

LINEE GUIDA PER
LA CONOSCENZA
E
IL CORRETTO MONITORAGGIO
DEI DECAPODI DULCICOLI
IN ITALIA



**Associazione Italiana
Ittiologi Acque Dolci**
Italian Freshwater Ichthyologists Association

Direttivo AIIAD

Presidente

LORENZONI Massimo – Università degli Studi di Perugia, Perugia

Membri

BORGHESAN Fabio – Biologo consulente, Padova

CAPUTO BARUCCHI Vincenzo – Università Politecnica delle Marche, Ancona

MAIO Giuseppe – Aquaprogram, Vicenza

NONNIS MARZANO Francesco – Università degli Studi di Parma, Parma

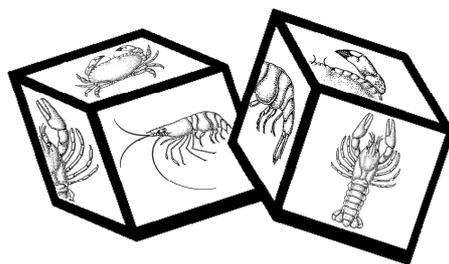
PIZZUL Elisabetta – Università degli Studi di Trieste, Trieste

SCALICI* Massimiliano – Università degli Studi Roma Tre, Roma

ZANETTI Marco – Bioprogramm, Padova

* Referente AIIAD per il Gruppo di Studio 'Decapodi d'Acqua Dolce Italiani'

Gruppo di studio A.I.I.A.D.
'Decapodi d'Acqua Dolce Italiani'
D.A.D.I.



I soci partecipanti in ordine alfabetico

1. AQUILONI Laura – Università degli Studi di Firenze
2. CARICATO Gaetano – ARPA BASILICATA, A.R.P.A.B, Matera
3. CHIESA Stefania – Università Cà Foscari, Venezia
4. CIUTTI Francesca – Fondazione Edmund Mach, S. Michele all'Adige, Trento
5. DÖRR A. J. Martin – Università di Perugia, Perugia
6. ELIA Concetta – Università di Perugia, Perugia
7. FEA Gianluca – Università degli Studi di Pavia, Pavia
8. GHIA Daniela – Università degli Studi di Pavia, Pavia
9. INGHILESI Alberto – Università degli Studi di Firenze, Firenze
10. INNOCENTI Gianna – Università degli Studi di Firenze, Firenze
11. MAZZA Giuseppe – Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Biologia, Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi per l'Economia Agraria, Centro di Ricerca Difesa e Certificazione di Firenze (CREA-DC)
12. PREARO Marino – Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, Torino
13. SCALICI Massimiliano – Università degli Studi Roma Tre, Roma
14. TRICARICO Elena – Università degli Studi di Firenze

1. Introduzione

- 1.1. Le istituzioni che si occupano di decapodi d'acqua dolce
- 1.2. Il gruppo di studio dei decapodi d'acqua dolce
- 1.3. La legislazione regionale e nazionale in materia di decapodi d'acqua dolce
- 1.4. Il significato e l'importanza delle linee guida per i decapodi d'acqua dolce

2. I decapodi dulcicoli in Italia

- 2.1. Astacoidea: i gamberi d'acqua dolce
- 2.2. Potamoidea: i granchi d'acqua dolce
- 2.3. Palaemonoidea: i gamberetti d'acqua dolce

3. La collezione di informazioni sulla presenza dei decapodi d'acqua dolce

- 3.1. La raccolta delle segnalazioni storiche sui decapodi d'acqua dolce
- 3.2. L'uso delle segnalazioni dei decapodi d'acqua dolce
- 3.3. L'uso di piattaforme informatiche per la segnalazione rapida di decapodi d'acqua dolce
- 3.4. Sopralluoghi in siti potenzialmente ospitanti decapodi d'acqua dolce

4. La fase preparatoria all'attività di campo

- 4.1. L'individuazione e la contestualizzazione dell'area di studio
- 4.2. L'equipaggiamento di base per le attività di campo
- 4.3. La richiesta di permessi agli organi competenti
- 4.4. L'organizzazione del calendario delle attività di campionamento

5. La caratterizzazione degli ambienti indagati

- 5.1. La georeferenziazione dei siti di campionamento
- 5.2. La descrizione dell'area di campionamento
- 5.3. La valutazione dell'impatto antropico
- 5.4. La raccolta dei parametri ambientali

6. I metodi di campionamento dei decapodi d'acqua dolce

- 6.1. La cattura a mano e il trappolamento con esca
- 6.2. L'importanza della standardizzazione dei metodi di campionamento
- 6.3. La manipolazione degli esemplari a seguito della cattura
- 6.4. L'uso dei metodi di marcatura/ricattura
- 6.5. Il trattamento delle specie alloctone

7. I patogeni e i parassiti dei decapodi d'acqua dolce

- 7.1. L'identificazione degli agenti patogeni
- 7.2. L'equipaggiamento per il prelievo di campioni biotici per il monitoraggio dei patogeni
- 7.3. La diagnosi dei campioni
- 7.4. La prevenzione della diffusione

8. La genetica molecolare per i decapodi d'acqua dolce

- 8.1. La genetica della conservazione e le principali tecniche di genetica molecolare
- 8.2. La genetica molecolare nello studio dei decapodi d'acqua dolce
- 8.3. L'equipaggiamento per il prelievo dei campioni biotici
- 8.4. Il prelievo non invasivo per la creazione di una banca dati di DNA
- 8.5. L'estrazione e la purificazione del DNA genomico ad alto peso molecolare
- 8.6. Alcune problematiche specifiche
 - L'identificazione molecolare dei decapodi alloctoni
 - L'identificazione di linee filogenetiche intraspecifiche di decapodi d'acqua dolce autoctoni

- La genetica di popolazione per i decapodi d'acqua dolce di interesse conservazionistico
8.7. Le prospettive future: le tecniche di Next Generation Sequencing (NGS)

9. Riferimenti bibliografici

10. Allegati

- La scheda di segnalazione dei decapodi d'acqua dolce
- La scheda di monitoraggio dei decapodi d'acqua dolce
- La scheda di monitoraggio dell'ambiente
- Schede sintetiche dei decapodi d'acqua dolce

1. INTRODUZIONE

1.1. Le istituzioni che si occupano di decapodi d'acqua dolce

Le principali istituzioni che, sotto diversi aspetti, si occupano di decapodi d'acqua dolce coprono gran parte del territorio nazionale (Fig. 1.1). L'integrazione dell'eterogeneità delle competenze riscontrabili nei differenti istituti garantisce l'attivazione di una rete di esperti più efficiente nello studio e nel monitoraggio delle popolazioni di decapodi d'acqua dolce.



Figura 1.1. Distribuzione dei principali istituti nazionali che si occupano di fornire gli strumenti conoscitivi adeguati per una corretta gestione e conservazione dei decapodi dulcicoli: 1) Fondazione Edmund Mach di S. Michele all'Adige (Trento); 2) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta di Torino; 3) Università degli Studi di Pavia; 4) Università degli Studi di Firenze; 5) Università di Perugia; 6) Università degli Studi Roma Tre di Roma; 7) ARPA Basilicata di Matera.

In caso di infezioni legate ad agenti patogeni e/o parassiti, gli esperti di questo gruppo di lavoro possono ricevere il supporto tecnico e scientifico di addetti al settore dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie di Padova.

1.2. Il gruppo di studio dei decapodi d'acqua dolce

Il gruppo di studio dei decapodi d'acqua dolce proposto e realizzato all'interno dell'Associazione Italiana Ittiologi Acqua Dolci ha come principale obiettivo quello di studiare e migliorare la conoscenza di tutti gli aspetti della biologia di gamberi, gamberetti, e granchi d'acqua dolce autoctoni e alloctoni, che attualmente vivono negli ambienti lentici e lotici italiani, promuovendo allo stesso tempo la formazione di una rete di esperti che garantisca un'adeguata diffusione di corrette informazioni utili e fruibili non solo in attività gestionali dalle autorità competenti locali e nazionali, ma anche dai non addetti al settore. Il gruppo si occupa di investigare sulla tassonomia, sistematica, zoogeografia, ecologia, etologia, fisiologia, anatomia, genetica, conservazione (delle native) e gestione (delle aliene) dei decapodi dulciacquicoli presenti in Italia. L'esigenza di approfondire la

conoscenza di questo ordine in ogni suo aspetto nasce dalla consapevolezza che molte specie rappresentano un patrimonio ecologico (in quanto specie chiave di habitat bentonici), faunistico (alcuni taxa sono interessanti casi di endemismo peninsulare), biogeografico (l'intero ordine presenta singolari modelli di dispersione, migrazione e vicarianza) ed evolutivo (sono presenti stimolanti casi-studio di fenomeni di radiazione adattativa legati ad una particolare valenza ecologica). Anche da un punto di vista applicativo, i decapodi dulciacquicoli presentano un particolare doppio aspetto legato alla conservazione degli ambienti acquatici: se da un lato alcune specie possono essere considerate come valenti indicatori biologici, dall'altro possiamo annoverare molte specie aliene invasive, la cui gestione è obbligatoria secondo le recenti normative europee e nazionali e richiede un'attenta analisi ecologica, economica e culturale, al fine di valutare gli effetti di queste specie su ambiente, attività economiche e salute umana. Quindi il gruppo di lavoro si propone di mettere in rilievo le conoscenze di base dei decapodi d'acqua dolce per proporre nuove e funzionali tecniche di monitoraggio e innovare così le strategie gestionali finora adottate, condividendo e integrando le proprie conoscenze con quelle di coloro che (sia all'interno che all'esterno dell'Associazione) intendano contribuire a realizzare un approccio il più possibile interdisciplinare.

1.3. La legislazione regionale e nazionale in materia di decapodi d'acqua dolce

La prima normativa europea specifica per la conservazione della fauna e flora selvatica e dei suoi biotopi in Europa è la Convenzione di Berna (Consiglio d'Europa, Berna 19/9/1979), ratificata dall'Italia l'11/2/1982 ed entrata in vigore il 1/6/1982 con l'emanazione della Legge n. 503 del 5/8/1981. I crostacei dulcicoli (*Astacus astacus*, *Austropotamobius pallipes*, *Austropotamobius torrentium*) sono elencati nell'Appendice III (Specie di fauna protette). In seguito, il 21/5/1992 è stata approvata dalla Commissione Europea la Direttiva n. 92/43/CEE relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche, dove *Austropotamobius pallipes*, *Austropotamobius torrentium* e *Astacus astacus* vengono elencati negli Allegati II (Specie animali e vegetali d'interesse comunitario la cui conservazione richiede la designazione di zone speciali di conservazione) e V (Specie animali e vegetali di interesse comunitario il cui prelievo nella natura e il cui sfruttamento potrebbero formare oggetto di misure di gestione). Ancora oggi però il nostro Paese risulta inadempiente nella sua applicazione. In mancanza di una legge nazionale sulla fauna non omeoterma, diverse regioni hanno emesso normative specifiche per la protezione della cosiddetta "fauna minore". Alcune di esse regolamentano solamente la cattura e il commercio senza finalità di conservazione verso le popolazioni ed i loro habitat. Dal 1973, senza uniformità e chiarezza, diverse Regioni italiane hanno promulgato apposite normative per la protezione della piccola fauna, ma queste normative sono spesso non aggiornate oppure mancanti di precisi elenchi delle specie e di uniformi modalità di applicazione e controllo. Sul territorio nazionale, la specie maggiormente protetta è il gambero *Au. pallipes*, in *secundis* *As. astacus* e *Potamon fluviatile* (Tab. 1). Solo in 3 regioni (Abruzzo, Emilia Romagna e Toscana) il gamberetto di fiume *Palaemon antennarius*¹ è tra le specie protette. Non è mai elencato l'altro gamberetto *Atyaephyra desmarestii*.

Tabella 1. Normative regionali di tutela dei crostacei decapodi autoctoni.

Regione	Normativa	Testo/dettaglio
Abruzzo	L.R. 44/1985 - Tutela e incremento della fauna ittica nelle acque interne. Norme per l'esercizio della pesca. L.R. 50/1993 - Primi interventi per la difesa della biodiversità nella	Art. 2 <i>Elencazione della fauna oggetto di protezione</i> Sono oggetto di tutela le sottoelencate specie e raggruppamenti faunistici: <i>Austropotamobius pallipes</i> (gambero di fiume) <i>Potamon fluviatile</i> (granchio di fiume) <i>Palaemonetes antennarius</i> (gamberetto di fiume).

¹ Il recente lavoro di De Grave & Ashelby (2013) ha dimostrato che il genere *Palaemonetes* è sinonimo del genere *Palaemon*, non essendo basato su valide differenze morfologiche tra i due. Nella normativa permane l'identificazione come *Palaemonetes antennarius*.

	<p>Regione Abruzzo: tutela della fauna cosiddetta minore.</p> <p>L.R. 59/2010 - Disposizioni per l'adempimento degli obblighi della Regione Abruzzo, derivanti dall'appartenenza dell'Italia all'Unione Europea. Attuazione delle Direttive 2006/123/CE e 2006/7/CE. Titolo VI (Attuazione della direttiva 92/43/CE).</p>	<p>Art. 6 <i>Tutela dei gamberi</i></p> <p>Per la detenzione e commercializzazione dei gamberi d'importazione o d'allevamento i vivaisti devono munirsi di un apposito registro di carico e scarico da esibire, a richiesta, agli organi di controllo.</p> <p>Vanno documentati allevamento d'origine o Paese d'importazione nonché quantitativi e date d'acquisto, ditta che esegue la commercializzazione al dettaglio nonché le date ed i quantitativi di venduti e generalità degli acquirenti.</p>
Basilicata	<p>L.R. 2/1995 - Norme per la protezione della fauna selvatica e per il prelievo venatorio.</p> <p>L.R. 24/2000 - Tutela e sviluppo della fauna ittica e regolamentazione della pesca nelle acque pubbliche interne della Basilicata.</p>	<p>Nessuna normativa specifica sui Crostacei Decapodi.</p>
Bolzano, prov. autonoma	<p>L.P. 27/1973 - Norme per la protezione della fauna.</p> <p>L.P. 28/1978 concernente la pesca.</p> <p>Decreto del Presidente della Provincia 19/2001 - Regolamento relativo alla pesca. Allegato A: Elenco delle specie protette.</p>	<p>1973 - tutelato il gambero <i>Astacus astacus</i>.</p> <p>1978 e 2001 - Il gambero di torrente <i>Austropotamobius pallipes italicus</i> e il gambero di fiume <i>Astacus astacus</i> sono specie protette durante tutto l'anno.</p>
Calabria	<p>L.R. 9/1996 - Norme per la tutela e la gestione della fauna selvatica e l'organizzazione del territorio ai fini della disciplina programmata dell'esercizio venatorio.</p> <p>L.R. 29/2001 - Norme per l'esercizio della pesca degli osteitti e per la protezione e l'incremento della fauna nelle acque interne della Regione Calabria.</p>	<p>Nessuna normativa specifica sui Crostacei Decapodi.</p>
Campania	<p>L.R. 26/2012 - Norme per la protezione della fauna selvatica e disciplina dell'attività venatoria in Campania.</p> <p>L.R. 12/2013 - Modifiche alla L.R. 26/2012 (norme per la protezione della fauna selvatica e disciplina dell'attività venatoria in Campania).</p> <p>D.M. 19/11/1997 - Designazione e classificazione delle acque dolci della regione Sicilia e della regione Campania che necessitano di protezione o di miglioramento per essere idonee alla vita dei pesci.</p>	<p>Nessuna normativa specifica sui Crostacei Decapodi.</p> <p>Nel D.M. viene elencato, tra le specie da tutelare nel fiume Bussento (prov. di Salerno), il gambero di fiume <i>Austropotamobius pallipes</i>.</p>
Emilia Romagna	<p>R.R. 29/1993 - Attrezzi e modalità di uso consentiti per la pesca.</p> <p>Periodi di divieto di pesca delle</p>	<p>Per il gambero (<i>Austropotamobius pallipes italicus</i>): divieto di cattura periodo 1/1-31/12.</p>

	<p>specie ittiche nelle acque interne dell'Emilia-Romagna, abrogata da L.R. 11/1993 - Norme per la tutela della fauna ittica e dell'ecosistema acquatico e per la disciplina della pesca, dell'acquacoltura e delle attività connesse nelle acque interne.</p> <p>L.R. 15/2006 - Disposizioni per la tutela della fauna minore in Emilia-Romagna.</p>	<p>Particolarmente protette le specie in Allegati II e IV della Direttiva 92/43/CEE.</p> <p>All. E, L.R. 15/2006 - Elenco ragionato della "fauna minore" dell'Emilia-Romagna, in elenco: <i>Palaemonetes antennarius</i> (gamberetto di fiume) <i>Austropotamobius pallipes</i> (gambero di fiume) <i>Potamon fluviatile</i> (granchio di fiume).</p>
Friuli Venezia-Giulia	<p>L.R. 19/1971 - Articolo 6 bis aggiunto da art. 2, comma 77.</p> <p>L.R. 27/2012 - Tutela del gambero di acqua dolce.</p>	<p>Tutela delle popolazioni di gamberi di acqua dolce appartenenti alla fauna regionale, l'Ente Tutela Pesca promuove e attua iniziative di prevenzione e di contrasto alla diffusione delle specie invasive di gamberi.</p>
Lazio	<p>L.R. 18/1988 - Tutela di alcune specie della fauna minore.</p>	<p>Art. 3 - È vietata l'uccisione, la cattura, il trasporto ed il commercio dei gamberi d'acqua dolce (<i>Austropotamobius pallipes italicus</i>) e dei granchi di acqua dolce (<i>Potamon fluviatile fluviatile</i>) non provenienti da allevamento.</p>
Liguria	<p>L.R. 4/1992 - Tutela della fauna minore abrogata dall'art. 21 L.R. 28/2009 - Disposizioni in materia di tutela e valorizzazione della biodiversità</p>	<p>Vietato danneggiare e uccidere intenzionalmente nonché molestare catturare detenere e commerciare le seguenti specie: - Gambero di fiume (<i>Austropotamobius pallipes</i>) Allegato C (Art. 16) Granchio di fiume (<i>Potamon fluviatile</i>)</p> <p>Inoltre sono considerate protette tutte le specie animali ricomprese negli allegati II e IV della direttiva 92/43/CEE e successive modifiche ed integrazioni.</p>
Lombardia	<p>L.R. 33/1977 - Provvedimenti in materia di tutela ambientale ed ecologica, abrogata da L.R. 10/2008 - Disposizioni per la tutela e la conservazione della piccola fauna, della flora e della vegetazione spontanea.</p>	<p>Art. 3 -la cattura, il trasporto ed il commercio di gamberi d'acqua dolce (<i>Astacus fluviatilis</i>) sono vietati. Vietati l'uccisione, la cattura, il trasporto e la detenzione a qualsiasi fine di gamberi di fiume autoctoni (genere <i>Austropotamobius</i>).</p>
Marche	<p>L.R. 28/1983 - Norme per l'incremento e la tutela della fauna ittica e per la disciplina della pesca nelle acque interne, abrogata da L.R. 11/2003 - Norme per l'incremento e la tutela della fauna ittica e disciplina della pesca nelle acque interne.</p> <p>L.R. 12/2003 - Tutela delle risorse genetiche animali e vegetali del territorio marchigiano.</p>	<p>Vietata la cattura e il commercio di esemplari delle seguenti specie ittiche aventi lunghezza inferiore a [...] gambero cm 7.</p> <p>Vietata la pesca delle seguenti specie ittiche nei periodi [...] gambero 1° aprile – 30 giugno.</p> <p>Nessuna normativa sul gambero: non è stato compilato l'elenco delle specie sottoposte a tutela. Nella proposta dell'elenco da compilare, in Tabella 2 (Le specie della "piccola fauna") è inserito anche il Gambero di fiume o Gambero dai piedi bianchi (<i>Austropotamobius pallipes</i> = <i>Austropotamobius italicus</i>)</p> <p>Il granchio di fiume è elencato nella L.R. 11/2003 tra le specie pescabili.</p>
Molise	<p>L.R. 28/1996 Tutela di alcune specie di fauna minore.</p> <p>L.R. 7/1998 - Norme per la protezione e l'incremento della fauna ittica e per l'esercizio della</p>	<p>L.R. 28/1996 - Art. 5</p> <p>È vietata l'uccisione, la cattura, il trasporto ed il commercio dei gamberi d'acqua dolce (<i>Austropotamobius pallipes italicus</i>) e dei granchi di acqua dolce, non provenienti da allevamento.</p> <p>Art. 7 - Disposizioni</p>

	pesca nelle acque interne, e relative modifiche ed integrazioni.	<p>Gli allevamenti di rane, chiocciole, gamberi e granchi d'acqua dolce sono soggetti ad autorizzazione del Sindaco del Comune competente per territorio. Il Comune ne esercita il controllo sanitario e tecnico e ne vieta l'esercizio quando l'impianto e la conduzione non corrispondano ai requisiti di igiene e di efficienza.</p> <p>Art. 29 L.R. 7/1998 - gambero: è sempre vietata la pesca.</p>
Piemonte	L.R. 32/1982 - Norme per la conservazione del patrimonio naturale e dell'assetto ambientale.	Vietata la cattura, il trasporto il commercio e la detenzione per la vendita di gamberi d'acqua dolce (<i>Astacus astacus</i> e <i>Austropotamobius pallipes</i>).
Puglia	L.R. 27/1998 - Norme per la protezione della fauna selvatica omeoterma, per la tutela e la programmazione delle risorse faunistico-ambientali e per la regolamentazione dell'attività venatoria.	Tutelate e protette [...] tutte le altre specie che direttive comunitarie o convenzioni internazionali o apposito decreto del Presidente del Consiglio dei ministri indicano come minacciate di estinzione.
Sardegna	L.R. 23/1998 - Norme per la protezione della fauna selvatica e per l'esercizio della caccia in Sardegna.	Nessuna normativa specifica sui Crostacei Decapodi.
Sicilia	L.R. 33/1997 - Norme per la protezione, la tutela e l'incremento della fauna selvatica e per la regolamentazione del prelievo venatorio.	Nessuna normativa specifica sui Crostacei Decapodi.
Toscana	<p>L.R. 56/2000 - Norme per la conservazione e la tutela degli habitat naturali, seminaturali, della flora e della fauna selvatiche.</p> <p>Regolamento di attuazione: L.R. 7/2005 – Gestione delle risorse ittiche e regolamentazione della pesca nelle acque interne.</p> <p>L.R. 30/2015 - Norme per la conservazione e la valorizzazione del patrimonio naturalistico-ambientale regionale. Modifiche alla L.R. 24/1994 , alla L.R. 65/1997 , alla L.R. 24/2000 ed alla L.R. 10/2010 .</p>	<p>Allegato A - Habitat naturali e seminaturali e specie animali e vegetali di interesse regionale, la cui conservazione può richiedere la designazione di SIR - (2 – Lista delle specie animali) <i>Austropotamobius pallipes</i></p> <p>Allegato B - Specie animali protette ai sensi della presente legge <i>Palaemonetes antennarius, Potamon fluviatile</i></p> <p>È vietata la pesca del gambero italiano.</p>
Trento, prov. autonoma	<p>L.P. 27/1973 – Norme per la protezione della fauna.</p> <p>Decreto del Presidente della Provincia 31 dicembre 2004, n. 20-30/Leg. - Modifica del decreto del Presidente della Giunta provinciale 3 dicembre 1979 n.22-18/Legisl. (Regolamento di esecuzione della legge provinciale 12 dicembre 1978, n. 60 recante 'Norme per l'esercizio della pesca nella provincia di Trento')</p>	<p>Specie protetta il gambero <i>Astacus astacus</i>.</p> <p>Per il gambero d'acqua dolce <i>Austropotamobius pallipes italicus</i> è previsto il divieto di pesca dal 1° aprile al 30 giugno; la misura minima di cattura è di 7 cm.</p>

Umbria	L.R. 44/1998 - Norme per la tutela e lo sviluppo del patrimonio ittico regionale, la salvaguardia degli ecosistemi acquatici e l'esercizio della pesca. R.R. 5/2001 - Disciplina dell'attività di pesca nelle acque interne, abrogata da L.R. 15/2008 - Norme per la tutela e lo sviluppo del patrimonio ittico regionale, la salvaguardia degli ecosistemi acquatici, l'esercizio della pesca professionale e sportiva e dell'acquacoltura. R.R. 2/2011 - Disciplina dell'attività di pesca professionale e sportiva nelle acque interne.	Art. 8 - Su tutto il territorio regionale vige il divieto assoluto di pesca alle seguenti specie: gambero di fiume italiano (<i>Austropotamobius pallipes italicus</i>) granchio di fiume (<i>Potamon edule</i>) ² Art. 9 - È consentita la pesca del gamberetto (<i>Palaemonetes antennarius</i>) per i soli fini dell'innesco sia per la pesca professionale che sportiva.
Valle d'Aosta	L.R. 16/1977 - Norme per la disciplina della raccolta dei funghi e per la tutela di alcune specie della fauna inferiore e della flora, prorogata da L.R. 32/1980, modificata e integrata da L.R. 4/1985 - Calendario Ittico dal 1998.	Per un periodo di tre anni dall'entrata in vigore della presente legge è vietata la cattura di tutte le specie [...] e del genere <i>Astacus</i> (gambero). Vietata la cattura di tutte le specie [...] e del genere <i>Astacus</i> (gambero). È vietata la pesca del gambero.
Veneto	L.R. 19/1998 - Norme per la tutela delle risorse idrobiologiche e della fauna ittica e per la disciplina dell'esercizio della pesca nelle acque interne e marittime interne della Regione Veneto, e modifiche della L.R. 4/2009.	Le lunghezze minime dei pesci per esercitare la pesca, la compravendita, la detenzione e lo smercio nei pubblici esercizi sono le seguenti: [...] gambero di fiume <i>Austropotamobius pallipes italicus</i> : cm 10. Al fine di consentire uniformemente la corretta coltivazione delle acque, finalizzata in particolare alla salvaguardia e alla tutela delle epoche di riproduzione ittica, la pesca è vietata nei seguenti periodi rispettivamente per: [...] g) Gambero di fiume dal 1° ottobre al 30 giugno. [...] al fine di favorire in particolare la lotta al "gambero rosso della Louisiana".

