

Trota Marmorata (*Salmo marmoratus*): Una Criobanca A Tutela Della Biodiversità Della Specie

Marble Trout (Salmo marmoratus): A Cryobank To Protect Biodiversity Of The Species

Valeria Bornaghi¹, Roberta Vanni¹, Luciano Foglio¹, Lorenzo Proietti¹, Katia Parati¹, Marina Montedoro¹, Giovanni La Piana², Alessandro Benetti², Laercio Pandini³, Renato Palazzi³, Claudio Ferrari⁴, Pietro Maria Rontani⁴, Giulia Zuccon⁴, Francesco Nonnis Marzano⁴, Stefano Salviati²

¹Istituto Sperimentale Italiano “Lazzaro Spallanzani” - Via per la Tamburina - Loc. La Quercia, 26027 Rivolta d’Adda (CR) valeria.bornaghi@istitutospallanzani.it

²Aquaprogram s.r.l. - Via L. Della Robbia 48, 36100 Vicenza (VI), s.salviati@aquaprogram.it

³Agenzia Veneta per l’Innovazione nel Settore primario (ex Veneto Agricoltura) - Viale dell’Università 14, 35020 Legnaro (PD), renato.palazzi@venetoagricoltura.org

⁴Università di Parma - Parco Area delle Scienze 11/A, 43124 Parma (PR), francesco.nonnismarzano@unipr.it

Riassunto

La trota marmorata (*Salmo marmoratus*) è una specie endemica del distretto ittiogeografico Padano-Veneto e rappresenta una delle più importanti entità faunistiche nel panorama europeo, minacciata da numerose attività antropiche e dall’interazione con la trota fario. La forte contrazione, sia numerica che d’ areale, ha determinato l’inserimento di tale specie nell’allegato II della Direttiva Habitat dell’Unione Europea e nella Lista Rossa dello IUCN 2013, classificandola in “pericolo critico” (CR).

Scopo della ricerca è stato la messa a punto di un protocollo di crioconservazione finalizzato alla costituzione di una criobanca per la conservazione di materiale genetico appartenente a riproduttori classificati puri.

La purezza degli esemplari di marmorata è stata verificata con metodo genetico, andando ad amplificare il marcatore mitocondriale *Dloop* per l’identificazione dei principali aplotipi di trota (Atlantica, Marmorata, Adriatica, Mediterranea). L’identificazione degli individui ibridi è stata svolta per mezzo dell’analisi del marcatore nucleare *LDH-C1** attraverso la tecnica RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) e i primers *Ldhxon3F/Ldhxon4R*. I risultati sono stati osservati attraverso l’analisi elettroforetica su gel di agarosio al 2,5%. La diagnosi tassonomica effettuata su 66 individui ha evidenziato la presenza di 49 individui puri di trota marmorata e 17 individui ibridi.

Dai riproduttori sessualmente maturi, in parte selvatici recuperati nei tre bacini Brenta, Adige e Piave e in parte allevati presso i principali centri ittiogenici di produzione della

marmorata in Veneto, è stato prelevato materiale seminale al fine di costituire la criobanca di esemplari puri.

Il seme prelevato e diluito (1:4) in medium da conservazione è stato analizzato per motilità e concentrazione. Dopo un breve equilibramento alla temperatura di 4 °C del seme con aggiunta di extender da crioconservazione contenente DMSO al 10%, il seme è stato confezionato in paillettes da 0,5 mL tramite confezionatrice automatica e successivamente congelato con congelatore automatico programmabile Micro Digitcool (IMV Technologies) con curva di congelamento (da +4 °C a -140 °C 30,0° min).

La motilità media del materiale seminale, dopo scongelamento era di $35,5\% \pm 7,6$ (min 20 - max 50) con una durata media di movimento di circa 89 sec.

Il materiale seminale congelato di 5 riproduttori è stato testato a diverse concentrazioni (comprese in un range da 47,0 a 622,0 x 10⁶ mL) di spermatozoi mobili su lotti di circa 500 uova in pool prelevate da 28 femmine.

Il tasso di fecondazione è risultato superiore al 95% per tutte le prove effettuate (media $96,6\% \pm 0,7$), allineandosi con il controllo effettuato con seme fresco ($P > 0,05$).

La messa a punto di un protocollo di crioconservazione del seme e lo sviluppo di una criobanca in costante evoluzione, contenente il germoplasma di numerosi maschi puri a rischio estinzione, consentiranno di aumentare la dimensione della potenziale popolazione riproduttiva, garantendone nel contempo la conservazione della variabilità genetica.