology, University of California:322.

Johnson P.T. (1983). Diseases caused by viruses, rickettsiae, bacteria and fungi. The Biology of Crustacea **VI**:1-78.

Kudo R.R. (1977). Protozoology. 5<sup>th</sup> ed. Springfield.

Largiadèr C.R., Herger F., Lortscher M. & Scholl, A. (2000). Assesement of natural and artificial propagation of the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes* complex) in the Alpine region with nuclear and mitochondrial marker. Molecular ecology **9**:25-37.

Laurent P.J. & Suscillon M. (1962). Les écrevisses en France. Extrait des Annales de la Station Centrale d'Hydrobiologie Appliquée **9**:35-95.

Lörtscher M., Stucki T.P., Clalüna M. & Scholl A. (1997). Phylogeographic structure of *Austropotamobius pallipes* populations in Switzerland. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture **347**:649-661.

Machino Y. (1997). Presence of signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) in Italy. L'Astaciculteur de France **52**:2-5.

Maestracci V. & Vey A. (1988). Fungal infection of gills in crayfish: histological, cytological and physiopathological aspects of the disease. Freshwater Crayfish **7**:187-194.

Martinati P. (1861). "Nota sulla malattia dei gamberi, che ammorbò le acque del veronese nel 1861". Memorie dell'Accademia d'Agricoltura Commercio ed Arti **XLI**:215-223.

Mason J.C. (1974). Crayfish production in a small woodlandstream. *Freshwater Crayfish* **2**:449-479.

Matthes D. & Guhl W. (1973). Sessile ciliaten der Flusskrebse. *Protistologica* **IX** (4):459-470.

Min H.K., Hatai K. & Bai S. (1994). Some inhibitory effects of the chitosan on fish-pathogenic oomycete, *Saprolegnia parasitica*. *Fish Pathology* **29** (2):73-77.

Molina F.I., Jong S-C. & Ma G. (1995). Molecular characterization and identification of *Saprolegnia* by restriction analysis of genes coding for ribosomal RNA. *Antonie van Leeuwenhoek* **68**:65-74.

Nardi P.A. & Razzetti E. (1998). Cenni generali sulla biologia dei gamberi d'acqua dolce presenti in Lombardia. Università degli Studi di Pavia.

Nascetti G., Andreani P., Cantucci F., Iaconelli M. & Bullini L. (1997). Struttura genetica di popolazioni italiane di gambero di fiume (*Austropotamobius pallipes*) e strategie per la sua conservazione. Società Italiana di Ecologia, *Atti* **18**:205-208.

Ninni A.P. (1865). "Sulla mortalità dei gamberi nel Veneto e più particolarmente nel Trevigiano." *Atti del Reale Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti* **10**:1203-1211.

Ninni A.P. (1885). "Sulla ricomparsa dei gamberi nel Trevigiano". Ed. L. Coppelli.

Perez J.R., Carral J.M., Celada J.D., Munoz C., Saez-Royuela M. & Antolin J.I. (1999). The possibilities for artificial incubation of white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes* Lereboullet) eggs: comparison between maternal and artificial incubation. *Aquaculture* **170**:39-35.

Pickering A.D., Willoughby L.G. & McGrory N.R. (1979). Fine structure of secondary zoospore cyst cases of *Saprolegnia* isolates from infected fish. Transactions of the British Mycological Society **72**:427-436.

Pickering A.D. & Willoughby L.G. (1982). Microbial Diseases of Fish. Academic Press:271-297.

Pop V. (1965). Systematische Revision der europäischen Branchiobdelliden (Oligocheta). Zoologische Jahrbuecher Fuer Systematik **92**:219-238.

Quaglio F., Nobile L., Rubini S., Manfrin A., Galuppi R., Tampieri M.P., Maxia M., Morolli C., Delgado M.L. & Fioravanti M.L. (2001). Indagine sanitaria in ambienti naturali del Nord Italia su gamberi d'acqua dolce alloctoni. Bollettino Società Italiana di Patologia Ittica **31**:17-34.

Santucci F., Iaconelli M. & Andreani P. (1997). Allozyme diversity of European freshwater crayfish of the genus *Austropotamobius*. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture **347**:663-676.

Scaperclaus W. (1954). Fischkrankheiten, Akademie-Verlag, Berlin:708.

Scaperclaus W., Kulow H. & Schreckenbach K. (1992). Fish Diseases **II** (5):616-625.

Schikora F. (1903). Über die Krebspest und ihren Erreger. Fischerei Zeitung **6**:353-355.

Smith R.T., Miescher P.A. & Good R.A. (1966). Phylogeny of immunity, University of Florida Press:276.

Smith V.J. & Soderhall K. (1986). Crayfish pathology: an overview. Freshwater Crayfish **6**:199-221.

Soderhall K., Dick M.W., Clark G., Furst M. & Constantinescu O. (1991). Isolation of *Saprolegnia parasitica* from the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Aquaculture* **92**:121-125.

Soderhall K., Rantamaki J. & Constantinescu O. (1993). Isolation of *Trichosporon beigelii* from the freshwater crayfish *Astacus astacus*. *Aquaculture* **116** (1):25-31.

Souty-Grosset C., Granjean F., Raimond R., Frelon M., Debenest C. & Bramard M. (1997). Conservation genetics of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*: usefulness of the mitochondrial DNA marker. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* **347**:677-692.

Souty-Grosset C., Holdich D.M., Noel P.Y., Reynolds J.D. & Haffner P. (2006). Atlas of crayfish species in Europe. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, Patrimoines naturels **64**:187.

Steinhaus E.A. (1963). Insect pathology, an advanced treatise **II**:689.

St-Germain G. & Summerbell R. (1996). Identifying filamentous fungi. A clinical laboratory handbook. Star Publishing Company, U.S.A.

Taugbol T. & Skurdal J. (1998). Forslag til forvaltningsplan for kreps. Utredning for DN 1998-1. Direktoratet for naturforvaltning, Trondheim.

Unestam T. & Weiss D.W. (1970). The host-parasite relationship between freshwater crayfish and the crayfish disease fungus *Aphanomyces astaci*: responses to infection by a susceptible and a resistant species. *Journal of General Microbiology* **60**:77-90.

Unestam T. (1973). Fungal disease of Crustacea. Review of Medical and Veterinary Mycology **8** (1):1-20.

Vey A. (1977). An epizootic infection of the eggs of *Pacifastacus leniusculus* caused by *Dictyuchus* sp. *Freshwater Crayfish* **3**:311-319.

Vinciguerra D. (1899). I gamberi d'acqua dolce. Estratto degli *Annali di Agricoltura* **219**:1-25.

Zanini D. (1999). Il gambero americano *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) nel lago di Garda: prima segnalazione. *Il Garda, l'ambiente, l'uomo*. Centro Studi per il Territorio Bonacense:31-39.