Per quanto riguarda le specie alloctone, l'Italia con il D.L. 230/2017 ha inoltre recepito il regolamento europeo 1143/2014 recante disposizioni volte a prevenire e gestire l'introduzione e la diffusione delle specie esotiche invasive, considerate come una delle principali minacce alla biodiversità. Tra i decapodi considerati specie esotiche invasive possiamo annoverare: il granchio cinese *Eriocheir sinensis* (ad oggi non segnalato nelle acque dolci italiane), il gambero americano *Faxonius limosus*, il gambero della California *Pacifastacus leniusculus*, il gambero rosso della Louisiana *Procambarus clarkii* e il gambero marmorato *Procambarus fallax* f. *virginialis*.

- *Normativa specifica sul gambero di fiume Austropotamobius pallipes*

Il gambero di fiume, *Austropotamobius pallipes*, è una specie protetta a diversi livelli; è iscritto nella Lista Rossa dello IUCN dove è classificato dal 2010 come specie *endangered* - a rischio di estinzione (Füreder et al., 2010), così come è protetto dalla Direttiva comunitaria 92/43/CEE "Habitat" che lo qualifica come *specie di interesse comunitario per la quale devono essere adottate misure speciali di conservazione* (Allegato II) e come *specie assoggettabile a prelievi coerenti con specifici piani di gestione* (Allegato V). A livello nazionale, leggi specifiche (alcune di recepimento della normativa comunitaria e internazionale) impongono all'Italia (e di riflesso alle istituzioni competenti) di mettere

² *Potamon edule* è un sinonimo di *Potamon fluviatile*.

in atto strategie per la tutela e la conservazione di questo importantissimo componente della cosiddetta “fauna minore”. Di seguito si riporta una trattazione delle principali leggi comunitarie, europee e italiane da conoscere per affrontare, pianificare ed attuare interventi finalizzati alla conservazione delle popolazioni di *A. pallipes*.

- Disposizioni e normative internazionali

La tutela e la conservazione dei decapodi d’acqua dolce rientrano nel quadro più ampio delle normative per la protezione dell’ambiente e della biodiversità. Tra le principali (Tab. 2): 1) la **Convenzione di Ramsar** per la tutela delle zone umide di importanza internazionale è stata firmata a Ramsar, in Iran, il 2 febbraio 1971; 2) la **Convenzione di Washington** (CITES) sul commercio internazionale delle specie animali e vegetali selvatiche minacciate di estinzione, è stata sottoscritta a Washington il 3 marzo 1973; 3) la **Convenzione di Berna** relativa alla conservazione della vita selvatica e dell’ambiente naturale in Europa è stata adottata il 19 settembre 1979; 4) la **Convenzione sulla Diversità Biologica** (CDB) è una delle tre Convenzioni definite in occasione del Summit di Rio de Janeiro, tenutosi dal 3 al 14 giugno 1992.

Oltre ai provvedimenti normativi con i quali sono state ratificate e rese esecutive le Convenzioni internazionali (Tab. 2), l’Italia ha promulgato la Legge Quadro sulle aree protette, n. 394 del 6/12/1991, e ha recepito la Direttiva europea “Habitat” mediante l’adozione del D.P.R. 8 settembre 1997, n. 357 “Regolamento recante attuazione della direttiva 92/43/CEE relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali, nonché della flora e della fauna selvatiche”, modificato ed integrato dal D.P.R. 12 marzo 2003, n. 120. Anche se non ascrivibile alla sfera normativa, particolare importanza riveste il Quaderno n. 27 del Ministero dell’Ambiente e della tutela del territorio e del Mare “Linee guida per l’immissione di specie faunistiche”. Di particolare interesse è anche la Direttiva n.43 del 1992 "Habitat " relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche. Assieme alla Direttiva “Uccelli”, la Direttiva Habitat è lo strumento normativo più importante per la conservazione degli habitat naturali e seminaturali, della flora e della fauna selvatiche. Questa Direttiva prevede anche la costituzione della “Rete Natura 2000”, un network di aree protette che collega e tutela tutti i Siti d’Importanza Comunitaria (SIC) e le zone di protezione speciale (ZPS) classificate dagli stati membri a norma della direttiva 79/409/CEE (Art. 3). La Rete Natura 2000 rappresenta circa il 18% del territorio UE, con oltre 26.000 aree in tutti gli Stati membri (http://ec.europa.eu/environment/nature/index_en.htm) (AA.VV. 2007).

Tabella 2. Leggi di ratifica delle Convenzioni internazionali.

Convenzione/Direttiva	Data di adozione	Italia - Legge di ratifica
Convenzione di Ramsar	2 febbraio 1971, Ramsar (Iran)	DPR n. 448 del 13 marzo 1976 DPR n. 184 dell'11 febbraio 1987
Convenzione di Washington	3 marzo 1973, Washington (America)	Legge 19 dicembre 1975, n. 874
Convenzione di Berna	19 settembre 1979, Berna (Svizzera)	Legge 5 agosto 1981, n. 503
Convenzione sulla Diversità Biologica	5 giugno 1992, Rio de Janeiro (Brasile)	Legge 14 febbraio 1994, n. 124

- Disposizioni normative e regolamenti regionali

Con il D.P.R. 616 del 1977, sono state trasferite dallo Stato alle Regioni le competenze in materia di pesca; ciascuna Regione, pertanto, negli ambiti territoriali di propria competenza, detta specifiche norme per la tutela e la salvaguardia/incremento della fauna ittica, svolgendo un ruolo di indirizzo e coordinamento sulla gestione delle acque interne e sulla disciplina della pesca. Ad esse è affidata anche la gestione dei ripopolamenti ittici, l’aggiornamento della carta ittica (se non realizzata a livello regionale), e la determinazione dei calendari ittici. Nella Tab. 3 si riportano le principali norme regionali, vigenti e applicate in passato.

Tabella 3. Normativa regionale di tutela dei gamberi di fiume autoctoni.

Regione	Normativa	Testo/Dettaglio
Abruzzo	L.R. 44/1985 - Tutela e incremento della fauna ittica nelle acque interne. Norme per l'esercizio della pesca. L.R. 50/1993 - Primi interventi per la difesa della biodiversità nella Regione Abruzzo: tutela della fauna cosiddetta minore, integrata dalla L.R. 59/2010 "Disposizioni per l'adempimento degli obblighi della Regione Abruzzo, derivanti dall'appartenenza dell'Italia all'Unione Europea. Attuazione delle Direttive 2006/123/CE e 2006/7/CE. Titolo VI (Attuazione della direttiva 92/43/CE).	Gambero specie pescabile, lunghezza minima 9 cm. <i>Austropotamobius pallipes</i> è specie oggetto di tutela
Bolzano, Prov. Autonoma	L.P. 27/1973 - Norme per la protezione della fauna. L.P. 28/1978 - Decreto del Presidente della Provincia 19/2001 Regolamento relativo alla pesca, Allegato A: Elenco delle specie protette	Tutelato il gambero - <i>Astacus astacus</i> . Il gambero di torrente <i>Austropotamobius pallipes italicus</i> e il gambero di fiume <i>Astacus astacus</i> sono specie protette durante tutto l'anno
Emilia Romagna	R.R. 29/1993 - Attrezzi e modalità di uso consentiti per la pesca. Periodi di divieto di pesca delle specie ittiche nelle acque interne dell'Emilia-Romagna, abrogata da L.R. 11/1993 Norme per la tutela della fauna ittica e dell'ecosistema acquatico e per la disciplina della pesca, dell'acquacoltura e delle attività connesse nelle acque interne. L.R. 15/2006 - Disposizioni per la tutela della fauna minore in Emilia-Romagna.	Gambero (<i>Austropotamobius pallipes italicus</i>): divieto di cattura periodo 1/1 – 31/12. Particolarmente protette le specie in Allegati II) e IV) della Direttiva 92/43/CEE.
Friuli Venezia Giulia	L.R. 9/1971 Articolo 6 bis aggiunto da art. 2, comma 77, L.R. 27/2012 - Tutela del gambero di acqua dolce	Tutela delle popolazioni di gamberi di acqua dolce appartenenti alla fauna regionale, l'Ente Tutela Pesca promuove e attua iniziative di prevenzione e di contrasto alla diffusione delle specie invasive di gamberi.
Lazio	L.R. 18/1988 - Tutela di alcune specie della fauna minore.	Vietata l'uccisione, la cattura, il trasporto ed il commercio dei gamberi d'acqua dolce (<i>Austropotamobius pallipes italicus</i>) [...] non provenienti da allevamento.
Liguria	L.R. 4/1992 - Tutela della fauna minore abrogata da L.R. 28/2009 - Disposizioni in materia di tutela e valorizzazione della biodiversità	Vietato danneggiare e uccidere intenzionalmente nonché molestare, catturare, detenere e commerciare le seguenti specie: - Gambero di fiume (<i>Austropotamobius pallipes</i>). sono considerate protette tutte le specie animali ricomprese negli allegati II e IV della direttiva 92/43/CEE e successive modifiche ed integrazioni.
Lombardia	L.R. 10/2008 - Disposizioni per la tutela e la conservazione della piccola fauna, della flora e della vegetazione spontanea (art. 3 - conservazione degli invertebrati).	Vietati l'uccisione, la cattura, il trasporto e la detenzione a qualsiasi fine di gamberi di fiume autoctoni (genere <i>Austropotamobius</i>). Consentite la cattura e la detenzione delle specie (<i>Austropotamobius italicus</i> e <i>Austropotamobius pallipes</i>) ai soli fini di ricerca e per progetti di reintroduzione, previa autorizzazione corredata dal progetto di ricerca o di reintroduzione, ai sensi dell'art.8.
Marche	L.R. 28/1983 - Norme per l'incremento e la tutela della fauna ittica e per la disciplina della pesca nelle acque interne, abrogata da L.R. 11/2003 - Norme per	Vietata la cattura e il commercio di esemplari delle seguenti specie ittiche aventi lunghezza inferiore a [...] gambero cm 7. vietata la pesca delle seguenti specie ittiche nei periodi [...] gambero 1° aprile – 30 giugno.

	l'incremento e la tutela della fauna ittica e disciplina della pesca nelle acque interne. L.R. 12/2003 - Tutela delle risorse genetiche animali e vegetali del territorio marchigiano.	nessuna normativa sul gambero: non è stato compilato l'elenco delle specie sottoposte a tutela. Nella proposta dell'elenco da compilare, in Tab. 2 (Le specie della "piccola fauna") è inserito anche il Gambero di fiume o Gambero dai piedi bianchi (<i>Austropotamobius pallipes</i> = <i>Austropotamobius italicus</i>)
Molise	L. R. 7/1998 - Norme per la protezione e l'incremento della fauna ittica e per l'esercizio della pesca nelle acque interne, e relative modifiche ed integrazioni.	<i>Gambero</i> : è sempre vietata la pesca
Piemonte	L.R. 32/1982 - Norme per la conservazione del patrimonio naturale e dell'assetto ambientale.	Vietata la cattura, il trasporto il commercio e la detenzione per la vendita di gamberi d'acqua dolce (<i>Astacus astacus</i> e <i>Austropotamobius pallipes</i>)
Puglia	L.R. 27/1998 - Norme per la protezione della fauna selvatica omeoterma, per la tutela e la programmazione delle risorse faunistico-ambientali e per la regolamentazione dell'attività venatoria	Tutelate e protette [...] tutte le altre specie che direttive comunitarie o convenzioni internazionali o apposito decreto del Presidente del Consiglio dei ministri indicano come minacciate di estinzione.
Toscana	L.R. 56/2000 - Norme per la conservazione e la tutela degli habitat naturali, seminaturali, della flora e della fauna selvatiche. Regolamento di attuazione L.R. 7/2005 - Gestione delle risorse ittiche e regolamentazione della pesca nelle acque interne.	<i>Austropotamobius pallipes</i> elencato come specie animale di interesse regionale, la cui conservazione può richiedere la designazione di siti di interesse regionale È vietata la pesca del <i>gambero italicus</i> .
Trento, prov. Autonoma	L.P. 27/1973 - Norme per la protezione della fauna. Decreto del Presidente della Provincia 31 dicembre 2004, n. 20-30/Leg. - Modifica del decreto del Presidente della Giunta provinciale 3 dicembre 1979 n. 22-18/Legisl. (Regolamento di esecuzione della legge provinciale 12 dicembre 1978, n. 60 recante 'Norme per l'esercizio della pesca nella provincia di Trento')	Specie protetta il gambero <i>Astacus astacus</i> Per il gambero d'acqua dolce <i>Austropotamobius pallipes italicus</i> è previsto il divieto di pesca dal 1° aprile al 30 giugno; la misura minima di cattura è di 7 cm.
Umbria	L.R. 44/1998 - Norme per la tutela e lo sviluppo del patrimonio ittico regionale, la salvaguardia degli ecosistemi acquatici e l'esercizio della pesca. R.R. 5/2001 - Disciplina dell'attività di pesca nelle acque interne, abrogata da L.R. 15/2008 - Norme per la tutela e lo sviluppo del patrimonio ittico regionale, la salvaguardia degli ecosistemi acquatici, l'esercizio della pesca professionale e sportiva e dell'acquacoltura. R.R. 2/2011 - Disciplina dell'attività di pesca professionale e sportiva nelle acque interne	Su tutto il territorio regionale vige il divieto assoluto di pesca alle seguenti specie: a) gambero di fiume italiano (<i>Austropotamobius pallipes italicus</i>)
Valle D'Aosta	L.R. 16/1977 - Norme per la disciplina della raccolta dei funghi e per la tutela di alcune specie della fauna inferiore e della flora, prorogata da L.R. 32/1980, modificata e integrata da L.R. 4/1985 Calendario Ittico dal 1998	Per un periodo di tre anni dall'entrata in vigore della presente legge è vietata la cattura di tutte le specie [...] e del genere <i>Astacus</i> (gambero). Vietata la cattura di tutte le specie [...] e del genere <i>Astacus</i> (gambero). È vietata la pesca del <i>gambero</i>
Veneto	L.R. 19/1998 - Norme per la tutela delle risorse idrobiologiche e della fauna ittica e per la disciplina dell'esercizio della pesca nelle acque interne e marittime	Le lunghezze minime dei pesci per esercitare la pesca, la compravendita, la detenzione e lo smercio nei pubblici esercizi sono le seguenti: [...] gambero di fiume <i>Austropotamobius pallipes italicus</i> : cm 10. Al fine di

interne della Regione Veneto, e
modifiche della L.R. 4/2009

consentire uniformemente la corretta coltivazione delle
acque, finalizzata in particolare alla salvaguardia e alla
tutela delle epoche di riproduzione ittica, la pesca è
vietata nei seguenti periodi rispettivamente per: [...] g)
Gambero di fiume dal 1° ottobre al 30 giugno.
[...] al fine di favorire in particolare la lotta al “gambero
rosso della Louisiana”.

1.4. Il significato e l'importanza delle linee guida per i decapodi d'acqua dolce

I seguenti protocolli per il campionamento delle popolazioni di Decapodi d'acqua dolce e per il monitoraggio degli habitat di acqua dolce, costituiscono uno strumento necessario sia per la pianificazione di una raccolta dati che consenta di delineare un quadro il più possibile esaustivo delle popolazioni e degli habitat, sia per l'organizzazione di tutte le informazioni raccolte in un database che ne garantisca una rapida ed efficace gestione.

Nello specifico, i protocolli proposti perseguono il raggiungimento di tre importanti obiettivi:

- (1) confrontare popolazioni o habitat diversi;
- (2) confrontare popolazioni o habitat nel tempo;
- (3) individuare la relazione tra stato delle popolazioni e caratteristiche dell'habitat.

Per la redazione di questo documento, sono state utilizzate le principali pratiche di monitoraggio descritte in letteratura per i gamberi di fiume (Peay, 2003; Reynolds, 2006; Reynolds et al., 2010; Trizzino et al., 2013; Scalici et al., 2016).

2. I DECAPODI DULCICOLI IN ITALIA

In Italia attualmente sono presenti 15 specie di Crostacei Decapodi d'acqua dolce. Oltre al granchio di fiume *Potamon fluviatile* (Herbst, 1785), ai gamberi di fiume *Austropotamobius pallipes* complex³, *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803), *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758), e ai gamberi alloctoni *Pontoastacus (Astacus) leptodactylus* (Eschscholtz, 1823), *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852), *Faxonius (Orconectes) limosus* (Rafinesque, 1817), *Procambarus clarkii* (Girard, 1852), *Procambarus virginalis* Lyko, 2017, *Cherax destructor* Clark, 1936 e *C. quadricarinatus* (von Martens, 1868) (Nonnis Marzano et al., 2009; Scalici et al., 2009; Morpurgo et al., 2010), sono presenti 4 specie di gamberetti d'acqua dolce: *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831), *Palaemon antennarius* H. Milne Edwards, 1837, *Troglocaris anophthalmus* ssp. *sontica* Jugovic, Jalžić, Prevorčnik & Sket, 2012 e *Typhlocaris salentina* Caroli, 1923. Delle 10 specie di gamberi solo 3 sono autoctone, mentre le altre (*A. astacus*, *P. leptodactylus*, *F. limosus*, *P. leniusculus*, *P. clarkii*, *Procambarus virginalis*, *Cherax destructor* e *C. quadricarinatus*) sono non indigene, più o meno invasive con la loro distribuzione aggiornata dettagliatamente mappata in Aquiloni et al. (2010) e Morpurgo et al. (2010) (Tab. 4).

Per una corretta identificazione dei Decapodi autoctoni ed alloctoni presenti in Italia, si elencano i principali testi di riferimento:

- Mazzoni D., Gherardi F., Ferrarini P., 2004. Guida al riconoscimento dei gamberi d'acqua dolce. Tipografia SAB Bologna.
- <http://agricoltura.regione.emilia-romagna.it/pesca/doc/pubblicazioni/pesca-sportiva/guida-al-riconoscimento-dei-gamberi-dacqua-dolce>
- Frogia C., 1978. Decapodi. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 39 pp
- Füreder L., Machino Y., 2002. A revised determination key of freshwater crayfish in Europe. Ber. nat.-med. Verein Innsbruck. 89: 169-178
- Gamberi d'acqua dolce in Provincia di Modena
<http://www.provincia.modena.it/allegato.asp?ID=131289>

Per una visualizzazione sintetica delle immagini e delle caratteristiche ecologiche delle specie, si rimanda alle schede specifiche.

2.1. Astacoidea: i gamberi d'acqua dolce

Fra le specie autoctone, alcune sono endemiche o con areali limitati a zone di confine. Per il gambero di fiume europeo *As. astacus*, la sua presenza in Italia coincide con il limite inferiore dell'areale di distribuzione. Non è da escludere che le popolazioni italiane derivino da introduzioni, come indicato da Füreder & Schweiggel (2005) per le popolazioni altoatesine. *Au. torrentium* è presente in Friuli Venezia Giulia, sebbene recenti studi non abbiano tuttavia consentito di catturare alcun esemplare (Zanetti et al., 2014).

Il gambero di fiume *Au. pallipes* è la specie a più ampia distribuzione in Italia. In anni recenti, la sua sistematica è stata studiata con l'analisi degli allozimi (Santucci et al., 1997) e con tecniche specifiche di biologia molecolare (Fratini et al., 2005). *Au. pallipes* è una specie sempre più confinata a specifiche aree, e tale diminuzione è imputabile a varie cause. Oltre all'inquinamento e all'alterazione dei corsi d'acqua, con le modifiche degli argini, la specie è stata largamente raccolta a scopo alimentare, e ha subito fortemente l'azione di alcuni parassiti (*Aphanomices astaci*). In Italia questo crostaceo è presente in numerose regioni con distribuzione discontinua e appare in progressiva diminuzione. Per Grandjean et al. (2000, 2002a, 2002b) e Fratini et al. (2005) la specie denominata *Austropotamobius pallipes*, è in realtà un complesso di specie formato da *Au. pallipes* e *Au. italicus*, quest'ultimo distinto in 4 sottospecie (*Au. i. italicus*, *Au. i. carsicus*, *Au. i. carinthiacus* e *Au. i. meridionalis*).

³ In attesa di una conferma definitiva, viene utilizzata la dizione *A. pallipes* complex (Holdich et al., 2006).

Tabella 4. Crostacei Decapodi d'acqua dolce presenti in Italia, * specie non autoctone.

Famiglia	Specie	Nome comune
Potamidae	<i>Potamon fluviatile</i> (Herbst, 1785)	Granchio di fiume
Astacidae	<i>Astacus astacus</i> (Linnaeus, 1758)	Gambero di fiume europeo
Astacidae	<i>Pontoastacus (Astacus) leptodactylus</i> (Eschscholtz, 1823)*	Gambero turco
Astacidae	<i>Austropotamobius pallipes</i> complex (Lereboullet, 1858)	Gambero di fiume
Astacidae	<i>Austropotamobius torrentium</i> (Schränk, 1803)	Gambero di torrente
Astacidae	<i>Pacifastacus leniusculus</i> (Dana, 1852)*	Gambero della California
Cambaridae	<i>Faxonius (Orconectes) limosus</i> (Rafinesque, 1817)*	Gambero americano Gambero rosso della Louisiana
Cambaridae	<i>Procambarus clarkii</i> (Girard, 1852)*	Louisiana
Cambaridae	<i>Procambarus virginalis</i> Lyko, 2017*	Gambero marmorato
Parastacidae	<i>Cherax destructor</i> Clark, 1936*	Yabby
Parastacidae	<i>Cherax quadricarinatus</i> (von Martens, 1868)*	Redclaw
Atyidae	<i>Atyaephyra desmarestii</i> (Millet, 1831)	Gamberetto di fiume
Atyidae	<i>Troglocaris anophthalmus</i> ssp. <i>sontica</i> Jugovic, Jalžić, Prevorčnik & Sket, 2012	
Palaemonidae	<i>Palaemon antennarius</i> H. Milne Edwards, 1837	Gamberetto di fiume
Typhlocarididae	<i>Typhlocaris salentina</i> Caroli, 1923	

Au. pallipes si ritrova tra la Liguria ed il Piemonte, mentre sulla restante parte del territorio italiano è presente la specie *Au. italicus*. In particolare, in Toscana si ritrova la sottospecie *Au. italicus italicus*, con l'eccezione di una ristretta fascia al confine con la Liguria, corrispondente alla Lunigiana, dove ritroviamo *Au. italicus carinthiacus*. Manganelli et al. (2006) mostrano come la nomenclatura e la tassonomia della specie siano da rivedere.

Il gambero di fiume vive tra le pietre dei fiumi a carattere torrentizio, limpidi e ben ossigenati, ma anche in fossi fangosi a corrente lenta, in acque stagnanti e ruscelli in zone di collina e media montagna, purché non inquinati, con argini ricchi di vegetazione. Scava tane sotto i sassi sommersi o gallerie sulle sponde fangose, dove trascorre il giorno per uscire all'imbrunire alla ricerca di cibo: è attivo infatti nelle ore del crepuscolo e dell'alba, mentre trascorre la maggior parte del tempo nella tana. Si nutre principalmente di detriti vegetali, larve di insetti, altri crostacei, molluschi, lombrichi, sanguisughe, girini, piccoli pesci e resti di animali morti. Un gambero di fiume può vivere fino a 20 anni.

2.2. Potamoidea: i granchi d'acqua dolce

Potamon fluviatile (Herbst, 1785) appartiene alla famiglia Potamidae Ortmann, 1896 (Crustacea, Decapoda, Eubrachyura) ed è l'unica specie nativa di granchio d'acqua dolce presente in Italia. I granchi hanno un ciclo vitale di 10-12 anni e sono caratterizzati da un cefalotorace ampio, che raggiunge anche la larghezza di 7 cm; le femmine generalmente sono più piccole dei maschi. Gli occhi sono mobili e pedunculati, le chele sono particolarmente robuste, con tubercoli e spine. Nei maschi adulti si registra una spiccata eterochelia con una chela, solitamente la destra, di dimensioni superiori (Gherardi et al., 1987). L'addome, ripiegato sotto il carapace, è costituito da 6 segmenti appiattiti e rappresenta una dei principali caratteri per il riconoscimento dei due sessi: nel maschio è stretto e triangolare, nella femmina più largo e arrotondato. L'areale di questa specie comprende parte dell'Italia, dalla Sicilia fino all'Appennino ligure, Malta, Albania, Dalmazia meridionale, Montenegro e Grecia nord-occidentale (Brandis et al., 2000). La sua distribuzione disgiunta sembra imputabile all'espansione naturale della specie avvenuta circa 15.000 anni fa e non all'azione di traslocazione da parte dell'uomo (Jesse et al., 2009, 2010). In Italia, la specie è diffusa in modo continuativo soltanto dalla Sicilia alla Liguria, mentre è localizzata a nord degli Appennini in Romagna e in Friuli Venezia

Giulia. È completamente assente in Sardegna e nelle isole minori (Capra, 1953; Frogliola, 1978; Pretzmann, 1984; Cumberlidge, 2008). Il corso del fiume Po segna il limite settentrionale del suo attuale areale, anche se storicamente la specie veniva raccolta in Lombardia e Veneto (De Betta, 1863; Bettoni, 1884; Garbini, 1894). Nel 1997, una popolazione di granchio è stata scoperta sotto le rovine dei Fori Imperiali nel centro di Roma (Scalici et al., 2008). Le analisi genetiche hanno mostrato che gli individui di questa popolazione sono simili a individui di popolazioni greche: potrebbero essere stati quindi i Greci 3000 anni fa a portare alcuni esemplari che avrebbero dato origine a questa popolazione dei Fori prima della fondazione di Roma. Quando si trova in sintopia con il gambero di fiume indigeno *Austropotamobius pallipes*, il granchio generalmente colonizza la parte a valle del corso d'acqua, mentre il gambero quella a monte: il granchio infatti è superiore dal punto di vista competitivo e sostituisce il gambero quando vengono in contatto o lo relega nelle zone meno favorevoli (Dardi & Gherardi, 1994; Barbaresi & Gherardi, 1997). Recentemente, le due specie sono state trovate insieme nello stesso tratto di fiume senza evidenti comportamenti agonistici: tale ritrovamento ha permesso di ipotizzare che la coesistenza può essere favorita dalla dimensione leggermente minore di gamberi e granchi nell'area condivisa rispetto alla dimensione degli animali negli altri transetti popolati solamente da una delle due specie o dai diversi microhabitat scelti da questi decapodi (Mazza et al., 2017). Il granchio colonizza sia acque lotiche di torrenti, fiumi, canali e fossati sia acque lentiche di bacini lacustri, stagni e risaie. Non è una specie particolarmente sensibile alle condizioni ambientali più diverse e tollera anche acque con livelli di ossigeno variabili. Gli individui giovani e piccoli trovano riparo da predatori e conspecifici sotto i massi o tra la vegetazione, mentre gli adulti scavano tane (profonde fino a 80 cm, con acqua sul fondo) negli argini ricchi di radici. Le tane, sempre situate sopra il livello dell'acqua, possono avere l'entrata posta anche a 5 m dalla riva e servono per proteggere gli individui dal freddo invernale (Gherardi et al., 1987). La specie evita le rive prive o povere di copertura arborea, perché non tollera l'esposizione diretta al sole e le variazioni repentine di temperatura. I granchi sono attivi soprattutto da maggio a ottobre (con picco di attività durante la notte), mentre da novembre a febbraio vanno in ibernazione in rifugi naturali o nelle tane (Gherardi et al., 1988). I granchi sono capaci di percorrere brevi distanze fuori dall'acqua per spostarsi tra torrenti vicini. È una specie aggressiva e territoriale (Gherardi & Cioni, 2004); difende la tana dai propri simili, ma si mostra più tollerante durante l'attività di foraggiamento, quando più individui possono nutrirsi insieme. La riproduzione (seguita da sviluppo diretto) avviene durante la primavera-estate; le femmine ovigere si trovano, comunque, più comunemente tra luglio e agosto. Le uova e i piccoli vengono portati in una sorta di marsupio, tra lo sterno e l'addome della madre (Frogliola, 1978; Gherardi et al., 1988; Micheli et al., 1990). Negli ultimi venti anni, la specie ha subito una notevole rarefazione e riduzione in abbondanza nell'ambito dell'intero areale di distribuzione, a causa della distruzione dell'habitat, dell'inquinamento, della cementificazione delle sponde e degli interventi idraulici in alveo. Per la salvaguardia e una corretta gestione della popolazione di questo crostaceo si ritiene, quindi, di primaria importanza provvedere a mantenere una buona copertura vegetazionale lungo i torrenti, vietare la pesca in ogni periodo dell'anno e con ogni mezzo, ridurre i fenomeni di inquinamento incentivando le forme di agricoltura a basso impatto ambientale, e vietare qualsiasi intervento in alveo. In passato, la specie veniva pescata da parte di cercatori che ogni estate catturavano fino a più di diecimila esemplari che poi venivano venduti nei mercati (Ghigi, 1913). Allo stato attuale, purtroppo, la specie non è né menzionata nella Direttiva Habitat 92/43/CE (anche se recentemente è stato proposto l'inserimento nell'Allegato V) né protetta a livello nazionale. Attualmente, secondo la lista rossa della IUCN, la specie è inserita nella categoria "near threatened" (Cumberlidge, 2008). Infine, fino ad oggi non sono mai state trovate evidenze della peste del gambero su *Po. fluviatile*, ma, considerando che il congenerico *Potamon potamios* è stato trovato essere suscettibile alla peste (Svoboda et al., 2014), si suggerisce di condurre studi in merito per smentire o accertare l'eventuale vulnerabilità della specie.

2.3. Palaemonoidea: i gamberetti d'acqua dolce

In Italia vi sono 4 specie di gamberetti d'acqua dolce: *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831), *Palaemon antennarius* H. Milne Edwards, 1837, *Troglocaris anophthalmus* ssp. *sontica* Jugovic, Jalžić, Prevorčnik & Sket, 2012 e *Typhlocaris salentina* Caroli, 1923. Queste ultime due specie sono endemiche: *Troglocaris anophthalmus* ssp. *sontica* abita nel sistema carsico al confine tra Italia e Slovenia e *Typhlocaris salentina* è specie endemica di grotte del Salento e della Bassa Murgia. Per quanto riguarda *At. desmarestii* e *Pa. antennarius* il loro areale comprende non solo la parte continentale e peninsulare d'Italia ma anche Sicilia e Sardegna (Frogliia, 2005). La complessiva conoscenza della distribuzione sul territorio italiano dei gamberetti d'acqua dolce risulta incompleta e carente. In particolare, i dati sulla effettiva corologia delle due specie di "gamberetti di fiume" appartenenti alla superfamiglia Caridea *At. desmarestii* (Famiglia Atyidae) e *Pa. antennarius* (Famiglia Palaemonidae) risultano inadeguati, pur essendo entrambe di interesse faunistico e, nel caso della Toscana, tutelate da una legge sulla protezione di specie ed habitat (Legge Regionale 56/2000) e inserite nelle liste di attenzione del Repertorio Naturalistico Toscano (Re.Na.To.). Solo la Regione Abruzzo, nella sua Legge Regionale 50 del 1993, inserisce *Pa. antennarius* tra le specie protette. Il grado di conoscenza è basso anche a causa della mancanza di specifici progetti mirati di studio biogeografico. L'esiguità del numero di segnalazioni di *At. desmarestii* inoltre potrebbe dipendere da errate determinazioni: infatti, a prima vista, *Pa. antennarius* e *At. desmarestii* sono molto simili anche nella colorazione esterna e le specie potrebbero essere erroneamente attribuite a una o all'altra specie, avendo caratteri diagnostici comuni. Il riconoscimento può invece essere agevolmente fatto controllando il rostro al microscopio binoculare: in *At. desmarestii* è un rostro serrato che porta da 23 a 28 denti, mentre il rostro di *Pa. antennarius* ha pochi denti radi (Anastasiadou et al., 2006). Questi due decapodi, apprezzabili indicatori biologici, attualmente sono annoverati tra le specie vulnerabili in Toscana (Agnelli et al., 2012). L'inquinamento delle acque, l'alterazione degli ecosistemi acquatici e le sempre più frequenti interazioni con elementi alloctoni, sono le principali cause di minaccia per questi due crostacei d'acqua dolce. Un ulteriore impatto potrebbe essere rappresentato da eventuali introduzioni di specie di gamberetti non autoctoni appartenenti ai generi *Caridina* e *Neocaridina* (famiglia Atyidae) attualmente reperibili nel mercato online dell'acquariofilia. Una delle specie più commercializzate è *Neocaridina davidii*⁴, specie originaria del sud-est della Cina, onnivora, molto prolifica e facilmente allevabile. Grazie a queste sue caratteristiche, la specie è in grado di colonizzare nuovi ambienti e quindi è da considerarsi potenzialmente invasiva (Mazza et al., 2015). In Germania, nei fiumi Erft e Gillbach (Germania occidentale) sono in effetti state trovate due specie tropicali, *Neocaridina davidii* (Bouvier, 1904) e *Macrobrachium dayanum* (Henderson, 1893) (Klotz et al., 2013), presumibilmente rilasciate da acquariofili. Si ipotizza quindi la possibile diffusione di specie di gamberetti alloctoni, come già è accaduto per il Marmorkrebs (*Procambarus virginalis*) ritrovato in popolazioni di *Procambarus clarkii* in Toscana (Nonnis Marzano et al., 2009).

⁴ *Neocaridina davidii* (Bouvier, 1904) viene venduta con il nome scientifico di *N. heteropoda* (Kemp, 1918), ma la tassonomia della specie necessita di revisione (Klotz et al., 2013).

3. LA COLLEZIONE DI INFORMAZIONI SULLA PRESENZA DEI DECAPODI D'ACQUA DOLCE

3.1. La raccolta delle segnalazioni storiche sui decapodi d'acqua dolce

Informazioni sulla presenza della specie oggetto di studio permettono di allestire un quadro distributivo, anteriore al monitoraggio (Reynolds & Souty-Grosset, 2012). Questo ha una duplice funzione: (i) quella preliminare che serve come base per la pianificazione delle successive indagini e (ii) quella di fornire il quadro storico o pregresso di confronto con la situazione risultante dalle indagini e quindi per valutare l'andamento delle popolazioni nel tempo.

Le informazioni storiche e pregresse possono essere raccolte:

- attraverso la ricerca di dati ed esemplari conservati in collezioni presso i musei di storia naturale (o simili), gli acquari, gli istituti scolastici, gli istituti di ricerca e le università;
- attraverso la ricerca di dati su materiale bibliografico sia scientifico sia di natura divulgativa sulla presenza di Decapodi nel territorio;
- attraverso la ricerca di dati accessori in studi collaterali, quali possono essere le carte ittiche, gli studi idrobiologici e di qualità dell'acqua (es. gli Astacidi sono inseriti nel calcolo dell'indice I.B.E.) o altri studi di carattere naturalistico (es. Programma di reintroduzione, Piano di Gestione, Valutazione di Impatto Ambientale, Valutazione Ambientale Strategica, Valutazione di Incidenza).
- attraverso la ricerca di dati di presenza sulle schede dei siti di Rete Natura 2000.

Enti territoriali che si occupano di gestione della pesca, istituti di ricerca (Università e altri istituti di ricerca), agenzie regionali per la protezione dell'ambiente (ARPA), musei di storia naturale/scienze naturali o del territorio possono fornire utili indicazioni sulla distribuzione pregressa della specie, nonché su quella attuale. Va ricordato che i nomi dei Decapodi hanno subito diversi cambiamenti, per cui è opportuno durante la ricerca di dati storici estendere l'indagine anche ai sinonimi e agli altri nomi che nel tempo sono stati utilizzati. Inoltre, nel caso di ritrovamento di esemplari nelle collezioni museali, è opportuno verificare se la denominazione specifica riportata sul cartellino è ancora attuale. Per dati più recenti, può essere utile la consultazione delle banche dati internazionali e nazionali disponibili on-line.

Per le specie autoctone, in particolare:

- Network Nazionale Biodiversità (http://193.206.192.106/portalino/home_it/il-network.php)
- FaunaItalia (<http://www.faunaitalia.it>)
- IUCN Red List of Threatened Species (<http://www.iucnredlist.org>)
- Global Biodiversity Information Facility (<http://www.gbif.org>)
- DRYAD (<http://datadryad.org>)

mentre per le specie alloctone:

- NOBANIS (www.nobanis.org)
- DAISIE (<http://www.europe-aliens.org/default.do>)
- ISSG (<http://www.iucngisd.org>)

3.2. L'uso di segnalazioni sporadiche dei decapodi d'acqua dolce

Può risultare utile l'elaborazione di un questionario (Scheda di segnalazione) finalizzato alla composizione di un quadro informativo preliminare sulla distribuzione della specie nell'ambito territoriale, in epoca attuale e nel passato recente. Tale questionario va destinato a tutti i portatori di interesse e i soggetti attivi sul territorio a vario titolo (amministrazioni provinciali, corpi di vigilanza, guardie ecologiche, ARPA, associazioni naturalistiche, organizzazioni dei pescatori, ecc.). È opportuno distribuire e diffondere il questionario anche a un pubblico generico di appassionati nel caso vengano organizzati incontri e giornate/serate divulgative. La scheda di segnalazione contiene i campi necessari all'identificazione della specie, alla sua localizzazione geografica e a contattare l'autore dell'osservazione, in caso di dubbi, verifica o ulteriori approfondimenti. La segnalazione andrebbe inoltre accompagnata da fotografie del Decapode e dell'ambiente di ritrovamento. La

scheda comprende anche campi facoltativi per inserire informazioni più dettagliate, nel caso l'autore della segnalazione fosse un esperto del gruppo sistematico. In caso di segnalazioni ottenute tramite il questionario, l'informazione può essere considerata attendibile solo se validata dagli esperti o verificata sul campo durante le successive indagini.

3.3. Segnalazione rapida di decapodi d'acqua dolce

Ad oggi è possibile segnalare la presenza di decapodi d'acqua dolce scrivendo una mail (massimiliano.scalici@uniroma3.it) al Dott. Massimiliano Scalici riportando informazioni comprendenti: nome, cognome, indirizzo e-mail del segnalatore, specie osservata (possibilmente con foto), località (più precisa possibile), e coordinate geografiche (indicando anche l'App con cui vengono rilevate).

In questo modo sarà possibile attivare un data set che sarà pubblicato sul sito AIIAD (www.aiiad.it) e aggiornarlo di volta in volta in tempo reale usufruendo delle segnalazioni in arrivo, ma solo dopo validazione di uno degli esperti del gruppo decapodi.

3.4. Sopralluoghi in siti potenzialmente ospitanti decapodi d'acqua dolce

Individuazione dei siti di presenza o assenza di gamberi di fiume

Una volta arrivato su un potenziale sito di campionamento, si deve scrutare subito il letto del corso d'acqua per individuare eventuali gamberi in attività sul fondo. In un secondo luogo è altrettanto importante perlustrare la zona in ricerca di gamberi morti e/o resti di essi, come esuvie e residui di muta, spesso frequenti nei mesi estivi. Inoltre è fondamentale cercare probabili rifugi come tane immerse o sommerse scavate dai gamberi o granchi d'acqua dolce nelle sponde. Per la presenza del gambero è di buon auspicio anche un'alta percentuale di ciottoli e massi non completamente infossati nel substrato che fungono da riparo, nonché la presenza di piante acquatiche e di radici sommerse della vegetazione ripariale. Un indizio della presenza delle classi di taglia più piccole sono i ciuffi di radici presenti in vicinanza degli argini. Questo di solito è il luogo in cui la corrente è più debole e dove si aggregano i giovani in cerca di riparo e protezione dai predatori.

Ambienti potenzialmente popolati da Austropotamobius pallipes

Dal tratto montano di un corso d'acqua verso valle: sorgenti o risorgive, pozze, pool, rigagnoli e corsi d'acqua con portata media inferiore a 100 litri per secondo. Si procede con la ricerca a mano, con il retino per acquario sia di giorno che di notte. Questo metodo può essere applicato soprattutto a tratti poco profondi con fondo sabbioso, ciottoloso, pietroso, roccioso e con sponde compatte. Per non intorbidire l'acqua o il sito, il che renderebbe la cattura impossibile, si campiona sempre da valle verso monte. Lo stesso vale anche per le pozze (pool) se sono profonde ma non fangose. In questo modo è possibile sondare o raschiare il fondo con un retino a manico lungo. Questo metodo può essere applicato solo quando l'acqua è limpida e se è possibile scrutare il fondo. Se la velocità di corrente è debole e la profondità discreta e tale da impedire sia la cattura a vista, sia a mano o con retini, si procede con il trappolamento tramite nasse dedicate alla pesca al gambero o all'anguilla innescate con scatole bucherellate a base di carne per animali domestici (cani o gatti). Questo tipo di esca è di facile reperimento ed è relativamente economico. In alternativa si possono utilizzare prede naturali morte, come pesci provenienti preferibilmente dallo stesso ambiente ma non necessariamente freschi (congelati). Se l'ambiente è privo di fauna ittica, le trappole possono essere munite di pezzi di pesci di scarso valore economico, come il carassio. In alternativa sono valide anche esche costituite da strisce di cuore e fegato di bovini, ovini e suini. Una versione molto più economica, ma altrettanto efficace, sono i fegatelli di pollo. All'imbrunire bastano poche ore di trappolamento per avere informazioni sulla presenza o assenza del gambero di fiume autoctono. È consigliabile uscire sempre in compagnia, in ogni caso avvertendo terze persone delle località che verranno visitate.

Ambienti potenzialmente popolati da Austropotamobius pallipes e anche da specie alloctone

Torrenti e corsi d'acqua con portata media superiore a 100 litri per secondo. In questo caso la pesca a mano e con il retino per acquari non è più efficiente, dato che la velocità di corrente o la profondità sono troppo elevate. Se l'acqua è limpida e il fondo privo di ciottoli, rocce o massi è consigliabile utilizzare il retino a manico lungo o guadino. Con questo attrezzo è possibile effettuare delle catture sul fondo e sondare tra le radici e le appendici di quest'ultime vicino alle sponde. Nel caso in cui l'acqua è non abbastanza limpida da poter osservare il fondo del corso d'acqua, si procede con il trappolamento con nasse innescate (vedi sopra). Per quanto riguarda *Austropotamobius pallipes* si consiglia un campionamento di un paio di ore dopo il tramonto, essendo il gambero autoctono lucifugo e attivo prevalentemente di notte. Di regola, anche le specie alloctone come il gambero turco *Pontoastacus (Astacus) leptodactylus* e il gambero americano *Faxonius (Orconectes) limosus* hanno un comportamento simile a quello descritto prima. Il gambero rosso *Procambarus clarkii* e il gambero semaforo *Pacifastacus leniusculus*, ambedue specie alloctone, sono invece attivi durante tutto l'arco delle 24 ore e dunque sempre catturabili.

Ambienti popolati in prevalenza da specie alloctone

Gli ambienti prediletti delle suddette specie sono corsi d'acqua a lento decorso come fiumi, la loro foce, estuari e delta, e specchi d'acqua placidi come stagni e laghi. Si inizia con la perlustrazione delle sponde in cerca di tracce di gamberi che possono essere esemplari morti o frammenti di essi, chele, esuvie e residui di muta per poi procedere con la ricerca di tane scavate nelle sponde. Attrezzi per la cattura dalle sponde sono guadini, cioè retini a manico lungo che possono avere diverse dimensioni e larghezza di maglia. Un altro congegno utile è la bilancia con rete e asta del manico di svariate dimensioni comunemente impiegata per la pesca dalla riva. Questo tipo di rete di pesca viene innescata con ritagli di fegato o pesce al centro e calata per un paio di minuti prima di essere recuperata. Negli stagni e laghi le trappole maggiormente impiegate sono nasse per gamberi, ma anche bertovelli o coculli (bertovelli di dimensioni maggiori, chiamati anche tofi e utilizzati nel Lago Trasimeno) opportunamente munite di esca come descritto sopra. Questi strumenti vengono legati ad una corda e messi a dimora per un'ora o due per poi essere riportati a riva per valutarne il contenuto.

4. LA FASE PREPARATORIA ALL'ATTIVITÀ DI CAMPO

4.1. L'individuazione e la contestualizzazione dell'area di studio

L'individuazione dell'area di studio è uno degli aspetti fondamentali di un censimento o monitoraggio. L'area verrà selezionata in base alla tipologia d'indagine: (i) verifica di segnalazioni, (ii) ricerca di habitat potenzialmente idonei per i quali non ci sono dati della specie, (iii) valutazione dello stato attuale e/o abbondanza della specie nell'area per la quale esistono già dati di presenza e/o abbondanza (Reynolds & Souty-Grosset, 2012). In tutti questi casi è comunque preferibile effettuare uno studio preliminare su carte geografiche, foto aeree, o mediante l'utilizzo di software GIS (Geographic Information System) che permettono di mettere in relazione le caratteristiche del territorio con gli elementi geografici. Prima di effettuare i sopralluoghi è necessario coordinare la logistica in relazione al contesto e all'estensione dell'area che deve essere indagata. Sulla base dello studio cartografico, bisogna considerare il numero di corsi d'acqua che devono essere monitorati, la loro lunghezza e le altre caratteristiche ambientali che li caratterizzano in modo da suddividerli in tratti omogenei e conseguentemente decidere quante stazioni di campionamento per corso devono essere previste, senza trascurare la localizzazione delle stazioni (quindi con quali mezzi possono essere raggiunte) e quali attrezzature è necessario utilizzare (Nardi et al., 2005). Un sopralluogo preliminare è fondamentale per valutare le dimensioni dei corpi idrici sia in ampiezza sia in profondità, perché da queste caratteristiche dipendono le tecniche di monitoraggio che si dovranno utilizzare e di conseguenza l'equipaggiamento necessario.

4.2. L'equipaggiamento di base per le attività di campo

L'equipaggiamento è in funzione del tipo di campionamento che si vuole svolgere e delle caratteristiche ambientali del corso d'acqua che si vuole indagare.

In generale è necessario avere il seguente equipaggiamento (lo stesso è schematizzato in Fig. 4.1, utile per organizzare la strumentazione che sarà utilizzata sul campo):

- copia dei permessi
- GPS
- cartografia adeguata
- raccoglitore con schede di campo
- matite
- guida sintetica delle attività di campo
- macchina fotografica
- stivali almeno a mezza coscia
- termometro da campo
- guanti di gomma
- guadini, retini per la cattura degli animali (con differenti lunghezze di manico)
- secchi per la collocazione temporanea degli animali
- telefono cellulare
- cassetta pronto soccorso
- disinfettanti per lavare il materiale utilizzato con nebulizzatore a spruzzo (con iodofori o candeggina)
- giubbotto di salvataggio se si prevede di lavorare in ambienti con acqua profonda o su una barca
- corde per calarsi in sicurezza
- abbigliamento adeguato ed eventualmente un cambio di vestiti
- repellenti per insetti

Se invece è necessario mettere in opera le nasse bisogna decidere l'estensione delle stazioni e quindi il numero di nasse necessario e le esche attrattive:

- nasse
- esche in numero adeguato al numero di nasse

- mezzo marinaio per salpare agevolmente le nasse
- cordino per assicurare le nasse
- secchi per la collocazione temporanea dei gamberi
- sacchi per lo smaltimento delle esche

Per la ricerca notturna si dovranno prevedere inoltre:

- torce impermeabili generalmente a fascio stretto
- torce di emergenza
- torce frontali per poter agilmente manipolare gli animali una volta catturati

Nel caso in cui si devono manipolare gli animali per acquisire informazioni biometriche ed eventualmente effettuare una marcatura saranno necessari:

- secchi dove riporre temporaneamente gli animali
- calibri
- bilance o pesole a differenti scale di misurazione
- tavolino e sedie da campo
- eventuale materiale per la marcatura (saldatore pennarelli ecc.)

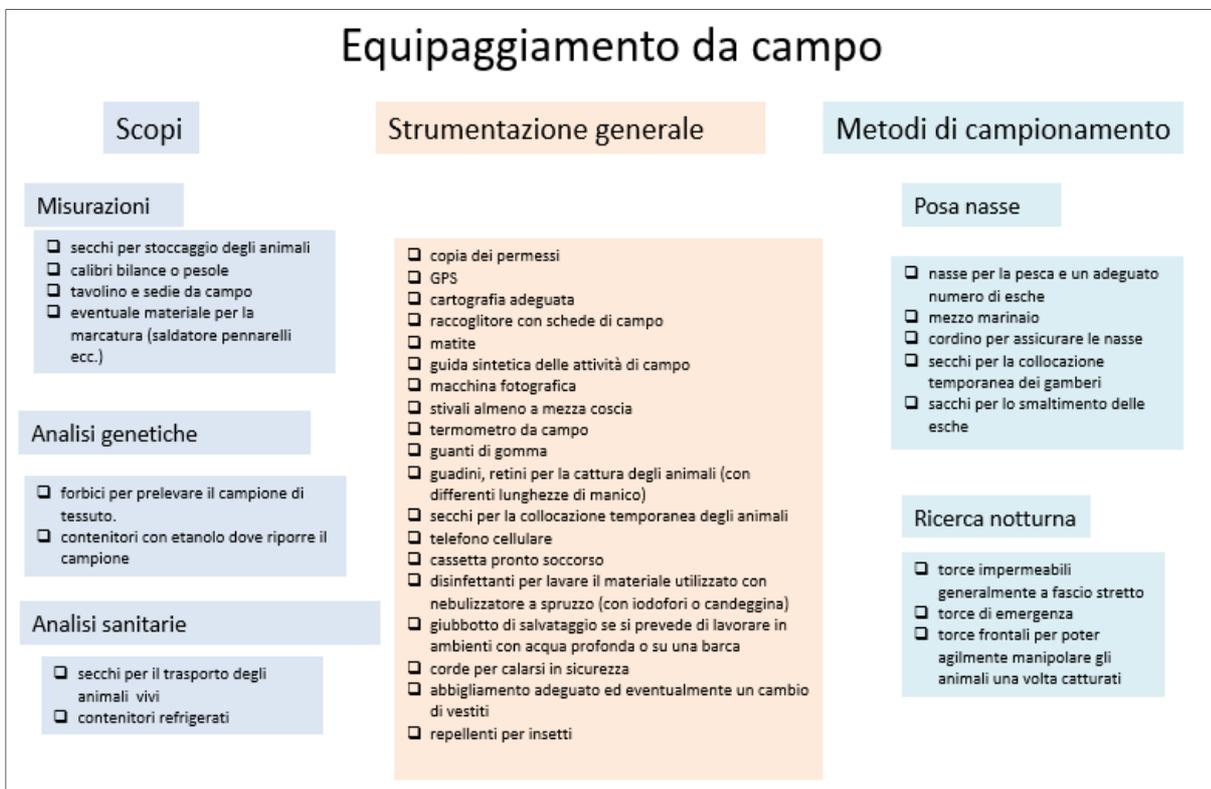


Figura 4.1. Equipaggiamento di base per le attività di campo.

4.3. La richiesta di permessi agli organi competenti

È necessario provvedere per tempo all'invio delle richieste di autorizzazione previste a livello nazionale e regionale:

- richiesta per autorizzazione alla cattura temporanea di fauna eteroterma in deroga al DPR 357/97
Per le specie elencate in Direttiva Habitat, occorre l'autorizzazione alla cattura temporanea e alla manipolazione degli individui (es. per i rilievi biometrici) finalizzata alla definizione della loro distribuzione, delle loro abbondanze e dello status di conservazione. Tenendo conto delle disposizioni indicate dagli Art. 10, 11 e 12 del DPR 357/97, la richiesta va inviata al Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare e alla Regione di competenza territoriale.
- richiesta per autorizzazione all'esercizio di pesca con attrezzatura non consentita in deroga alle Leggi regionali

Nel caso lo studio preveda l'utilizzo di nasse, va richiesto il permesso alla Provincia.

- richiesta per autorizzazione accesso e/o transito mezzi motorizzati in aree protette

Nel caso lo studio venga effettuato all'interno di aree protette, va richiesto il permesso all'Ente gestore.

- permesso di accesso a zone di proprietà privata (eventuale)

I permessi necessari per l'accesso alle proprietà verranno concordati con i proprietari o conduttori dei fondi interessati, nel caso vengano individuati punti di monitoraggio il cui accesso risulta precluso.

- trasporto di animali

Il trasporto degli animali vivi è vincolato al rispetto di determinate condizioni oggetto di specifiche autorizzazioni sanitarie rilasciate all'Ente di riferimento dall'Azienda sanitaria.

4.4. L'organizzazione del calendario delle attività di campionamento

L'attività di monitoraggio va prevista, tenendo presente che la rintracciabilità e la pescosità variano in base alle specie e al periodo dell'anno. In generale, l'attività dei crostacei è in funzione del range termico. Il periodo di attività delle specie considerate è fortemente influenzato da diversi fattori, quali la stagione, la temperatura dell'acqua, le condizioni di portata idrica, la disponibilità di cibo e le variabili eco-etologiche (es. la muta) caratteristiche di ogni specie (Peay, 2004). È quindi opportuno che le indagini siano effettuate durante il periodo di maggiore attività, per evitare di fornire dei falsi negativi. In Tab. 5 vengono illustrati mediante una scala cromatica (colore scuro indica maggiore attività) per le specie oggetto di studio i periodi di maggiore attività sia a livello circadiano sia annuale, durante i quali è consigliabile effettuare i monitoraggi. Si rimanda alle singole schede descrittive delle specie per maggiori dettagli. Per organizzare un calendario di campionamento è necessario stabilire anche il genere d'informazioni che si vuole ottenere. Bisogna definire se l'indagine è di tipo qualitativa (presenza/assenza) oppure quantitativa, che implica quindi reiterazione. Non bisogna dimenticare che se la specie è estremamente elusiva con un'attività tipicamente crepuscolare-notturna, è opportuno che i censimenti vengano affidati a personale specializzato o opportunamente formato, evitando falsi negativi o in generale informazioni non corrette.

Tabella 5. Periodi di maggiore attività delle specie durante i quali è consigliabile effettuare azioni di monitoraggio.

specie	Famiglia		attività circadiana		attività annuale					
			diurna	notturna	gen-feb	mar-apr	mag-giu	lug-ago	set-ott	nov-dic
<i>Astacus astacus</i>	Astacidae	indigeno		X						
<i>Pontoastacus (Astacus) leptodactylus</i>	Astacidae	alieno	X	X						
<i>Austropotamobius pallipes</i>	Astacidae	indigeno		X						
<i>Austropotamobius torrentium</i>	Astacidae	indigeno		X						
<i>Pacifastacus leniusculus</i>	Astacidae	alieno	X							
<i>Procambarus clarkii</i>	Cambaridae	alieno	X	X	--	--	--	--	--	--
<i>Procambarus fallax</i>	Cambaridae	alieno	X	X						
<i>Faxonius (Orconectes) limosus</i>	Cambaridae	alieno		X						
<i>Cherax destructor</i>	Parastacidae	alieno	X	X	--	--	--	--	--	--
<i>Cherax quadricarinatus</i>	Parastacidae	alieno	X	X	--	--	--	--	--	--
<i>Potamon fluviatile</i>	Potamidae	indigeno		X						
<i>Atyaephyra desmarestii</i>	Atyidae	indigeno	X	X	--	--	--	--	--	--
<i>Troglocaris anophthalmus</i>	Atyidae	indigeno	na	na						
<i>Palaemon antennarius</i>	Palaemonidae	indigeno	X	X	--	--	--	--	--	--
<i>Typhlocaris salentina</i>	Typhlocarididae	indigeno	na	na						

grigio chiaro: si trovano ancora

grigio un po' più scuro: sono abbastanza abbondanti

nero: sono abbondanti

na=non applicabile

-- = attiva tutto l'anno con possibili fluttuazioni demografiche dipendenti da condizioni microclimatiche

5. LA CARATTERIZZAZIONE DEGLI AMBIENTI INDAGATI

5.1. La georeferenziazione dei siti di campionamento

Tutte le stazioni saranno cartografate in modo da poter essere opportunamente rappresentate in carte tematiche oltre che analizzate e interpretate anche in relazione a caratteristiche geografiche ed antropiche. La posizione delle stazioni di campionamento sarà rilevata da un ricevitore GPS, che consente di allacciarsi al Sistema di Posizionamento Globale (*Global Positioning System* o GPS). La rete di rilevamento GPS utilizza come sistema di riferimento globale il *World Geodetic System 1984* (WGS 84). Quasi tutti i ricevitori GPS, tuttavia, possono essere settati in modo da restituire le coordinate relative alla propria posizione con differenti sistemi di riferimento, su scala globale o locale. Tale possibilità può generare errori qualora ci si limiti a registrare la posizione relativa alla stazione di campionamento senza conoscere quale sia il sistema di riferimento impostato sul ricevitore GPS che si sta impiegando. Il personale che effettuerà il rilievo dei dati cartografici deve utilizzare lo stesso sistema di riferimento con cui vengono registrate le localizzazioni in fase di elaborazione cartografica in modo da garantire il corretto posizionamento del dato rilevato sulla cartografia regionale. Premesso che ogni tipo di ricevitore GPS portatile dispone di una propria interfaccia operativa, generalmente, nei modelli più conosciuti (marca Garmin), per impostare questo sistema di riferimento occorre aprire il menù principale (cliccando due volte il tasto «menù» dopo l'accensione) e scegliere la voce «impostazioni» all'interno della quale si trovano tutta una serie di opzioni di scelta delle diverse funzioni del proprio apparecchio. Una tra queste, il «Formato posizione», definisce il sistema di riferimento (nei modelli più semplici, questa voce si può trovare all'interno delle «Unità»). Cliccando quindi la voce «Formato posizione» si aprono una serie di campi da impostare, tra i quali il «Formato posizione» (di nuovo) e il «Map datum» che dovrebbero essere rispettivamente «hddd.mm.mmm'» (formato predefinito le cui coordinate vengono espresse in gradi e minuti con tre cifre decimali) e «WGS 84».

5.2. La descrizione dell'area di campionamento

Per una corretta programmazione del monitoraggio e degli interventi di gestione delle popolazioni di crostacei dulcacquicoli è necessario analizzare le principali pressioni ambientali e antropiche alle quali le popolazioni sono sottoposte. I dati ambientali hanno un ruolo fondamentale, dunque, per permettere una valutazione accurata dello stato di salute dell'ecosistema "fiume" e degli eventuali impatti. Per quanto riguarda i dati ambientali, sui protocolli di monitoraggio del progetto RARITY LIFE10 NAT/IT/000239 si fa riferimento ai due indici per la descrizione della qualità dell'habitat: I.B.E. e I.F.F. e alla rilevazione di parametri di tipo fisico-chimico, antropico e biologico. I crostacei sono specie onnivore che possono determinare un forte impatto sulla comunità macrobentonica. Per questo motivo, l'analisi della comunità macrobentonica, può essere impiegata per valutare l'eventuale impatto esercitato dai crostacei, autoctoni e alloctoni, sugli ambienti occupati. D'altra parte l'assenza di una comunità macrobentonica strutturata può essere un'eventuale causa della rarefazione della popolazione di alcune specie di crostacei decapodi autoctoni. L'Indice Biotico Esteso (I.B.E.) (Ghetti, 1997; APAT – IRSA/CNR, 2003) basato sulla comunità macrobentonica e l'Indice di Funzionalità Fluviale (I.F.F.) (Siligardi et al., 2007) basato sullo stato complessivo dell'ambiente fluviale sono in grado di fornire utili indicazioni per determinare lo stato di qualità dei corsi d'acqua nelle stazioni di monitoraggio e per valutare le possibili alterazioni che questi ecosistemi potrebbero aver subito in seguito all'arrivo della specie aliene invasive. Gli indici elaborati permetteranno di comparare le stazioni anche mediante tecniche statistiche avanzate per l'analisi di dati ecologici (Renai et al., 2006; Mazza et al., 2011).

Parametri Fisico-Chimici

Parametri fisico chimici relativi al corpo idrico offrono indicazioni complementari alle indagini biologiche per caratterizzare l'ambiente oggetto dell'indagine. I parametri che possono essere misurati sono i seguenti: temperatura dell'acqua, T (°C); concentrazione degli ioni idrogeno, pH; ossigeno disciolto, DO (mg/L); conducibilità, SPC ($\mu\text{S}/\text{cm}$); salinità, Sal (ppt); potenziale di ossido-riduzione, ORP (mV). Questi parametri possono essere facilmente rilevati mediante l'utilizzo di una sonda multiparametrica, che può registrare un dato puntuale oppure continuo in base alle esigenze. Temperatura e pH sono parametri facilmente misurabili, rispettivamente, anche con un termometro portatile e con kit economici da campo. Gli altri parametri sono sicuramente più complicati da rilevare, ma vanno presi in considerazione in base al contesto nel quale si inserisce il monitoraggio. L'ossigeno disciolto misura la disponibilità di ossigeno per gli organismi viventi nella colonna d'acqua e quindi la "disponibilità" di un ambiente ad ospitare forme di vita. La conducibilità (o conduttività elettrica), invece, è un parametro che indica il contenuto di sali disciolti nell'acqua. Se il valore di conducibilità dell'acqua è alto, l'acqua è ricca di sali, se è basso l'acqua è povera di sali. La salinità (la cui misura è basata sulla conduttività elettrica) è un parametro che esprime il contenuto in sali nell'acqua in parti per migliaia (ppt). Un'elevata conducibilità indica alta salinità dell'acqua: valori troppo elevati della conducibilità possono compromettere la vita acquatica, in particolare per i pesci. Un improvviso aumento di conducibilità potrebbe essere sintomo di un inquinamento da parte di liquami domestici e industriali. Infine, il potenziale di ossido riduzione, indicato con l'acronimo ORP, è una misura in millivolt del livello di ossidazione/riduzione dell'acqua. La maggior parte dei microrganismi prolifera favorevolmente con valori redox fino a 200 mV; via via che il valore del potenziale redox aumenta, i tempi di sopravvivenza dei batteri diminuiscono fino a diventare minimi o non rilevabili. La durezza carbonatica è un altro parametro importante da misurare, visto che è legata alla possibilità da parte dei decapodi di compiere le mute durante il loro ciclo vitale. Sono in commercio kit che utilizzano il metodo colorimetrico per misurare questo parametro. Oltre a questi parametri vengono rilevati la velocità della corrente con un mulinello idrometrico e la profondità dell'acqua tramite un'asta graduata in un numero rappresentativo di punti nel sito di campionamento e, approssimativamente, l'ampiezza dell'alveo bagnato. Anche la trasparenza, misurata con il disco di Secchi, può essere un parametro interessante da monitorare, dal momento che specie alloctone come il *Procambarus clarkii* può impattare sull'ambiente in cui vive anche aumentando la torbidità delle acque a seguito della sua intensa attività di scavo.

Fattori umani

Nelle stazioni di monitoraggio è utile registrare anche tutta una serie di fattori legati alla pressione antropica, come eventuali alterazione idro-morfologiche, l'uso del suolo, le principali attività economiche presenti, la densità della popolazione umana, il numero e la distanza dei centri abitati, la presenza di eventuali stabilimenti di acquacoltura, l'intensità delle attività di pesca. I dati possono essere estrapolati, per quanto possibile, dalla cartografia regionale e integrati attraverso rilevazioni sul campo e informazioni raccolte presso gli uffici competenti.

Fattori biotici

La valutazione dello stato di un ecosistema acquatico attraverso l'adozione di criteri biologici consente una più robusta interpretazione della sua effettiva idoneità ecologica.

Copertura arborea

Quantificata mediante l'analisi digitale di una immagine scattata con una macchina fotografica disposta parallelamente al corso d'acqua e puntata verso il cielo. Le foto possono essere analizzate con semplici programmi di elaborazione grafica (e.g. J 1.32, Wayne Rasband, National Institute of Health, USA) per fornire un valore del grado di copertura arborea, fattore biotico importante per la specie indigena *Au. pallipes* complex, come per molte specie ittiche. Qualora non sia possibile ricorrere all'analisi di fotografie al computer, si consiglia all'operatore di indicare comunque la

percentuale di copertura arborea individuandone una tra le seguenti classi: 0-25%, 25-50%, 50-75%, 75-100%.

Disponibilità di rifugi

In una stazione di rilievo si consiglia di scegliere cinque porzioni di argine (1 m di transetto lineare ciascuna) rappresentative della stazione di campionamento, nelle quali sarà valutata:

- la presenza di tane (sì – no, eventualmente aggiungendo una stima di numero di tane al metro quadrato);
- la percentuale occupata da ciottoli (65–256 mm), massi (> 256 mm) e radici che offrono rifugio agli animali (per i ciottoli e massi sono indicati tra parentesi l'intervallo dimensionale in millimetri delle classi granulometriche).

•

Presenza di predatori

Si suggerisce di investigare anche la presenza di eventuali predatori dei crostacei, con particolare attenzione alle specie ittiche. La carta ittica regionale è la prima risorsa da consultare per reperire una informazione del genere, ma si può anche operare, se necessario, opportuni rilievi sul campo con l'utilizzo dell'elettrostorditore. Questa informazione è particolarmente importante nel caso in cui ci si trovi ad avere a che fare con popolazioni di decapodi alloctoni e si voglia procedere ad un contenimento numerico utilizzando un approccio integrato.

5.3. La valutazione dell'impatto antropico

Interventi di modifica della morfologia dei corsi d'acqua (escavazioni, cementificazioni degli alvei, artificializzazione delle rive, operazioni di disalveo, opere trasversali, ecc.) e derivazioni o captazioni idriche riducono la disponibilità di rifugi e determinano la scomparsa di ambienti necessari per le fasi del ciclo biologico della specie (Nardi et al., 2003). Oltre all'impatto meccanico diretto, questi interventi, infatti, determinano variazioni sensibili della sezione, della profondità, della velocità di corrente e dei caratteri sedimentologici del fondo con conseguente diminuzione della diversità ambientale. Inoltre, la riduzione della fascia riparia, unitamente a cali di portata, può produrre, durante la stagione estiva, un innalzamento della temperatura dell'acqua (Nardi et al., 2005). Inoltre corsi d'acqua con flussi idrici ridotti hanno una minore capacità di autodepurazione da inquinamento organico, fenomeni cui la specie è particolarmente sensibile. Le captazioni idriche possono aggravare le minacce già illustrate nei precedenti paragrafi.

Le opere trasversali al corso d'acqua, quali sbarramenti, briglie, impianti idroelettrici, ecc. che vengono a formare elementi di interruzione del *continuum* fluviale isolano le locali popolazioni, riducendo il trasporto solido, quindi lo stato di conservazione e la qualità complessiva degli ecosistemi fluviali. La non ottimale pianificazione dell'uso delle risorse idriche alla scala di bacino, è inoltre spesso accompagnata anche da una scarsa sensibilità/conoscenza sul valore degli ecosistemi fluviali con approccio esclusivamente ingegneristico e idraulico alla loro gestione.

La scelta di un determinato protocollo di valutazione ambientale dipende dallo scopo finale dello studio. Nel caso del gambero autoctono il protocollo deve comprendere non solo i parametri descrittivi della qualità chimico-fisica delle acque, ma anche informazioni sulle caratteristiche fisiche del corso d'acqua nonché del territorio circostante. Tutti i parametri valutati devono essere importanti per tutta la fauna acquatica, oltre che per la vita del gambero, e rappresentare potenziali limiti per la vita acquatica. Infatti la presenza di alterazioni ambientali è considerata uno dei maggiori fattori di stress dell'ambiente acquatico (Karr et al., 1986). Svartati sono i protocolli nati per valutare l'insieme di queste caratteristiche, dai *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadable Rivers* (approvati da U.S. Environmental Protection Agency) fino all'Indice di Funzionalità Fluviale (IFF) appositamente realizzato per le acque continentali italiane. Nel progetto CRAINat, si è optato per utilizzare un protocollo di rilevamento ambientale speditivo e di relativamente facile utilizzo, che prevede la valutazione sullo stesso tratto di 100 m di corso d'acqua, dove è stato realizzato il campionamento/monitoraggio astacicolo. Per questo motivo sono state impiegate le apposite schede

di rilevamento ambientale del protocollo di *Habitat Assessment* (Barbour et al., 1999). Il protocollo prevede la valutazione del tratto di corso da parte di almeno due operatori esperti, per ridurre la soggettività insita in una valutazione visiva. Un periodo di intercalibrazione tra gli operatori è comunque raccomandato. Nello specifico, il protocollo prevede la compilazione di due schede. Nella prima, di carattere descrittivo, vengono riportate alcune peculiarità generali del tratto esaminato, quali la vegetazione dominante, le percentuali di composizione del substrato, ecc. Per stilare la seconda scheda, bisogna stabilire visivamente se si tratta di un corso d'acqua ad "elevata pendenza", quindi con una buona frequenza di raschi e correntini, oppure di corsi d'acqua a "bassa pendenza", con una maggior percentuale di pozze. In entrambe le schede per tipologia fluviale sono presenti 10 domande, alle cui risposte viene assegnato un punteggio di riferimento. Le domande riguardano il micro- e macrohabitat dell'alveo, la morfologia del corso e l'habitat ripariale e prendono in considerazione numerosi parametri: livello di naturalità del corpo idrico, presenza e frequenza di ambienti tipici come pozze, raschi, correntini; velocità di corrente, deposizione di sedimento, presenza d'interventi in alveo, sinuosità del percorso fluviale, stabilità delle rive e ampiezza della vegetazione riparia. La scheda per ambienti ad elevata pendenza differisce da quella per ambienti a bassa pendenza nella descrizione del sedimento, che nel primo caso deve essere valutato smuovendo i ciottoli dei raschi, mentre nel secondo caso esaminando il substrato delle pozze. Altre differenze riguardano la valutazione del rapporto tra velocità di corrente e profondità per i corsi ad alta pendenza e la valutazione della variabilità e della frequenza delle pozze per quelli a bassa pendenza. Infine, si richiede di quantificare la frequenza dei raschi per corpi idrici a carattere torrentizio e la sinuosità dell'alveo per quelli di pianura. Il punteggio accresce all'aumentare della qualità dell'habitat. Il risultato finale è la somma dei punteggi parziali e viene espresso in percentuale rispetto al punteggio massimo in condizioni teoriche ottimali. Se il punteggio ricade tra gli intervalli di riferimento considerati, per assegnare la classe devono essere valutati il punteggio ottenuto e i dati chimico-fisici. L'indice individua una classe di qualità e fornisce un'utile indicazione dello stato d'idoneità del tratto di corso d'acqua indagato ad ospitare biocenosi acquatiche. Questa metodologia permette così di individuare i corsi d'acqua dove effettuare le reintroduzioni sia con novellame sia con la traslocazione di riproduttori. Inoltre fornisce utili indicazioni per l'individuazione dei tratti dove è necessario intervenire con azioni di riqualificazione ambientale in grado di migliorare lo stato qualitativo dell'habitat e quindi di mitigare l'isolamento delle popolazioni.

5.4. La raccolta dei parametri ambientali

In particolare, il protocollo di *Habitat Assessment* prevede le misurazioni di temperatura ($^{\circ}\text{C}$), conducibilità ($\mu\text{S/cm}$), pH e ossigeno disciolto (O_2 ppm, O_2 %). È importante inoltre determinare la durezza totale (CaCO_3 ppm). Queste misurazioni vengono effettuate in modo speditivo con apposite sonde, ad eccezione della durezza per la quale è necessario effettuare una titolazione, comunque fattibile agevolmente anche sul campo. Tali parametri rappresentano dei macro-descrittori delle condizioni idro-qualitative del corso d'acqua, oggetto di studio. La temperatura dell'acqua è un fattore chiave dello stato idrico delle acque superficiali. Si tratta di uno dei principali regolatori dei processi vitali che si svolgono nelle acque. La temperatura dell'acqua influenza tutti i processi del metabolismo, la durata, l'andamento e la velocità della crescita come pure la composizione delle biocenosi. In particolare, a temperature eccessivamente elevate ($>22^{\circ}\text{C}$) interverrebbero disturbi fisiologici e valori prossimi a 25°C sarebbero tollerati da *Au. pallipes* solo per brevi periodi (Mancini, 1986; Arrignon, 1996). Dettagliate informazioni su questo parametro si possono ottenere con l'utilizzo di appositi registratori di temperatura (data logger) posizionati nei corsi d'acqua (es. rilevamento ogni 2 ore). Tutte le acque superficiali contengono una certa quantità di ossigeno disciolto. La solubilità dell'ossigeno in acqua dipende dalla temperatura, dalla concentrazione salina dell'acqua e dalla pressione atmosferica. È importante anche la portata idraulica, la velocità della corrente e la presenza di sostanze inquinanti come tensioattivi, oli e solidi sospesi che riducono gli scambi con l'atmosfera. La quantità di ossigeno disciolto nelle acque superficiali è inoltre legata alla qualità e alla concentrazione delle sostanze organiche presenti, all'attività batterica e fotosintetica.

Quando un corpo idrico riceve scarichi di natura organica di origine civile, zootecnica o industriale, l'ossigeno viene utilizzato nei processi di ossidazione biologica delle sostanze organiche inquinanti, fino a scomparire. In condizioni anossiche si hanno fenomeni fermentativi a opera di batteri anaerobi, con produzione di ammoniaca e acido solfidrico. Quindi la misurazione dell'ossigeno fornisce un'indicazione sulla presenza di inquinanti soprattutto di origine organica che ad elevate concentrazioni possono risultare letali per *Au. pallipes*. Va detto, inoltre, che la specie non è in grado di sopportare basse concentrazioni di ossigeno (inferiori al 60%), soprattutto nelle fasi di sviluppo embrionale. Il pH, pari all'inverso del logaritmo della concentrazione di ioni idrogeno, è una misura dell'acidità dell'acqua. Il pH delle acque naturali è un elemento di giudizio molto importante, valori molto più bassi o più alti dell'intervallo consentito indicano un inquinamento rispettivamente da acidi o da basi forti. Per la specie in questione l'intervallo ottimale è compreso tra 6,5 e 8,5 con valori estremi di tolleranza non inferiori a 6 e non superiori a 9 (Mancini, 1986; Arrignon, 1996). Il dato di conducibilità indica con immediatezza il grado di mineralizzazione delle acque. Essa si esprime in microsiemens per cm ($1 \mu S \text{ cm}^{-1} = 10^{-6} \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e fisicamente corrisponde al reciproco della resistenza offerta dall'acqua. Questo parametro dipende dalle componenti ioniche dell'acqua, dalla temperatura (si esprime a temperature definite: 20 oppure 25 °C) e costituisce, quindi, una misura indiretta del suo contenuto salino. La maggior parte delle acque ha una conducibilità compresa tra 100 e 1000 $\mu S/cm$. Non è un parametro che da solo fornisce direttamente indicazioni di criticità ambientale per il gambero, ma deve essere sempre valutato in relazione alla durezza totale dell'acqua ($K_{25} \times 0.64 = \text{CaCO}_3$ circa). Elevati valori di conducibilità in acque con scarse concentrazioni di carbonato di calcio possono indicare presenza di sali supplementari, ad esempio provenienti da scarichi industriali o zootecnici. La durezza totale dell'acqua dipende principalmente dalla somma delle concentrazioni di ioni calcio e magnesio (espressa in mg/L di CaCO_3). Quest'ultimo è normalmente presente in concentrazione minore rispetto al calcio. In natura il calcio e il magnesio sono presenti in molte rocce sedimentarie, le più comuni delle quali hanno composizione calcarea. Questo parametro è estremamente importante per il gambero autoctono in quanto, maggiore è il contenuto di ioni calcio nell'acqua, più veloce è l'indurimento dell'esoscheletro e quindi minore il tempo di esposizione dell'animale alla predazione.

6. I METODI DI CAMPIONAMENTO DEI DECAPODI D'ACQUA DOLCE

6.1. La cattura a mano e il trappolamento con esca

Nei siti con acque poco profonde, fondo duro e corrente moderata si consiglia di campionare con catture a mano. In questo caso, gli operatori della squadra risalgono il fiume (o il torrente) disposti a formare un fronte trasversale rispetto al letto. Durante la risalita, procedono lentamente guardando il fondo (in zone molto ombreggiate può essere necessario utilizzare una torcia), alzando massi e muovendo, con l'ausilio di un bastone, le radici sulle sponde dove spesso trovano rifugio i gamberi. I gamberi, una volta individuati, devono essere catturati a mano o con un retino. Si misurano, si sessano e poi si rilasciano, possibilmente nello stesso luogo di raccolta.

Si suggerisce di identificare come stazione di campionamento un transetto di circa 200 metri che due operatori devono percorrere ogni giorno alla stessa ora per quattro giorni impiegando 60 minuti circa. L'attività deve essere ripetuta ogni anno nello stesso periodo. A ogni campionamento si consiglia di scattare una foto rappresentativa della stazione e di rilevare la temperatura con un termometro da campo. Questa metodica può essere applicata sia di giorno sia di notte, tuttavia è bene considerare che specie come il gambero indigeno (al contrario di specie aliene come *Procambarus clarkii*, facilmente campionabili anche di giorno) hanno abitudini prevalentemente crepuscolari notturne e sono quindi più facilmente individuabili di notte.

Questa tecnica è tanto più efficace quanto più l'operatore è esperto e, pertanto, i dati che si ottengono da questo tipo di campionamento, anche se richiede un tempo più lungo e può apparentemente sembrare più accurato, sono di difficile standardizzazione e sicuramente non comparabili a quelli ottenuti con il trappolamento. In ogni caso, i dati raccolti saranno utili a valutare la presenza dei gamberi e a descrivere lo stato delle popolazioni presenti.

Elenco dei principali strumenti specifici per le catture a mano

1. Torcia per illuminare il fondo, in particolare nelle zone ombreggiate.
2. Retino per la raccolta.
3. Secchi per il trasporto degli animali durante la raccolta.
4. Termometro da campo.
5. Macchina fotografica.
6. Quaderno da campo e matite.

Nei siti con acque profonde o con elevata corrente, si consiglia di procedere con la cattura mediante trappole. In ogni stazione di campionamento si consiglia di utilizzare 8 trappole (1 ogni 25 m, per circa 200 m di transetto) disponendole, ove possibile, a scacchiera lungo le sponde del corso d'acqua. Tutte le nasse (vedi sotto le caratteristiche) saranno mantenute in acqua per 24 ore e i gamberi prelevati ogni giorno alla stessa ora. Tutti i giorni saranno cambiate le esche in modo da mantenere la stessa capacità attrattiva tra giorni di cattura. Ogni stazione sarà monitorata per una intera settimana lavorativa all'anno, effettuando un totale di 4 pescate. A ogni campionamento si consiglia di scattare una foto rappresentativa della stazione e di rilevare la temperatura con un termometro da campo.

Quale che sia la metodica utilizzata per il campionamento, è essenziale riportare su un quaderno da campo (scrivendo a matita o utilizzando la matita a grafite) i dati delle catture e altre informazioni relative alla stazione di campionamento (es. ora del rilievo, meteo, caratteristiche della vegetazione e alveo).

Elenco dei principali strumenti specifici per il trappolamento con esca

1. Trappola: è una nassa tipo bertovello, a forma cilindrica (dimensioni 60x30 cm; maglia 6 mm) e doppia apertura imbutiforme alle estremità. Richiudibile e/o impilabile per agevolare il trasporto di un elevato numero ma, una volta aperta, rigida per permetterne l'uso anche appoggiata in substrati duri. Sul lato ha una cerniera che consente un rapido svuotamento. Ne occorrono 8 per ogni stazione di campionamento. La trappola sarà fissata con un cordino alla riva e, se necessario, zavorrata al

fondo utilizzando pietre legate all'esterno della nassa al fine di evitare di provocare danni ai gamberi intrappolati durante la fase di recupero della nassa. La nassa dovrà rimanere semi-emersa per garantire la sopravvivenza di eventuali animali non target catturati.

2. Esca: da inserire in ogni trappola è costituita da una confezione di alimento per gatti (a base di pollo o manzo, 100 g) in vaschetta di alluminio, opportunamente forata (ma non aperta) per permettere la diffusione dell'odore per oltre 24 ore (una per trappola per 4 giorni, 32 esche per ogni stazione di campionamento).
3. Sacchi per la raccolta dei rifiuti per lo smaltimento delle esche.
4. Cordino per fissare le trappole alla riva.
5. Termometro da campo.
6. Macchina fotografica.
7. Quaderno da campo e matite.

6.2. L'importanza della standardizzazione dei metodi di campionamento

I campionamenti in generale richiedono una buona conoscenza, da parte degli operatori, dell'ambiente fluviale e delle caratteristiche eco-etologiche della specie oggetto di studio. Anche per ottenere informazioni qualitative è comunque necessario che le indagini vengano affidate a personale specializzato. Nel caso in cui i campionamenti debbano essere standardizzati e quindi lo sforzo di cattura deve rimanere costante, l'utilizzo di strumentazione idonea come le nasse innescate (in numero fisso e la loro ispezione a cadenza regolare) riduce notevolmente la soggettività degli operatori. Quando queste metodiche vengono utilizzate per la ricerca diurna o notturna, l'esperienza dell'operatore risulta fondamentale. Infatti in un esperimento condotto in alcuni fiumi inglesi, l'effetto-operatore è risultato particolarmente grande e imputabile alla diversa esperienza degli operatori coinvolti (Peay, 2002). È buona prassi comunque che i campionamenti siano effettuati almeno da due operatori sia per minimizzare la variabilità sia per ragioni di sicurezza. Inoltre se i monitoraggi sono previsti all'interno di progetti che coinvolgono personale di Enti locali o personale volontario, si consiglia l'organizzazione di brevi corsi per la formazione del personale, tenuti da esperti del settore e articolati in lezioni frontali ed in attività pratiche sul campo, al fine di uniformare il monitoraggio e minimizzare la variabilità degli operatori.

6.3. La manipolazione degli esemplari a seguito della cattura

Tutti gli animali catturati, a prescindere dalla specie di appartenenza e dalla tecnica di campionamento, saranno contati ogni giorno annotando il loro numero totale nell'apposito spazio della scheda di monitoraggio. Per le operazioni successive, gli individui pescati con trappole o a mano seguiranno un iter diverso in relazione alla specie di appartenenza. Una volta catturati, i gamberi indigeni saranno rilasciati all'interno del transetto di cattura nel più breve tempo possibile, mentre i gamberi alloctoni saranno rimossi dalla stazione di campionamento. Per i gamberi indigeni dopo aver segnato il numero delle catture giornaliere nell'apposita sezione della scheda di monitoraggio, dovranno essere marcati ad ogni cattura e immediatamente rilasciati nel sito di provenienza all'interno del transetto di cattura. Per ogni esemplare raccolto (o per un campione di essi di almeno 50 individui) saranno raccolte le informazioni sulla taglia (lunghezza del cefalotorace, CL, il sesso, il numero di chele, la presenza di parassiti, lo stato riproduttivo (uova o schiuse) e la muta, nonché eventuale marcatura presente (se il campionamento prevede un sistema di cattura, marcatura e ricattura). Per ottenere un campione casuale saranno esaminati tutti gli esemplari contenuti in una trappola, aprendone una alla volta fino al raggiungimento della dimensione ideale del campione oppure, nel caso di stazioni in cui sono previste catture a mano, saranno analizzati con ordine i primi 50 individui catturati. Nelle stazioni in cui si cattura un numero più basso di individui, si procederà all'esame di ciascuno. Tutte le informazioni raccolte devono essere riportate nel quaderno da campo.

6.4. L'uso dei metodi di marcatura/ricattura

La marcatura degli animali è una tecnica ampiamente utilizzata per ricerche in ambito ecologico, ad esempio studi di popolazione, valutazioni della densità della specie in una data area, studi di comportamento e di home range, valutazioni del successo di reintroduzione, del tasso di sopravvivenza e di crescita degli animali. Per quelle specie meritevoli di conservazione, come *Au. pallipes*, la marcatura riveste un ruolo fondamentale per valutare alcuni aspetti del successo delle misure di conservazione intraprese. Per i gamberi d'acqua dolce, sono numerose le informazioni sui metodi di marcatura, la maggior parte delle quali riportate nelle revisioni di Haddaway et al. (2011) e di Vogt (2012). Sono invece molto scarse le informazioni riguardanti i metodi di marcatura per granchi e gamberetti d'acqua dolce. Dal momento che i crostacei crescono attraverso mute, la sostituzione dell'esoscheletro crea un problema per l'utilizzo delle più convenzionali metodiche di marcatura usate per gli artropodi. Marcature effettuate direttamente sulla superficie esterna dell'esoscheletro vengono facilmente perdute dopo una sola muta (Mittenthal & Hutton, 1982). Premesso ciò, occorre tenere in considerazione alcuni aspetti fondamentali per marcare questi animali (Weingartner, 1982): 1) il marcatore non deve danneggiare la crescita dell'animale; 2) il marcatore deve essere mantenuto anche dopo mute successive; 3) il marcatore deve essere tale da poter essere usato anche con esemplari giovani e individui di piccole dimensioni; 4) il marcatore deve permettere il riconoscimento dell'animale senza bisogno di sacrificare l'animale stesso; 5) Il marcatore non deve modificare il tasso di sopravvivenza o di emigrazione (ad esempio riducendo la mobilità degli esemplari o facilitandone l'individuazione da parte dei predatori). Di seguito vengono riportati una serie di marcatori utilizzati in letteratura, descrivendone brevemente i pregi e difetti. Va tenuto presente che non esiste a oggi un sistema di marcatura migliore di un altro in assoluto, ma si consiglia di scegliere il metodo sulla base dello studio o monitoraggio che si intende intraprendere.

Gamberi

I tag interni sono stati ampiamente utilizzati per marcare i gamberi marini e sono stati testati con successo anche per quelli di acqua dolce. Gli elastomeri (*Visible implant elastomer tags* o VIE tags) consistono in due soluzioni a base di silicone che solidificano una volta mischiate. Vengono iniettate al di sotto dell'esoscheletro, solitamente nella parte terminale dell'addome, e rimanendo elastici non danneggiano i tessuti. Sono visibili a occhio nudo e sono presenti in commercio vari colori, anche fluorescenti, in modo da essere visibili alle radiazioni UV. Variando la posizione di inserzione, il colore e il quantitativo di VIE immesso, si possono rendere riconoscibili individualmente numerosi animali. L'impiego di questi tag nel gambero *Faxonius rusticus* non ha mostrato alterazioni nello sviluppo di giovani e adulti della specie, ma talvolta sono state osservate frammentazione degli elastomeri (Clark & Kershner, 2006). Esistono poi tag alfanumerici (*Visible implant alphanumeric* o *VI-alpha tags*) che vengono solitamente inseriti immediatamente al di sotto dell'esoscheletro. Sono dei tag morbidi e fluorescenti, ognuno dei quali porta un codice alfanumerico caratteristico che può essere facilmente letto attraverso la superficie dell'addome. Non sembrano avere effetti collaterali sulla sopravvivenza dei decapodi e sulla crescita degli stessi, e il tasso di ritenzione dei tag risulta essere moderato (Isely & Stockett, 2001; Jerry et al., 2001). Sebbene ancora poco studiato, questo metodo sembra essere molto promettente per marcare i crostacei in generale, visto che non si sono notati aumenti di mortalità. Tuttavia la ritenzione dei tag appare minore rispetto agli elastomeri, e i VI-alpha tags sono più costosi e talvolta difficili da leggere se i tessuti non sono sufficientemente trasparenti. Sono stati ampiamente impiegati anche i *Coded microwire tags* (CWT), piccoli frammenti di filo di ferro (1,1 mm di lunghezza per 0,25 mm di diametro) magnetizzati e muniti di codici numerici. Questi tag non sono visibili dall'esterno e vengono localizzati con un magnete. Per permettere un'identificazione individuale, tuttavia, i tag devono essere rimossi tramite dissezione, di solito dopo aver sacrificato l'animale. In generale studi scientifici hanno registrato un alto livello di ritenzione dei tag in molti decapodi marini (Linnane & Mercer 1998; Davis et al., 2004), mentre per quanto riguarda i gamberi dulcacquicoli si raggiungono percentuali del 100% (Isely & Stockett, 2001). In generale, non hanno mostrato effetti sulla sopravvivenza degli animali tra i decapodi dulcacquicoli, anche se i risultati sulla sopravvivenza e sul tasso di crescita su specie marine sono

controversi (Sharp et al., 2000; Davis et al., 2004). L'elevata ritenzione di questi marker, la bassa mortalità e il basso costo per unità sono punti a favore di questo sistema di marcatura. Tuttavia il costo elevato dell'apparecchiatura necessaria per effettuare le marcature e l'impossibilità di leggere il codice identificativo in animali vivi rendono questo sistema poco adatto per monitorare singoli individui e da usare in progetti di conservazione, mentre può essere adatto per grandi gruppi di animali (e.g. restocking) o in caso di specie invasive. Un'altra soluzione per la marcatura interna degli animali prevede l'utilizzo dei transponder passivi, o *Passive integrated trasponder (PIT) tags*, piccoli microchip (12 x 2.1 mm circa) pre-programmati con un codice a dieci cifre, incapsulati in vetro o plastica. Questo chip inerte è stimolato a rispondere con il suo codice ad un set di frequenze elettromagnetiche emesse da un ricetrasmittitore. Questi tag hanno un tempo di vita indefinito ed è possibile ottenere più di 34 milioni di codici unici. La distanza di ricezione è aumentata considerevolmente con le nuove tecnologie, fino a 18 cm (Lucas et al., 1999). La loro ritenzione all'interno degli animali è decisamente elevata e può raggiungere anche il 100% con assenza di impatto su crescita e sopravvivenza nel gambero d'acqua dolce *Pacifastacus leniusculus* (animali di lunghezza carapace > 30 mm; Bubb et al., 2002). È documentato anche l'utilizzo, con successo pari all'80%, in ambienti naturali, con animali che vengono individuati con il radiotrasmettitore portatile. Non ci sono tuttavia indicazioni su una taglia minima per poter applicare questo metodo di marcatura, ma da uno studio di Black et al. (2010), in animali con lunghezza del cefalotorace inferiore a 18 mm si è verificata un'elevata mortalità sia in laboratorio che sul campo. Questo tipo di tag dunque ha un elevato tasso di ritenzione e non ci sono effetti dannosi su animali di grandi dimensioni (e.g. Shepherd et al. 2011), mentre esistono impatti per animali di piccole dimensioni. Tuttavia sia il costo per i tag che il costo dei ricetrasmittitori è estremamente elevato, rendendo il metodo accessibile solo per progetti di larga scala. I marker esterni hanno sicuramente una più lunga tradizione di impiego, essendo tendenzialmente più semplici e immediati nel loro utilizzo. Una prima famiglia di marker è quella che comprende i tag in polietilene, largamente impiegati per marcare individualmente i crostacei decapodi in generale. Vengono applicati perforando l'addome con un ago e fissando il tag in modo tale da farlo sporgere per metà da una parte e per metà dall'altra dell'addome stesso. Questi marcatori sono già stati impiegati per marcare una grande varietà di crostacei, gamberi compresi (e.s. Meriweather, 1986). Ci sono studi tuttavia che riportano svariati problemi durante le mute, perché questi tag rendono difficoltosa o impediscono la perdita del carapace (e.g. Linnane & Mercer, 1998) e, qualora l'animale riesca a fare la muta, gli animali risultano comunque danneggiati nei normali movimenti. Un punto a sfavore per questi marker è dato dal fatto che in generale i tag esterni vengono facilmente perduti per molte ragioni, e quelli sporgenti sono ancora più facili da perdere durante tentativi di predazione o perché rimangono impigliati al substrato. In generale, in conclusione, sebbene facili da individuare esercitano una considerevole interferenza con la crescita e la sopravvivenza degli individui e non sono dunque adatti a studi di conservazione, in cui tipicamente la mortalità dovuta alla marcatura deve essere ridotta al minimo. Un altro metodo tradizionalmente largamente usato con i gamberi è l'ablazione del telson o degli uropodi. Si possono infatti danneggiare con differenti combinazioni le cinque appendici caudali (telson e uropodi), in modo da poter identificare fino a 10,800 individui diversi (Guan, 1997), mediante l'utilizzo di forbici o perforatrici. Una marcatura del genere viene mantenuta per periodi diversi a seconda della specie. Gamberi così marcati sono stati identificati fino a tre mute successive in *Paranephrops zealandicus* (Hopkins, 1967). In *Pacifastacus leniusculus*, un'analisi sperimentale ha mostrato che la sopravvivenza degli adulti (> 30 mm di lunghezza del carapace) non è influenzata dalla marcatura, ma la crescita invece ne risulta ridotta del 15% circa (Guan, 1997). Questo metodo è sicuramente un modo economico di marcare un gran numero di individui. Tuttavia questi segni distintivi vengono rapidamente perduti per le capacità rigenerative dei tessuti a seguito degli eventi di muta, rendendo il metodo di marcatura inadatto per studi a lungo termine. Non sono inoltre da trascurare gli effetti negativi sul tasso di crescita che sono stati osservati e che rendono sconsigliabile questo metodo soprattutto in progetti di conservazione. Uno dei metodi con una lunga storia di applicazione con i gamberi di fiume (Abrahamsson, 1965) in particolare è la cauterizzazione, che prevede l'utilizzo del saldatore in grado

di causare delle marcature da ustione sul carapace dell'animale (si parla anche di *electric cauterisation* o *heat-branding*). In genere la metodica seguita è la seguente: un ferro da saldatore viene applicato al cefalotorace per 1 secondo e ciò causa la morte delle cellule del derma e dell'epidermide, cromatofori inclusi. Questa marcatura persiste attraverso almeno due mute in *Astacus astacus* (Abrahamsson, 1965) e poi viene persa. Si possono utilizzare varie combinazioni e marcare così individualmente fino a svariate centinaia di animali (Abrahamsson, 1971). La ritenzione si è dimostrata elevata nel granchio del cocco (Fletcher et al., 1989) e, tra i gamberi, in *Faxonius (Orconectes) limosus* (Buřič et al., 2008), mentre la sopravvivenza non sembra essere influenzata negli individui adulti. Tuttavia risulta significativamente ridotta nei giovanili dell'astice *Homarus gammarus* (Linnane & Mercer, 1998). Nessun effetto negativo sulla sopravvivenza è stato registrato per il gambero alloctono *Pacifastacus leniusculus*, marcato con questa metodica in un recente studio condotto in Germania (Wutz & Geist, 2013). Il metodo è stato molto utilizzato anche in Italia, sia sulle specie alloctone come *Pr. clarkii* (Cecchinelli et al., 2009; Aquiloni & Zanetti, 2014), sia sul gambero nativo *Au. pallipes* (Aquiloni et al., 2009) per studi di popolazione e progetti di conservazione e studi di home range o comportamentali. Non sono mai stati investigati eventuali danni sulle forme giovanili di gambero, danni invece prevedibili su individui di piccole dimensioni. Studi di vario tipo e su specie diverse di gamberi di fiume hanno suggerito delle taglie minime che vanno dai 13 ai 35 mm per poter ricorrere a questa marcatura (Robinson et al., 2000; Whitmore & Huryn, 1999; Söderbäck, 1995; Streissl & Hödl, 2002). Ci sono evidenti limiti di taglia legati anche alle dimensioni della marcatura stessa (attorno ai 3 mm) che risulta ingombrante sul cefalotorace di piccoli animali. È un metodo particolarmente adatto in studi in cui si devono marcare molti animali che devono essere monitorati per medi periodi, fino a due mute in genere. Servirebbero ulteriori indagini specifiche volte a valutare se il metodo danneggia in termini di crescita e di sopravvivenza i gamberi, soprattutto nell'ottica di una sua applicazione con specie meritevoli di conservazione, come *Au. pallipes*. Osservazioni preliminari nel breve periodo su questa specie hanno infatti mostrato alcune alterazioni comportamentali (Gammell, 2015). L'utilizzo di vernici e pigmenti di vario tipo è stato ampiamente testato più o meno direttamente per i gamberi. Smalto per le unghie, vernice bianca tipo bianchetto, pennarelli indelebili a tenuta in acqua sono stati largamente utilizzati e la loro efficacia è stata riscontrata solo in tempi estremamente ridotti o in condizioni di laboratorio. Il chimismo dell'acqua e le interazioni animale-animale e animale-substrato fanno sì che questo tipo di marcatura abbia una resistenza estremamente variabile nel tempo, ma che non supera i pochi giorni.

Granchi e gamberetti

In molti studi la marcatura dei granchi è stata effettuata tramite etichette tipo DYMO attaccate con colla epossidica sul carapace (Vannini & Gherardi, 1981; Barbaresi et al., 1997; Barbaresi & Gherardi, 1997). L'uso di pennarelli resistenti all'acqua (Mazza et al., 2012) ha dato buoni risultati, ma solo se applicato per brevi periodi di tempo, nel caso di studi riguardanti la stima delle popolazioni tramite cattura, marcatura e ricattura. La radiotelemetria o il radio-tracking, con trasmettenti attaccate al carapace, è stata invece utilizzata per specifici scopi tra cui investigare l'attività locomotoria del granchio in Toscana (Barbaresi et al., 1997). Le piccole radio venivano attaccate al carapace del granchio con colle a due componenti ed avevano una buona durata e resistenza all'usura. Un metodo di marcatura simile, con tag identificativi attaccati sul carapace è stato utilizzato anche per lo studio dei granchi del genere *Potamonautes* (Dobson et al., 2007). Date le dimensioni ridotte della maggior parte di queste specie, sono stati utilizzati dei piccoli tag simili a quelli che si trovano in commercio per la marcatura delle api. Gilbey et al. (2008) hanno marcato il granchio cinese *Eriocheir sinensis* con smalto per unghie applicato sul carapace (asciugato in precedenza), già collaudato per altre specie di granchi e senza effetti sul comportamento, mentre per il granchio blu *Callinectes sapidus* sono stati utilizzati metodi classici, come le etichette attaccate con del filo di rame alle spine del carapace (Rittschof et al., 2010) e più innovativi, come gli elastomeri (Davis et al., 2004). Quest'ultima tecnica di marcatura, utilizzata soprattutto per i pesci, prevede l'uso di una sostanza liquida, che solidifica in poco tempo e che viene iniettata nel tessuto con vari metodi. La possibilità di utilizzare diversi colori

o combinazioni degli stessi consente praticamente una marcatura pressoché individuale e sembra non avere impatti sulla crescita e sul comportamento degli animali. Al momento non ci sono studi sulle nostre specie di crostacei, ma gli elastomeri potrebbero rappresentare un buon metodo, soprattutto per i gamberetti, caratterizzati da una colorazione trasparente. Gli elastomeri, infatti, sono stati utilizzati nei giovani di *C. sapidus* e il colore è stato iniettato in un'area abbastanza trasparente da permettere la visualizzazione della marcatura, ovvero il segmento basale del quinto pereopode (Davis et al., 2004). Nonostante i diversi studi riguardanti l'ecologia di *At. desmaresti* e *Pa. antennarius* nessun autore riporta un metodo per la marcatura di questi animali. L'unico studio recente che riporta la marcatura per i gamberetti nostrani è di Jugovic et al. (2015). In questo articolo, gli autori utilizzano un vecchio metodo consistente nel taglio della punta dell'uropode, telson e/o rostro per la stima delle popolazioni della specie cavernicola *Troglocaris anophthalmus*. Il problema del taglio di porzioni del corpo degli animali può favorire però le infezioni da parte di batteri e funghi e quindi compromettere la vitalità delle specie oggetto di studio. L'uso di coloranti, tipo trypan blu e rosso è stato utilizzato per studi di comportamento sul gamberetto *Neocaridina davidii* in Giappone (Nobuaki & Tatsuya, 1997) e potrebbe essere sperimentato anche sui nostri gamberetti. Varie marcature sono state sperimentate invece sul gambero di fiume gigante *Macrobrachium rosenbergii*. La specie, di origine asiatica, è ben conosciuta per le sue carni e ha un importante valore commerciale. Oltre al trypan blu, usato anche in natura per lo studio della biologia di una specie dello stesso genere (Rajyalakshmi et al., 1968), sono stati utilizzati tag interni fluorescenti riportanti un codice alfa numerico (Pillai et al., 2009) ed elastomeri (Dinh et al., 2012). Oltre ai già citati elastomeri, i gamberetti potrebbero essere marcati con cibo contaminato con un colorante, come riportato in Smith & Present (1983), dove varie specie di anfipodi venivano nutriti con cibo mescolato al colorante Fast Green FCF. Gamberetti e granchi potrebbero essere anche marcati utilizzando un semplice, ma efficace metodo, già collaudato per i gamberi, sia in laboratorio che in natura e che consiste nell'utilizzo di un pennarello resistente all'acqua. La marcatura con il pennarello ha una durata di circa 2 settimane e non è tossica per gli animali, secca in pochi secondi e i pennarelli sono disponibili in vari colori, in modo da permettere diverse combinazioni (Ramalho et al., 2010).

6.5. Il trattamento delle specie alloctone

Col decreto legislativo n.230 del 15 dicembre 2017, l'Italia ha adeguato la normativa nazionale alle disposizioni del Regolamento 1143/14 del Parlamento Europeo e del Consiglio dell'Unione Europea. Per le specie di decapodi inseriti nella lista di specie esotiche di rilevanza unionale (si veda la lista sul sito del LIFE ASAP al link: <http://www.lifeasap.eu/index.php/it/specie-aliene-invasive/rilevanzaunionale>), come il gambero rosso della Louisiana *Procambarus clarkii* e altri decapodi alloctoni presenti sul territorio italiano, e nel futuro per quelle specie esotiche di rilevanza nazionale, esistono specifici divieti legati, tra gli altri, all'introduzione, detenzione, trasporto e rilascio in natura che rendono ancora più stringente il divieto generale di rilasciare in natura una specie alloctona, già espresso dal DPR 120/2003.

La soluzione che si prospetta prevede dunque lo smaltimento dei crostacei alloctoni come rifiuti speciali (come ad esempio effettuato durante il progetto LIFE RARITY, <http://www.life-rarity.eu/>). Gli animali saranno dunque stoccati inizialmente in condizioni di ipotermia, in congelatore a temperatura di 20°C per almeno una settimana. Prima dello smaltimento gli animali possono essere scongelati per la raccolta di informazioni, come ad esempio la lunghezza del cefalotorace, qualora non sia stato possibile effettuare eventuali misurazioni sul campo. L'acquisizione dei dati di popolazione in questa fase, su campioni facilmente manipolabili, ha il vantaggio sia di velocizzare le attività sul campo sia di aumentare l'accuratezza delle misure.

Da un punto di vista normativo, non esistono indicazioni per la soppressione dei decapodi alloctoni catturati. La Direttiva Europea sulla protezione degli animali (Council Directive 86/609/EEC), recepita in Italia con il D.L. 92/116, e successiva modifica (Council Directive 2010/63/UE), non comprende i decapodi. Tuttavia considerando le caratteristiche dei decapodi è possibile ricorrere a metodi etici per rimuovere gli animali in maniera accettabile e giustificabile di fronte al largo

pubblico. In quanto animali ectotermi (“a sangue freddo”), i decapodi hanno una temperatura corporea che varia con quella ambientale senza capacità di termoregolarsi per via fisiologica. Con l’arrivo dell’inverno riducono progressivamente le loro funzioni metaboliche fino a cadere in uno stato di ibernazione da cui escono la primavera successiva con l’aumento della temperatura. Per questo motivo, i gamberi possono essere soppressi in modo etico se esposti a temperature progressivamente più rigide e poi trasferiti e mantenuti in congelatore per almeno 48 ore.

Gli animali uccisi devono quindi essere smaltiti come ‘rifiuti speciali’, secondo quanto stabilito dal decreto Ronchi (D.L. 5 1997/22) e successive modifiche. All’art. 7 comma 3a del decreto, vengono infatti inseriti tra i rifiuti speciali anche i rifiuti derivanti ‘da attività agricole e agroindustriali’ e, seguendo il catalogo europeo dei rifiuti (CER) istituito dall’Unione europea (Decisione 2000/532/CE), è identificato dal codice 020102 (scarti di tessuti animali):

02 Rifiuti prodotti da agricoltura, orticoltura, acquacoltura, selvicoltura, caccia e pesca, trattamento e preparazione di alimenti;

02 01 Prodotti da agricoltura, orticoltura, acquacoltura, selvicoltura, caccia e pesca;

020102 Scarti di tessuti animali.

Tabella 6. Vantaggi e svantaggi da tenere in considerazione durante la fase di progettazione del campionamento.

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

7. I PATOGENI E I PARASSITI DEI DECAPODI D'ACQUA DOLCE

7.1. L'identificazione degli agenti patogeni

Il gambero di fiume è fortemente suscettibile ad alcune malattie, siano esse micotiche, batteriche o parassitarie, spesso introdotte con gamberi alloctoni, portatori asintomatici. La malattia più temuta è l'afanomicosi o "peste del gambero" che spesso porta alla morte di intere popolazioni in breve tempo. L'agente causale, *Aphanomyces astaci* Schikora, 1906, è un oomicete della famiglia delle Saprolegniacee. L'infezione si propaga nell'acqua tramite le zoospore prodotte in gran numero entro un ambito di temperature assai ampio (da 2 a 25 °C), il che le permette di estendersi durante tutto l'anno. Infezioni causate da *Saprolegnia* interessano in particolare le uova dei gamberi, in condizioni di allevamento. In questo caso l'oomicete colonizza le uova morte e da qui si estende a quelle vicine, causando così gravi perdite di uova negli allevamenti e nell'incubazione artificiale delle uova. Il Protozoo endoparassita *Thelohania contejeani* Henneguy, 1892 è responsabile invece della thelohaniosi, comunemente nota come "malattia della porcellana" a causa della colorazione lattiginosa assunta dalla muscolatura addominale. La malattia provoca la degenerazione dei tessuti muscolari. L'infezione si diffonde tipicamente per necrofagia e cannibalismo sugli individui malati. Il decorso può durare anche molti mesi. La prevalenza registrata in Europa varia da 0,1% a 30% (Souty-Grosset et al., 2006). La "malattia dei punti bianchi" o *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) causa mortalità elevatissime nei gamberi marini della famiglia *Penaeidae*, ma anche i gamberi d'acqua dolce sono suscettibili all'infezione, raggiungendo un tasso di mortalità del 100% in studi di laboratorio (Edgerton, 2005). La malattia si trasmette principalmente per ingestione di tessuti infetti (cannibalismo, predazione), per contatto diretto, tramite vettori quali rotiferi, vermi policheti, isopodi e crostacei non decapodi (*Artemia salina*), meno frequentemente tramite acqua contaminata. Nei Penaeidi è tipica la presenza di macchie biancastre sulla cuticola dell'esoscheletro. Un'altra micosi è la "ruggine dei gamberi" o "burn spot", provocata da diverse specie di *Fusarium*, che determina lesioni alle branchie e ai muscoli. All'esterno i punti di infezione si presentano come macchie nere-rossastre (da qui il nome) che possono degenerare fino a vere e proprie lacerazioni. Ha un lungo decorso e porta a una mortalità abbastanza modesta, spesso dovuta a infezioni batteriche secondarie. Gli Anellidi del genere *Branchiobdella* sono ectosimbionti (o più precisamente ectocommensali) che vivono sull'esoscheletro dei gamberi, soprattutto nelle camere branchiali, cibandosi di diatomee, detriti e minuscoli invertebrati. In particolari condizioni (es. scarsa qualità dell'acqua, eutrofia, etc.) questi branchiobdellidi aumentano in numero e indeboliscono i gamberi, rendendoli più vulnerabili alle malattie epidemiche.

7.2. L'equipaggiamento per il prelievo di campioni biotici per il monitoraggio dei patogeni

Per prelevare dei campioni per analisi sanitarie:

- secchi dove riporre temporaneamente gli animali;
- contenitori refrigerati per il trasporto degli animali malati nel caso sia necessario effettuare analisi di laboratorio;
- pinzette e forbici da dissezione, e siringhe per prelievo di campioni cuticolare, muscolare e emolinfatico.

7.3. La diagnosi dei campioni

Esame a fresco:

- porzione di cuticola osservata a piccolo ingrandimento
- identificazione di ife a settate ed eventuali sporangi

Esame colturale in terreno agarizzato (Alderman & Polglase, 1986):

- RGY agar;
- richiede esemplari vivi o morti entro le 12-24 ore (refrigerati);

- efficace solo in specie sensibili, richiede tempi lunghi (15 gg);
- isolamento ed identificazione morfologica di ife e sporangi;
- necessario per analisi molecolare RAPD-PCR.

Esame istologico:

- eseguito su esemplari vivi o fissati in campo (fissativo di Davidson o formalina);
- evidenzia la presenza di ife fungine (colorazione di Grocott);
- non discrimina tra *A. astaci* e altri oomiceti (*Saprolegnia*, *Leptolegnia*).

Analisi molecolare (PCR end-point, real-time PCR):

- eseguibile su vivo, morto, congelato o fissato in etanolo >70°;
- efficace anche nelle specie resistenti;
- metodica più sensibile e specifica.

7.4. La prevenzione della diffusione

Opportuni protocolli per la disinfestazione di tutto il materiale da campo devono necessariamente essere previsti per impedire la trasmissione della peste del gambero alle popolazioni della specie indigena *Au. pallipes*. Questa malattia, il cui agente eziologico è il Chromista *Aphanomyces astaci*, è stata introdotta in Europa con l'importazione di gamberi Nord Americani ed è responsabile di epidemie che colpiscono le popolazioni locali portandole rapidamente all'estinzione. La malattia viene trasmessa attraverso le spore di *A. astaci* che possono essere diffuse nei corsi d'acqua principalmente in due modi: 1) attraverso la diffusione di gamberi invasivi nord americani, quali *Pr. clarkii*, che possono avere infezioni asintomatiche di peste; oppure 2) utilizzando strumentazione contaminata e non opportunamente disinfestata in siti in cui la peste non è presente. Per evitare la diffusione della peste, in tutti i siti in cui la specie indigena è presente, o è potenzialmente presente, l'attrezzatura necessaria per il campionamento deve essere non contaminata o opportunamente disinfestata seguendo il protocollo di seguito riportato. Analogamente, anche l'attrezzatura utilizzata per campionare le popolazioni di *Pr. clarkii* deve essere disinfestata accuratamente prima di essere utilizzata in qualsiasi altro sito. La procedura da seguire per disinfestare il materiale è:

1 spazzolare accuratamente il fango dall'attrezzatura, e in particolare dalle suole di scarponi e stivali, sciacquando il materiale da campo nel corso d'acqua per eliminarne eventuali residui;

2 aspergere gli stivali, le nasse, i retini ed eventualmente le ruote dei veicoli e quant'altro sia entrato in contatto con acqua o fango del sito con una soluzione di iodofori, ad una concentrazione di 500 ppm (prodotto commerciale *Zoodyn*, 28,6 ml/litro di acqua).

Inoltre, nel caso si sospetti la presenza di un focolaio di peste nel sito di campionamento per la presenza di numerosi individui morti o di individui con comportamento anomalo (apatia, scarsa reattività, tendenza ad uscire dall'acqua), è necessario raccogliere un campione di esemplari per consentire una diagnosi esaustiva da personale esperto.

8. LA GENETICA MOLECOLARE PER I DECAPODI D'ACQUA DOLCE

8.1. La genetica della conservazione e le principali tecniche di genetica molecolare

La genetica di conservazione riveste oggi un ruolo di primo piano nella biologia della conservazione e nel mantenimento della biodiversità. Questa disciplina è focalizzata principalmente sulle conseguenze genetiche della riduzione demografica delle popolazioni, quando i fattori stocastici e l'effetto *inbreeding* divengono dominanti (Frankham et al., 2010). Grazie alle numerose tecniche di genetica molecolare a disposizione di ricercatori e operatori, ad oggi misurare la diversità genetica è molto più accessibile rispetto al passato. Infatti, piccoli campioni di DNA possono essere amplificati milioni di volte attraverso la tecnica di PCR o reazione a catena della polimerasi, e ogni materiale biologico contenente poche molecole di DNA può essere utilizzato allo scopo. Le principali tecniche a oggi utilizzate nella genetica della conservazione sono: sequenziamento di frammenti di DNA; SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms); RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms); AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms); microsatelliti (anche conosciuti come SSR - Simple Sequence Repeats or STR- Small Tandem Repeats). All'inizio degli anni '90 sono stati introdotti anche i marcatori RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA), utilizzati per circa un decennio negli studi di genetica molecolare, ma successivamente abbandonati per problemi di ripetibilità ed affidabilità dei risultati. Il sequenziamento di un frammento della molecola di DNA è basato sull'analisi diretta di una sequenza di basi azotate, attraverso l'utilizzo di specifici strumenti chiamati "sequenziatori di acidi nucleici". Il sequenziamento diretto di un frammento di DNA, in particolare di quello mitocondriale, è oggi la tecnica più utilizzata per la risoluzione delle incertezze tassonomiche, ma anche per valutare la variabilità genetica tra individui della stessa specie attraverso il confronto di sequenze omologhe di individui diversi. L'analisi di SNPs, o polimorfismi a singolo nucleotide, fa riferimento all'identificazione di singole sostituzioni nucleotidiche all'interno di una sequenza di DNA, che possono essere confrontate tra individui della stessa specie per valutare la diversità genetica delle popolazioni, o tra individui di specie diverse per l'identificazione tassonomica e sistematica. L'analisi di marcatori AFLP e RFLP è basata sull'analisi di frammenti, ma in questo caso le regioni amplificate tramite la tecnica di PCR vengono successivamente "tagliate" con specifici enzimi di restrizione, per generare un pattern individuo/specie specifico. Entrambe le tecniche possono essere utilizzate sia per l'identificazione tassonomica (RFLP) ma anche per valutare i livelli di variabilità genetica intraspecifica (AFLP). Anche l'analisi di loci microsatelliti si basa sull'identificazione di frammenti di specifico peso molecolare (alleli), ottenuti dall'amplificazione di brevi sequenze ripetute in tandem, di lunghezza variabile da 1 a 5 paia di basi. I microsatelliti generalmente misurano la variazione genetica tra loci neutrali, poiché sono localizzati in regioni del DNA non codificanti. Ad oggi, la genotipizzazione di loci microsatelliti è la tecnica maggiormente utilizzata per valutare la struttura genetica delle popolazioni e la distanza genetica tra popolazioni della stessa specie.

Infine, è importante sottolineare che i progressi tecnologici e gli strumenti bioinformatici per le analisi dei dati genetici sono oggetto di un costante sviluppo; negli ultimi cinque anni, in particolare, le tecniche di indagine molecolare hanno visto un rapido passaggio dall'era della genetica alla nuova era della genomica. Questo nuovo approccio (NGS-Next Generation Sequencing) permette l'analisi di porzioni sempre più ampie di genomi, che nel caso dei metazoi forniscono nuove informazioni e una enorme quantità di dati sulla struttura e la diversità dei genomi nucleari e mitocondriali. Tuttavia, la loro applicazione rimane ad oggi ancora limitata, soprattutto a causa dei costi elevati e della complessità nella gestione e nell'analisi dei dati.

8.2. La genetica molecolare nello studio dei decapodi d'acqua dolce

I primi studi sul DNA dei decapodi sono stati effettuati per confrontare i livelli di variabilità genetica tra popolazioni della stessa specie in *Macrobrachium borellii* (D'Amato & Corach, 1996), *Cherax tenuimanus* (Imgrund et al., 1997), *Astacus astacus* (Schulz, 2000) e per chiarire la filogenesi dei Parastacidi (Crandall et al., 1999). All'inizio degli anni duemila, inoltre, sono stati pubblicati i primi

studi sulla filogenesi molecolare e l'evoluzione dei gamberi d'acqua dolce (Crandall et al., 2000) e sono stati caratterizzati i primi microsatelliti in *Austropotamobius pallipes* (Gouin et al., 2000) e *Cherax quadricarinatus* (Baker et al., 2000). A partire dal quel momento il numero di pubblicazioni relative alla sistematica ed all'evoluzione molecolare, alla filo- e biogeografia, ed alla genetica di popolazione di specie di decapodi dulcicoli è progressivamente aumentata, soprattutto grazie alle tecniche di sequenziamento del DNA mitocondriale (*COXI*, *CYTB*, *16S*, *12S*) e nucleare (*ITS1* e *ITS2*), ed all'analisi di loci microsatelliti e di marcatori AFLP. Le tecniche di indagine molecolare hanno anche permesso di identificare e caratterizzare molte specie alloctone introdotte al di fuori del loro areale di distribuzione. Tra le specie indagate figurano soprattutto i gamberi di fiume dei generi *Austropotamobius* (Fratini et al., 2005; Trontelj et al., 2005; Zaccara et al., 2005; Chiesa et al., 2011; Gouin et al., 2011), *Astacus* (Schrimpf et al., 2011, 2014; Gross et al., 2013), *Cherax* (Austin et al., 2003; Munasinghe et al., 2004a, b; Nguyen & Austin, 2005; Gouws et al., 2006; Scalici et al., 2009) *Procambarus* (Harris & Crandall, 2000; Nonnis Marzano et al., 2009; Zhu et al., 2013), *Cambarus* (Buhay et al., 2007), *Cambarellus* (Pedraza-Lara et al., 2012; Pedraza-Lara & Doadrio, 2015), *Cambaroides* (Kim et al., 2012) *Orconectes* (Harris & Crandall, 2000; Mathews et al., 2008), *Pacifastacus* (Larson et al., 2012), *Euastacus* (Ponniah & Hughes, 2004; Shull et al., 2005), *Astacopsis* (Sinclair et al., 2011), *Geocharax* (Sherman et al., 2012) e *Paranephrops* (McDowall, 2005; Apte et al., 2007), i granchi del genere *Potamon* (Jesse et al., 2009, 2010), *Sudanonautes* (Ndongo et al., 2017), (*Somanniathelphusa* (Shih et al., 2007a), *Geothelphusa* (Shih et al., 2007b), *Epilobocera* (Cook et al., 2008a), *Potamonautes* (Phiri & Daniels, 2003) ed i gamberetti del genere *Macrobrachium* (Miller et al., 2005; Pileggi et al., 2014), *Troglocaris* (Zaksek et al., 2007), *Atya* (Cook et al., 2008b), *Palaemon* s.l. (Cuesta et al., 2012; González-Ortegón et al., 2016), *Atyaephyra* e *Dugastella* (González-Ortegón et al., 2016), e più in generale appartenenti alla sotto famiglia Palaemoninae (Ashelby et al., 2012).

8.3. L'equipaggiamento per il prelievo dei campioni biotici

Di seguito viene fornita una lista completa della strumentazione e dei materiali da campo necessaria per il prelievo dei campioni:

- borsa termica adatta al trasporto di campioni biologici dotata di accumulatore ghiaccio o sistema di refrigerazione;
- eppendorf sterili da 1.5 o 2 ml, contenenti etanolo assoluto freddo;
- strumenti per la dissezione ed il prelievo del campione: forbicine, pinzette pulite;
- becker in plastica da 30 ml-50 ml;
- acqua deionizzata (500 ml) per la pulizia degli strumenti della dissezione;
- carta assorbente;
- guanti in lattice o nitrile;
- pennarello indelebile;
- sacchetti di plastica per suddividere i campioni prelevati in ciascun sito di campionamento;
- fogli di carta e matita per la preparazione delle etichette, da inserire in ciascuna eppendorf e ciascun sacchetto.

8.4. Il prelievo non invasivo per la creazione di una banca dati di DNA

La raccolta di campioni di tessuto deve avvenire rispettando il principio della "non invasività", e limitando le condizioni di stress per gli animali. Sia nel caso del gambero che del granchio si raccomanda il prelievo del penultimo arto toracico. Una volta prelevati i campioni, gli animali dovranno essere immediatamente rilasciati nei siti di prelievo per limitarne le condizioni di stress. La scelta degli arti ambulacrali è motivata dalla necessità di collezionare un quantitativo minimo di tessuto muscolare (5 mg), necessario per l'estrazione del DNA, le successive analisi genetiche e le eventuali repliche. In entrambi i casi, il prelievo dovrà avvenire utilizzando strumenti di dissezione puliti (forbici e pinzette), manovrati da operatori muniti di dispositivi di protezione (guanti). Gli strumenti di dissezione dovranno essere sciacquati con acqua pulita (meglio se deionizzata) e

asciugati dopo ciascun prelievo, per scongiurare il rischio di contaminazione del materiale cellulare e genetico da un campione all'altro. Una volta prelevato, ciascun campione dovrà essere posto singolarmente in provette precedentemente sterilizzate, riempite con etanolo assoluto (100%) e conservate al freddo. L'operatore incaricato dovrà accertarsi che l'intero campione sia immerso nell'etanolo, per assicurare la fissazione dei tessuti. Inoltre, per prevenire la degradazione dei tessuti e degli acidi nucleici, sarà necessario mantenere le provette a una temperatura costante, attraverso l'utilizzo di contenitori refrigerati durante le operazioni di campo ed il successivo trasporto in laboratorio. Una volta giunti in laboratorio, le provette con i campioni dovranno essere riposte in freezer a -20°C, dove potranno essere conservate anche per lunghi periodi.

8.5. L'estrazione e la purificazione del DNA genomico ad alto peso molecolare

Tutte le procedure di estrazione e purificazione del DNA dovranno essere condotte in un laboratorio specificatamente attrezzato ed in condizioni di sterilità. Il laboratorio dovrà essere fornito di centrifuga refrigerata, termo blocco, contenitori refrigerati per falcon e eppendorf (o in alternativa una macchina del ghiaccio), celle per elettroforesi orizzontale e blocco elettrico, transilluminatore UV, micro pipette, plastiche e consumabili per la biologia molecolare. L'operatore dovrà utilizzare dispositivi di protezione personale (guanti, camice, mascherina) per evitare la contaminazione del campione con DNA esogeno, quali camice e guanti. Inoltre, tutte le procedure dovranno essere eseguite attraverso l'utilizzo di materiale sterile –provette, puntali, etc. Ciascun campione di tessuto muscolare dovrà essere riposto in provette singole, precedentemente sterilizzate. Il DNA genomico verrà estratto e purificato impiegando specifici kit commerciali disponibili in commercio, seguendo le istruzioni riportate. Ciascun kit commerciale presenta dei passaggi comuni, quali la lisi cellulare, la degradazione dell'RNA e delle proteine, la precipitazione dei prodotti degradati, la purificazione e l'eluzione finale del DNA in una soluzione sterile. Per verificarne qualità e concentrazione, un volume pari a 5 µl di DNA genomico estratto dovrà essere quindi analizzato tramite corsa elettroforetica in un tampone TAE 1x (Tris Acetato EDTA) su gel d'agarosio al 1% e colorazione con etidio bromuro o analoghi intercalanti delle basi azotate. La quantità e la qualità del DNA genomico estratto potranno anche essere verificate attraverso l'analisi spettrofotometrica e la misura dell'assorbanza a 260 nm (assorbanza del DNA) e a 280 nm (assorbanza delle proteine). La procedura di estrazione, se correttamente eseguita, dovrebbe determinare una concentrazione finale del DNA genomico estratto pari ad un valore minimo di 40 ng/µl. Il rapporto tra l'assorbanza osservata a 260 nm e quella osservata a 280 nm permette di verificare il livello di purezza del DNA genomico estratto. Il rapporto A260/A280 rappresenta l'indice della contaminazione da proteine; nel caso del DNA il valore ottimale deve essere pari a 1.6-1.8. In alternativa, la concentrazione del DNA potrà essere quantificata attraverso sistemi di quantificazione fluorimetrica utilizzando strumentazione dedicata, come ad esempio il Qbit (Thermo Fisher).

8.5. Alcune problematiche specifiche

La corretta analisi di sequenze e/o di frammenti di DNA deve essere condotta previa accurata verifica delle sequenze disponibili nelle banche dati molecolari, e la congruità dei primers disponibili in letteratura, per procedere in modo omogeneo ed affidabile. La scelta dei marcatori e dei primers da utilizzare deve essere focalizzata all'analisi delle sequenze o dei loci più informativi per ciascun caso specifico, tali da supportare in maniera robusta la ricostruzione filogenetica e/o i risultati relativi alla genetica di popolazione.

L'identificazione molecolare dei decapodi dulcicoli alloctoni

L'identificazione di specie alloctone di decapodi dulcicoli viene effettuata attraverso la tecnica del cosiddetto "DNA barcoding" o codice a barre del DNA. Per definizione, il marcatore utilizzato per questa tecnica molecolare è un frammento del gene mitocondriale codificante la subunità I della citocromo ossidasi, conosciuto come *COXI*. Una volta estratto e purificato il DNA genomico ad alto peso molecolare come descritto nel paragrafo precedente, si procede all'amplificazione di un

frammento del gene *COXI* attraverso la tecnica della PCR o reazione a catena della polimerasi. L'amplificazione richiede l'utilizzo di uno strumento specifico denominato termociclatore, che svolge numerosi cicli termici a temperature specifiche sfruttando le naturali proprietà di denaturazione/rinaturazione della molecola di DNA. Per l'amplificazione in PCR di un frammento del gene *COXI* ai fini dell'identificazione di specie vengono utilizzati dei primers (o inneschi) universali per la gran parte dei metazoi, denominati *LCO1490* (sequenza 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e *HCO2198* (sequenza 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') già descritti da Folmer et al. (1994). L'amplificazione richiede anche un enzima specifico resistente alle alte temperature che procede alla sintesi dei nuovi filamenti, denominato *Taq Polimerasi*, una miscela di basi azotate (dNTPs), un buffer di reazione specifico per la riuscita ottimale della reazione, ed il DNA stampo di ciascun campione, estratto in precedenza. Tutte le procedure di estrazione e purificazione del DNA dovranno essere condotte in un laboratorio specificatamente attrezzato con termociclatore, vortex, centrifuga refrigerata, celle per elettroforesi orizzontale e blocco elettrico, transilluminatore UV, contenitori refrigerati per eppendorf e microprovette per PCR (o in alternativa una macchina del ghiaccio), micro pipette, plastiche e consumabili per la biologia molecolare. L'operatore dovrà utilizzare dispositivi di protezione individuale per evitare la contaminazione del campione con DNA esogeno. Inoltre, tutte le procedure dovranno essere eseguite attraverso l'utilizzo di materiale sterile –provette, puntali, etc. Per questa specifica amplificazione, si suggerisce di applicare il protocollo già descritto in letteratura scientifica (Chiesa et al., 2011; Nonnis Marzano et al., 2009; Scalici et al., 2009) secondo il seguente schema: un ciclo iniziale di denaturazione a 95°C per 10 minuti, seguito da 40 cicli per a 95°C per 30 secondi, 45°C per 45 secondi, 72°C per 1 minuto, ed un'estensione finale a 72°C per 10 min. Sarà necessario inserire nell'analisi un campione di controllo negativo, ovvero contenente tutti i reagenti della PCR eccetto il DNA, che non dovrà quindi amplificare alcun frammento. Tale controllo è necessario e fondamentale per escludere la contaminazione dei reagenti e della plastiche utilizzata con DNA esogeno. Una volta ottenuto il prodotto di PCR, la corretta riuscita della reazione di amplificazione verrà effettuata attraverso la corsa su gel di agarosio al 2,5%, confrontando l'amplificato ottenuto con uno specifico marcatore di peso molecolare. L'amplificato ottenuto si presenta come una banda del peso molecolare di circa 650 bp (paia basi).

Una volta ottenuto il prodotto di amplificazione, tale prodotto dovrà essere purificato attraverso specifici kit di purificazione disponibili in commercio, e sequenziato in entrambe le direzioni con i primer *FW* e *RV*. L'identità di ciascuna sequenza di basi azotate verrà quindi verificata attraverso il confronto delle sequenze omologhe di *COXI* presenti nella banca dati open access GenBank. Utilizzando il servizio BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), la sequenza originale verrà comparata automaticamente dal sistema con tutte le sequenze disponibili in banca dati, e ciò consentirà di riconoscerne l'identità con elevata affidabilità. Per poter ottenere un DNA barcoding valido, la percentuale di similarità tra la sequenza originale e le sequenze di riferimento non dovrà risultare inferiore al 95%. Una volta ottenuta una prima indicazione riguardo all'identità della sequenza, l'identificazione dell'unità tassonomica dovrà essere confermata attraverso una robusta ricostruzione filogenetica. Per procedere all'analisi filogenetica, sarà necessario utilizzare un software specifico, quale ad esempio MEGA, che permetta di scaricare ed allineare le sequenze della banca dati con la sequenza da identificare. Nel dataset dovranno essere inclusi anche sequenze di specie affini a quella in esame, ma filogeneticamente distinte, i cosiddetti "outgroup". Per la scelta dell'outgroup adeguato, si può fare riferimento alla regola del tre, ovvero l'outgroup dovrebbe distinguersi dalla specie in esame per un numero consistente di mutazioni. Il numero di mutazioni tra sequenze di specie diverse (interspecifiche) dovrebbe essere il triplo di quelle tra sequenze di organismi della stessa specie (intraspecifiche). Una volta allineate, le sequenze dovranno essere corrette manualmente nella lunghezza per formare un dataset omogeneo, attraverso l'analisi degli elettroferogrammi. A tal proposito, l'analisi degli elettroferogrammi può essere effettuata attraverso il software BioEdit (Ibis Biosciences) e Sequencer (Gene Code Corporation), mentre per l'allineamento multiplo delle sequenze vengono comunemente utilizzati i software ClustalX

(Thompson et al., 1997) e MEGA (Tamura et al., 2013). Completata la correzione manuale e l'allineamento multiplo, sarà quindi possibile procedere all'identificazione degli aplotipi mitocondriali ed aplogruppi mitocondriali. Un aplotipo rappresenta una composizione di alleli (varianti) di loci differenti in una specifica regione del DNA. Un aplogruppo è sua volta costituito da un gruppo di individui che condividono queste varianti (aplotipi), per discendenza da un antenato comune. L'identificazione degli aplogruppi e degli aplotipi può essere condotta attraverso il software TCS, che permette anche di valutare quali siano gli aplotipi rari e quali invece quelli presenti con maggiore frequenza nel dataset analizzato.

Una volta identificati gli aplotipi mitocondriali, sarà possibile completare l'analisi filogenetica, attraverso l'analisi di Neighbour Joining e di Maximum Likelihood. Entrambi gli algoritmi possono essere facilmente utilizzati attraverso il software MEGA. Il programma restituisce degli alberi filogenetici basati sulle distanze genetiche tra le sequenze, e quindi tra i diversi aplotipi intra ed interspecifici, che permetteranno di attribuire con certezza l'identità tassonomica del campione ignoto.

L'identificazione di linee filogenetiche intraspecifiche di decapodi d'acqua dolce autoctoni

Per prevenire il fenomeno dell'ibridazione e dell'inquinamento genetico tra specie e sottospecie affini, è necessario condurre delle analisi di genetica molecolare sulla popolazioni oggetto di attività di ripopolamento, e sul materiale da utilizzare. Infatti, considerando il complesso quadro biogeografico dei bacini idrici italiani, è oramai conclamata la presenza di gruppi di popolazioni distinte dal punto di vista genetico ed evolutivo nell'ambito dei macrodecapodi dulcicoli. Tuttavia, tali differenze non sono sempre riconosciute a livello tassonomico e sistematico secondo il classico concetto di specie. Il differenziamento genetico esistente può non essere sufficiente a giustificare l'esistenza di specie o sottospecie distinte, tuttavia è necessario tenere in considerazione i nuovi concetti di ESUs (Evolutionary Significant Units- ovvero Unità Evolutivamente Significative) e di MUs (Management Units ovvero Unità di Gestione) proposti in biologia della conservazione. Questi concetti sono già in gran parte utilizzati nella gestione di altri gruppi tassonomici di interesse conservazionistico ed alieutico, in particolare in quello dei salmonidi (si veda come riferimento AA.VV., 2013). In particolare, una ESU consiste in una o più popolazioni parzialmente differenziate dal punto di vista genetico a seguito di una separazione evolutiva significativa. Una MU è ogni ipotetica popolazione all'interno di un gruppo sistematico (distribuito su un'area geografica più o meno ampia) che è sufficientemente differenziata dalle altre popolazioni da giustificarne una gestione distinta. Questi concetti risultano particolarmente importanti per le specie dei decapodi dulcicoli autoctoni, dove è necessario operare su scala di bacino idrografico. In questo caso, l'analisi degli aplotipi mitocondriali è l'analisi di riferimento per l'attribuzione delle linee filogenetiche ESU, e quindi delle unità di gestione (MU). L'identificazione degli aplotipi mitocondriali specifici può avvenire attraverso l'analisi di un frammento mitocondriale di lunghezza variabile (da poche centinaia di basi all'intero DNA mitocondriale), che nel caso dei decapodi dulcicoli appartiene prevalentemente al gene *COXI*, oppure al *16S rDNA*, a seconda dei casi. Nel caso del gene *COXI*, si procederà come descritto nel paragrafo 5.1. Nel caso del *16S rDNA*, si procederà come descritto nel paragrafo 5.1, utilizzando però dei primers differenti, universali per la gran parte dei metazoi, denominati *16Sar* (sequenza 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') e *16Sbr* (sequenza 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT -3') già descritti da Palumbi et al. (1991). Per questa specifica amplificazione, si suggerisce di applicare il protocollo già descritto in letteratura scientifica (Fratini et al., 2005) secondo il seguente schema: un ciclo iniziale di denaturazione a 94°C per 5 minuti, seguito da 40 cicli a 94°C per 30 secondi, 47°C per 30 secondi, 72°C per 45 secondi, ed un'estensione finale a 72°C per 10 min. Il prodotto di PCR in questo caso ha un peso molecolare di 530 paia basi. Per la realizzazione della PCR, il trattamento dei prodotti di PCR, il sequenziamento e l'analisi delle sequenze, si fa riferimento alla metodologia già descritta nel paragrafo 5.1 per il gene *COXI*.

La genetica di popolazione per i decapodi d'acqua dolce di interesse conservazionistico

Per determinare i livelli di diversità genetica delle popolazioni di decapodi dulcicoli è necessario utilizzare marcatori molecolari specifici, in grado di valutare la struttura delle popolazioni indagate. Per questo, è preferibile scegliere marcatori nucleari altamente polimorfici, da affiancare all'analisi del DNA mitocondriale in precedenza descritta. Per quanto riguarda la scelta dei marcatori nucleari, è preferibile puntare su due classi di marcatori: i microsatelliti e gli AFLP. Entrambi consentono una valutazione dei livelli di diversità genetica anche tenendo conto dei fenomeni di flusso genetico, ovvero di scambio di materiale genetico tra le popolazioni. Per un'analisi di popolazione robusta ed affidabile condotta con marcatori microsatelliti, è necessario scegliere almeno 10 marcatori diversi, polimorfici tra i vari individui e preferibilmente già testati per l'assenza di alleli nulli. L'analisi dei loci microsatelliti richiede la conoscenza pregressa del genoma della specie di interesse, ed ha il limite di essere specie-specifica. Una volta acquisito il dataset del pannello dei loci utilizzati, sarà necessario procedere ad analisi statistiche attraverso software specifici. In primo luogo, sarà necessario testare la validità del dataset per la presenza e la frequenza di alleli nulli utilizzando il software Microchecker (Van Oosterhout et al., 2004) e FreeNA (Chapuis & Estoup, 2007); quest'ultimo permette anche la correzione delle frequenze alleliche in caso di presenza di alleli nulli grazie al metodo ENA (Excluding Null Alleles) implementato nel software. L'analisi dei loci microsatelliti deve includere il test di Linkage Disequilibrium, che può essere effettuato tramite il software GenePop (Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008), mentre per valutare la diversità allelica, la presenza di alleli privati e per effettuare il test di Hardy-Weinberg si consiglia di utilizzare il software GenAlEx (Peakall & Smouse, 2006). Questo software permette di calcolare le frequenze alleliche a ciascun locus, l'eterozigosi attesa ed osservata, valori di F_{ST} tramite analisi AMOVA e delle distanze di Nei tra le diverse popolazioni analizzate. Inoltre, la tipizzazione dei loci microsatelliti permette anche un'analisi di assegnazione sulla base dei genotipi, per individuare gruppi di genotipi specifici ed individui ibridi, attraverso l'utilizzo del software Structure (Pritchard et al., 2000). Per verificare il numero più probabile di gruppi di genotipi (o valori del parametro K) si utilizzano normalmente due approcci: il metodo $[\ln(K)]$ ed il metodo descritto da Evanno et al. (2005), utilizzando il software STRUCTURE HARVESTER (Earl & Von Holdt, 2012).

Gli AFLP, invece, permettono la tipizzazione di tutto il genoma senza alcuna conoscenza pregressa, e le diverse combinazioni dei primers possono essere utilizzate su molte specie differenti. I marcatori AFLP sono considerati tra i marcatori più polimorfici (Fig. 8.1). Tuttavia, anche se molto informativa, questa tecnica è piuttosto lunga e costosa da realizzare in laboratorio, e richiede una notevole capacità dell'operatore nella gestione e nell'analisi dei dati. Per una completa descrizione dei metodi e dell'applicazione nel caso di decapodi dulcicoli, si può fare riferimento alle seguenti pubblicazioni: Papa et al., 2005; Maldini et al., 2006; Chiesa et al. 2011. I dati AFLP possono essere successivamente analizzati tramite il software Genetix (Belkhir et al., 1996–2002) per l'analisi fattoriale delle corrispondenze e tramite STRUCTURE HARVESTER e Structure per l'analisi di assegnazione, come descritto in precedenza per i loci microsatelliti.

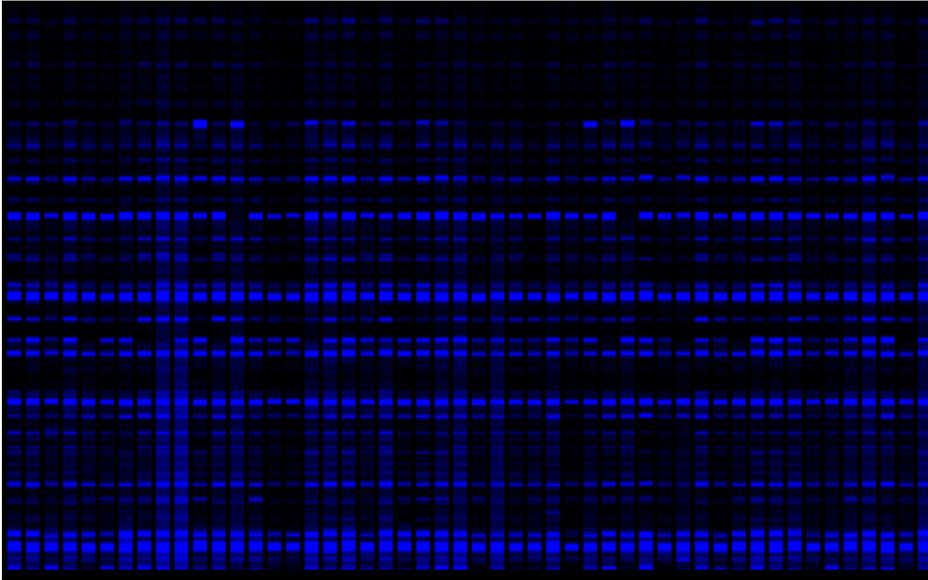


Figura 8.1. Immagine del bandeggio AFLP ottenuta con il software Genographer.

8.6. Nuove prospettive: le tecniche di Next Generation Sequencing (NGS) ed il monitoraggio tramite environmental DNA (eDNA)

L'utilizzo delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (Next Generation Sequencing o NGS), come accennato in precedenza, è tuttora limitato nel campo della filogenesi, della filogeografia e della genetica di popolazione, soprattutto a causa dei costi elevati degli strumenti e dei protocolli utilizzati, ma anche delle difficoltà derivanti dall'analisi di matrici di dati molto più complesse rispetto a quelle ottenute dai marcatori tradizionali (McCormack et al., 2013). Tuttavia, recenti studi hanno dimostrato la validità dei metodi NGS nel sequenziamento dei genomi mitocondriali completi (i cosiddetti "mitogenomi") per la ricostruzione filogenetica, in particolare nei crostacei decapodi (Kim et al., 2011, 2012, 2016). Per quanto riguarda i decapodi dulcicoli, sono stati sinora descritti alcuni mitogenomi completi o parziali, con riarrangiamenti genici specifici (Gan et al., 2014; Shen et al., 2015; Austin et al., 2016; Grandjean et al., 2016, 2017; Lee et al., 2016). La messa a punto di protocolli di laboratorio più rapidi e di nuovi strumenti bioinformatici di più semplice utilizzo per l'assemblaggio dei mitogenomi completi o parziali, quali ad esempio MITObim (Hahn et al., 2013) potrebbero ridurre sensibilmente i costi di tali metodiche ed i tempi necessari all'analisi dei dati, aprendo nuove prospettive sulla filogenesi dei Parastacidae, Cambaridae e Astacidae (Gan et al., 2014; Shen et al., 2015; Grandjean et al., 2017) e più in generale dei crostacei decapodi (Timm & Bracken-Grissom, 2015). Inoltre, le tecniche di NGS sono state di recente utilizzate anche per la messa a punto di nuovi marcatori microsatelliti per lo studio della genetica di popolazione dei decapodi dulcicoli (Sherman et al., 2012; Miller et al., 2013).

Infine, una nuova applicazione delle tecniche di genetica molecolare per studio dei decapodi d'acqua dolce è relativa all'analisi del DNA ambientale (environmental DNA o eDNA), utile nelle attività di monitoraggio degli ambienti dulcicoli per verificare, in maniera non invasiva ed in assenza di un campionamento esteso e della cattura di esemplari, la presenza e la distribuzione delle specie.

Questa tecnica, basata su analisi quantitative del DNA presente nei campioni di acqua, ha permesso di raccogliere interessanti risultati per alcuni gruppi tassonomici di vertebrati, quali anfibi e pesci ossei (Ficetola et al., 2008; Valentini et al., 2016).

Nell'ambito degli invertebrati, ed in particolare dei decapodi dulcicoli, la tecnica è stata recentemente utilizzata per verificare la presenza di alcune specie alloctone di gamberi, quali ad esempio *Procambarus clarkii* (Tréguier et al., 2014; Mauvisseau et al., 2018), *Pontoastacus (Astacus) leptodactylus* (Agersnap et al., 2017), *Pacifastacus leniusculus* (Agersnap et al., 2017; Larson et al., 2017; Mauvisseau et al., 2018), *Faxonius (Orconectes) limosus* (Mauvisseau et al., 2018), *Faxonius rusticus* (Larson et al., 2017) e per identificare rapidamente l'agente eziologico della peste del gambero, *Aphanomyces astaci* (Wittwer et al., 2018).

Inoltre, la tecnica di eDNA è stata utilizzata con successo anche per il monitoraggio delle popolazioni di alcune specie autoctone minacciate e di interesse conservazionistico, quali *Astacus astacus* (Agersnap et al., 2017), *Cambaroides japonicus* (Ikeda et al., 2016) e *Faxonius eupunctus* (Rice et al., 2018).

9. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- AA.VV. 2013. Documento salmonidi AIIAD (Associazione Italiana Ittiologi Acque Dolci). <http://www.aiiad.it/sito/temi/salmonidi/24-documento-salmonidi-febbraio-2013>.
- Abrahamsson S.A.A. 1965. A method of marking crayfish *Astacus astacus* (Linnaeus) in population studies. *Oikos* 16: 228-231.
- Abrahamsson S.A.A. 1971. Density growth and reproduction in populations of *Astacus astacus* and *Pacifastacus leniusculus* in an isolated pond. *Oikos* 22: 373-380.
- Agersnap S., Larsen W.B., Knudsen S.W., Strand D., Thomsen P.F., Hesselsøe M., Mortensen P.B., Vrålstad T., Møller P.R. 2017. Monitoring of noble, signal and narrow-clawed crayfish using environmental DNA from freshwater samples. *PLoS ONE* 12: e0179261.
- Agnelli P., Bartolozzi L., Cianfanelli S., Cianferoni F., Guaita C., Innocenti G., Lori E., Nistri A., Vanni S., Ferretti G., Viciani D., Manganelli G., Favilli L., Sposimo P., Chiti Batelli A. 2012. RENATO Repertorio Naturalistico Toscano. Aggiornamento dei dati per il periodo 2005-2010. Museo di Storia Naturale dell'Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Biologia Evoluzionistica dell'Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università degli Studi di Siena, Nemo srl Firenze.
- Alderman D.J., Polglase, J.L. 1986. *Aphanomyces astaci*: isolation and culture. *Journal of Fish Disease* 9: 367-379.
- Anastasiadou C., Kitsos M.S., Koukouras A. 2006. Redescription of *Atyaephyra desmarestii* (Millet, 1831) (Decapoda, Caridea, Atyidae) based on topotypical specimens. *Crustaceana* 79: 1195-1207.
- APAT-IRSA/CNR 2003. Metodi analitici per le acque. Volume Terzo. Sezione 9000, 29: 1111-1153.
- Apte S., Smith P.J., Wallis G.P. 2007. Mitochondrial phylogeography of New Zealand freshwater crayfishes, *Paranephrops* spp. *Molecular Ecology* 16: 1897-1908.
- Aquiloni L., Bertocchi S., Brusconi S., Renai B., Tricarico E., Trunfio C. 2009. Reintroduzione del gambero indigeno minacciato *Austropotamobius italicus* in Provincia di Firenze, Relazione tecnica finale.
- Aquiloni L., Tricarico E., Gherardi F. 2010. Crayfish in Italy: distribution, threats and management *International Aquaculture Research* 2: 1-14.
- Aquiloni L., Zanetti M. 2014. Approccio integrato di trappolaggio intensivo ed SMRT per il controllo di *Procambarus clarkii* nel sito di Casette. In: "RARITY. Eradicazione del gambero rosso della Louisiana e protezione dei gamberi di fiume del Friuli Venezia Giulia". Pubblicazione realizzata con il contributo finanziario della CE, nell'ambito del progetto RARITY, LIFE10 NAT/IT/000239.
- Arrignon J. 1996. Il gambero d'acqua dolce e il suo allevamento. Edizioni Calderini, Bologna, 240 pp.
- Ashelby C.W., Page T.J., De Grave S., Hughes J.M., Johnson M.L. 2012. Regional scale speciation reveals multiple invasions of freshwater in Palaemoninae (Decapoda). *Zoologica Scripta* 41: 293-306.
- Austin C.M., Nguyen T.T.T., Meewan M., Jerry D.R. 2003. The taxonomy and phylogeny of the '*Cherax destructor*' complex (Decapoda: Parastacidae) examined using mitochondrial 16S sequences. *Australian Journal of Zoology* 51: 99-100.
- Austin C.M., Tan M.H., Gan H.Y., Gan H.M. 2016. The complete mitogenome of the endangered freshwater crayfish *Cherax tenuimanus* (Smith 1912) (Crustacea: Decapoda: Parastacidae). *Mitochondrial DNA Part A* 27: 4176-4179.
- Baker N., Byrne K., Moore S., Mather P. 2000. Characterization of microsatellite loci in the red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Molecular Ecology* 9: 494-495.
- Barbaresi S., Gherardi F. 1997. Italian freshwater decapods: exclusion between the crayfish *Austropotamobius pallipes* (Faxon) and the river crab *Potamon fluviatile* (Herbst). *Bulletin française de la Pêche et de la Pisciculture* 347: 731-747.

- Barbaresi S., Gherardi F., Vannini M. 1997. Movement patterns of river crabs (Decapoda, Potamoidea) in the field: predictable and unpredictable components. *Journal of Zoology* 242: 247-259.
- Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D., Stribling J.B. 1999. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, D.C.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Rafeauste N., Catch F. 1996–2002. GENETIX 4.04, software under Windows TM for the genetics of the populations. Laboratory Genome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, University of Montpellier II, Montpellier, France.
- Bettoni E. 1884. *Prodromi della faunistica bresciana*. Apollonio, Brescia, 316 pp.
- Black T.R., Herleth-King S.S., Mattingly H.T. 2010. Efficacy of internal PIT tagging of small-bodied crayfish for ecological study. *Southeastern Naturalist* 9: 257-266.
- Brandis D., Storch V., Türkay M. 2000. Taxonomy and zoogeography of the freshwater crabs of Europe, North Africa, and the Middle East (Crustacea: Decapoda: Potamidae) *Senckenbergiana Biologica* 80: 5-56.
- Bubb D.H., Lucas M.C., Thom T.J., Rycroft P. 2002. The potential use of PIT telemetry for identifying and tracking crayfish in their natural environment. *Hydrobiologia* 483: 225-230.
- Buhay J., Moni G., Mann N., Crandall K.A. 2007. Molecular taxonomy in the dark: Evolutionary history, phylogeography, and diversity of cave crayfish in the subgenus *Aviticambarus*, genus *Cambarus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 435-448.
- Buřič M., Kozák P., Vích P. 2008. Evaluation of different marking methods for spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*). *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 389:1-8.
- Capra F. 1953. Il granchio di fiume, *Potamon edule* (Latr.) in Liguria. *Doriana, Supplemento, Annali Museo Civico Storia Naturale Doria, Genova* 1: 1-7.
- Cecchinelli E., Aquiloni L., Gambineri S., Maltagliati G., Tricarico E., Gherardi F. 2009. L'uso della SMRT (Sterile Male Release Technique) e di Pyblast per il controllo del gambero invasivo *Procambarus clarkii* nel Consorzio della Bonifica Parmigiana Moglia-Secchia, *Relazione tecnica*.
- Chapuis M.P., Estoup A. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24: 621-631.
- Chiesa S., Scalici M., Negrini R., Gibertini G., Nonnis Marzano F. 2011. Fine-scale genetic structure, phylogeny and systematics of threatened crayfish species complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61: 1-11.
- Clark J.M., Kershenr M.W. 2006 Size-dependent effects of visible implant elastomer marking on crayfish (*Orconectes obscurus*) growth, mortality and tag retention. *Crustaceana* 79: 275-284.
- Cook B.D., Pringle C.M., Hughes J.M. 2008a. Phylogeography of an island endemic, the Puerto Rican freshwater crab (*Epilobocera sinuatifrons*). *Journal of Heredity* 99: 157-164.
- Cook B.D., Pringle C.M., Hughes J.M. 2008b. Molecular evidence for sequential colonization and taxon cycling in freshwater decapod shrimps on a Caribbean island. *Molecular Ecology* 17: 1066-1075.
- Crandall K.A., Fetzner J.W., Lawler S.H., Kinnersley M., Austin C.M. 1999. Phylogenetic relationships among the Australian and New Zealand genera of freshwater crayfishes (Decapoda: Parastacidae). *Australian Journal of Zoology* 47: 199-214.
- Crandall K.A., Harris D.J., Fetzner J.W. 2000. The monophyletic origin of freshwater crayfish estimated from nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Proceedings of The Royal Society B-Biological Sciences* 267: 1679-1686.
- Cuesta J.A., Drake P., Martinez-Rodriguez G., Rodriguez A., Schubart C.D. 2012. Molecular phylogeny of the genera *Palaemon* and *Palaemonetes* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae) from a European perspective. *Crustaceana* 85: 877-888.
- Cumberlidge N. 2008. *Potamon fluviatile*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T134293A3933275.

- D'Amato M.E., Corach D. 1996. Genetic diversity of populations of the freshwater shrimp *Macrobrachium borellii* (Caridea: Palaemonidae) evaluated by RAPD analysis. *Journal of Crustacean Biology* 16: 650-655.
- Dardi P., Gherardi F. 1994. Competition and predation between the river crab *Potamon fluviatile* and the crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Bollettino di Zoologia* 61: 41.
- Davis J.L., Young-Williams A.C., Hines A.H., Zmora O. 2004. Comparing two types of internal tags in juvenile blue crabs. *Fisheries Research* 67: 265-274.
- De Betta E. 1863. *Materiali per una fauna veronese*. Vicentini e Franchini, Verona, 144 pp.
- De Grave S., Ashelby C.W. 2013. A re-appraisal of the systematic status of selected genera in Palaemoninae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Zootaxa* 3734(3): 331-344.
- Dinh H., Coman G., Hurwood D.A., Mather P.B. 2012. Experimental assessment of the utility of visible implant elastomer tags in a stock improvement programme for giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam. *Aquaculture Research* 43: 1471-1479.
- Dobson M., Magana A.M., Lancaster J., Mathooko J.M. 2007. A seasonality in the abundance and life history of an ecologically dominant freshwater crab in the Rift Valley, Kenya. *Freshwater Biology* 52: 215-225.
- Earl D.A., von Holdt B.M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4: 359-361.
- Edgerton B.F. 2005. Freshwater crayfish production for poverty alleviation. *World Aquaculture* 36: 48-64.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- Everard G. 2004. Use and effect of freeze branding on roach (*Rutilus rutilus* L.). *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 374: 35-42.
- Ficetola G.F., Miaud C., Pompanon F., Taberlet P. 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters* 4: 423-425.
- Fletcher W.J., Fielder D.R., Brown I.W. 1989. Comparison of freeze- and heat-branding techniques to mark the coconut crab *Birgus latro* (Crustacea, Anomura). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 127: 245-251.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 5: 294-299.
- Frankham R., Ballou J.D., Briscoe D.A. 2010. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- 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.
- Frogliola C. 1978. Decapodi. *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane*. 4, Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/9, Verona, 39 pp.
- Frogliola C. 2005. Crustacea Malacostraca Decapoda. In: Ruffo S., Stoch F. (eds) *Checklist e distribuzione della fauna italiana*. Memorie del Museo Civico di Storia Naturale di Verona, 2. serie, Sezione Scienze della Vita 16: 113-14.
- Füreder L., Machino Y. 2002. A revised determination key of freshwater crayfish in Europe. *Berichte des Naturwissenschaftlich Medizinischen Vereins in Innsbruck* 89: 169-178.
- Füreder L., Schweiggl M. 2005. *Animali primordiali delle nostre acque*. Gamberi. Provincia autonoma di Bolzano. Ripartizione natura e paesaggio.
- Füreder L., Gherardi F., Holdich D., Reynolds J., Sibley P., Souty-Grosset C. 2010. *Austropotamobius pallipes*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T2430A9438817.

- Gammell M. 2015. The effect of two marking techniques on the behavior of the White-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*). Annual Meeting of Irish Freshwater Biologists, Galway-Mayo Institute of Technology.
- Gan H.M., Schultz M.B., Austin C.M. 2014. Integrated shotgun sequencing and bioinformatics pipeline allows ultra-fast mitogenome recovery and confirms substantial gene rearrangements in Australian freshwater crayfishes. *BMC Evolutionary Biology* 14: 19.
- Garbini A. 1894. Primi materiali per una monografia limnologica del Lago di Garda. *Bollettino della Società Entomologica Italiana* 26: 3-50.
- Gherardi F., Cioni A. 2004. Agonism and interference competition in freshwater decapods. *Behaviour* 141: 1297-1324.
- Gherardi F., Guidi S., Vannini M. 1987. Behavioural ecology of the freshwater crab, *Potamon fluviatile*: preliminary observations. *Investigación Pesquera* 51: 389-402.
- Gherardi F., Micheli F., Monaci F., Tarducci F. 1988. Note sulla biologia ed ecologia del granchio di fiume *Potamon fluviatile*. *Bollettino del Museo di Storia Naturale della Lunigiana* 6-7: 169-174.
- Ghetti P.F. 1997. Indice Biotico Esteso (I.B.E.). I macroinvertebrati nel controllo della qualità degli ambienti di acque correnti. Manuale di applicazione. Provincia Autonoma di Trento, Trento.
- Ghigi A. 1913. L'industria della *Telphusa fluviatilis* a Sesto fiorentino. *Atti Congresso Nazionale Pesca*, Pavia.
- Gilbey V., Attrill M.J., Coleman R.A. 2008. Juvenile Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) in the Thames estuary: distribution, movement and possible interactions with the native crab *Carcinus maenas*. *Biological Invasions* 10: 67-77.
- González-Ortegón E., Palero F., Lejeune C., Drak P., Cuesta J.A. 2016. A salt bath will keep you going? Euryhalinity tests and genetic structure of caridean shrimps from Iberian rivers. *Science of the total environment* 540: 11-19.
- Gouin N., Grandjean F., Souty-Grosset C. 2000. Characterization of microsatellite loci in the endangered freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes* (Astacidae) and their potential use in other decapods. *Molecular Ecology* 9: 636-637.
- Gouin N., Souty-Grosset C., Borquez J., Bertin A., Grandjean F. 2011. Disentangling the impact of demographic factors on population differentiation of an endangered freshwater crayfish (*Austropotamobius pallipes*) using population density and microsatellite data. *Freshwater Biology* 56: 2105-2118.
- Gouws G., Stewart B.A., Daniels S.R. 2006. Phylogeographic structure of a freshwater crayfish (Decapoda: Parastacidae: *Cherax preissii*) in south-western Australia. *Marine And Freshwater Research* 57: 837-848.
- 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.
- Grandjean F., Frelon-Raimond M., Souty-Grosset C. 2002b. Compilation of molecular data for the phylogeny of the genus *Austropotamobius*: one species or several? *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 367: 671-680.
- Grandjean F., Harris D.J., Souty-Grosset C., Crandall K.A. 2000. Systematics of the European endangered crayfish species *Austropotamobius pallipes* (Decapoda: Astacidae). *Journal of Crustacean Biology* 20: 522-529.
- Grandjean F., Tan M.H., Gan H.M., Lee Y.P., Kawai T., Distefano R.J., Blaha M., Roles A.J., Austin C.M. 2017. Rapid recovery of nuclear and mitochondrial genes by genome skimming from Northern Hemisphere freshwater crayfish. *Zoologica Scripta* 46: 718-728.
- Grandjean F., Tan M.H., Gan H.Y., Gan H.M., Austin C.M. 2016. The complete mitogenome of the endangered white-clawed freshwater crayfish *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) (Crustacea: Decapoda: Astacidae). *Mitochondrial DNA Part A* 27: 3329-3330.
- Gross R., Palm S., Koiv K., Prestegard T., Jussila J., Paaver T., Geist J., Kokko H., Karjalainen A., Edsman L., 2013. Microsatellite markers reveal clear geographic structuring among threatened

- noble crayfish (*Astacus astacus*) populations in Northern and Central Europe. *Conservation Genetics* 14: 809-821.
- Guan R-Z. 1997. An improved method for marking crayfish. *Crustaceana* 70:641-652.
- Haddaway N.R., Mortimer R.J.G., Christmas M., Dunn A.M. 2011. A review of marking techniques for Crustacea and experimental appraisal of electric cauterisation and visible implant elastomer tagging for *Austropotamobius pallipes* and *Pacifastacus leniusculus*. *Freshwater Crayfish* 18: 55-67.
- Hahn C., Bachmann L., Chevreux B. 2013. Reconstructing mitochondrial genomes directly from genomic next-generation sequencing reads – a baiting and iterative mapping approach. *Nucleic Acids Research* 41: 9.
- Harris D.J., Crandall K.A. 2000. Intragenomic variation within *ITS1* and *ITS2* of freshwater crayfishes (Decapoda: Cambaridae): implications for phylogenetic and microsatellite studies. *Molecular Biology and Evolution* 17: 284-291.
- Holdich D.M., Haffner P., Noël P., Carral J., Füreder L., Gherardi F., Machino Y., Madec J., Pöckl M., Smietana P., Taugbøl T., Vigneux E. 2006. Species files. In: Souty-Grosset C., Holdich D.M., Noël P.Y., Reynolds J.D., Haffner P. (eds), *Atlas of Crayfish in Europe*. Muséum national d'Histoire naturelle (Patrimoines naturels, 64), Paris: 50-129.
- Hopkins C.L. 1967. Growth rate in a population of the freshwater crayfish, *Paranephrops planifrons* White. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 1: 464-474.
- Howe N.R., Hoyt P.R. 1982. Mortality of juvenile brown shrimp *Penaeus aztecus* associated with streamer tags. *Transactions of the American Fisheries Society* 111: 317-325.
- Ikeda K., Doi H., Tanaka K., Kawai T., Negishi J.N. 2016. Using environmental DNA to detect an endangered crayfish *Cambaroides japonicus* in streams. *Conservation Genetics Resources* 8: 231-234.
- Imgrund J., Groth D., Wetherall J. 1997. Genetic analysis of the freshwater crayfish *Cherax tenuimanus*. *Electrophoresis* 18: 1660-1665.
- Isely J.J., Stockett P.E. 2001. Tag retention, growth, and survival of red swamp crayfish marked with a visible implant tag. *North American Journal of Fisheries Management* 21: 422-424.
- Jerry D.R., Stewart T., Purvis I.W., Piper L.R. 2001. Evaluation of visual implant elastomer and alphanumeric internal tags as a method to identify juveniles of the freshwater crayfish, *Cherax destructor*. *Aquaculture* 193: 149-154.
- Jesse R., Pfenninger M., Fratini S., Scalici M., Streit B., Schubart C.D. 2009. Disjunct distribution of the Mediterranean freshwater crab *Potamon fluviatile* - natural expansion or human introduction? *Biological Invasions* 11: 2209-2221.
- Jesse R., Schubart C.D., Klaus S. 2010. Identification of a cryptic lineage within *Potamon fluviatile* (Herbst) (Crustacea: Brachyura: Potamidae). *Invertebrate Systematics* 24: 348-356.
- Johnson R.K., Wiederholm T., Rosenberg D.M. 1992. Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations and species assemblages of benthic macroinvertebrates. In: Rosenberg D.M., Resh V.H. (eds). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman and Hall.
- Jugovic J., Praprotnik E., Buzan E.V., Lužnik M. 2015. Estimating population size of the cave shrimp *Troglocaris anophthalmus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) using mark-release-recapture data. *Animal Biodiversity and Conservation* 38: 77-86.
- Karr J.R., Fausch K.D., Angermeier P.L., Yant P.R., Schlosser I.J. 1986. Assessing biological integrity in running waters: a method and its rationale. *Illustrated Natural History Surveys Special Publication*, 5.
- Kim S., Lee S.H., Park M.H., Choi H.G., Park J.K., Min G.S. 2011. The complete mitochondrial genome of the American lobster, *Homarus americanus* (Crustacea, Decapoda). *Mitochondrial DNA* 22: 47-49.
- Kim S., Park M.H., Jung J.H., Ahn D.H., Sultana T., Kim S., Park J.K., Choi H.G., Min, G.S. 2012. The mitochondrial genomes of *Cambaroides similis* and *Procambarus clarkii* (Decapoda:

- Astacidea: Cambaridae): the phylogenetic implications for Reptantia. *Zoologica Scripta* 41: 281-292.
- Kim S.J., Kim J., Ahn D.H., Ju, S.J., Min G.S., Kim S. 2016. Complete mitochondrial genome of the hydrothermal vent ghost shrimp *Paraglypturus tonganus* (Crustacea, Axiidea, Callianassidae). *Mitochondrial DNA* 27: 1048-1049.
- Klotz W., Miesen F.W., Hüllen S., Herder F. 2013. Two Asian fresh water shrimp species found in a thermally polluted stream system in North Rhine-Westphalia, Germany. *Aquatic Invasions* 8: 333-339.
- Larson E., Abbott C.L., Usio N., Azuma N., Wood K.A., Herborg L.M., Olden J.D. 2012. The signal crayfish is not a single species: cryptic diversity and invasions in the Pacific Northwest range of *Pacifastacus leniusculus*. *Freshwater Biology* 57: 1823-1838.
- Larson E.R., Renshaw M.A., Gantz C.A., Umek J., Chandra S., Lodge D.M., Egan S.P. 2017. Environmental DNA (eDNA) detects the invasive crayfishes *Orconectes rusticus* and *Pacifastacus leniusculus* in large lakes of North America. *Hydrobiologia* 800: 173-185.
- Lee Y.P., Gan H.M., Tan M.H., Lys I., Page R., Wanigasekera B.D., Austin C.M. 2016. The complete mitogenome of the New Zealand freshwater crayfish *Paranephrops planifrons* White 1842 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae). *Mitochondrial DNA Part A* 27: 3333-3334.
- Linnane A., Mercer J.P. 1998. A comparison of methods for tagging juvenile lobster (*Homarus gammarus* L.) reared for stock enhancement. *Aquaculture* 163: 195-202.
- Lucas M.C., Mercer T., Armstrong J.D., McGinty S., Rycroft P. 1999. Use of a flat-bed passive integrated transponder antenna array to study the migration and behaviour of lowland river fishes at a fish pass. *Fisheries Research* 44(2): 183-191.
- Maldini M., Nonnis Marzano F., González Fortes G., Papa R., Gandolfi G. 2006. Fish and seafood traceability based on AFLP markers: elaboration of a species database. *Aquaculture* 261: 487-494.
- Mancini A. 1986. *Astacicoltura. Allevamento e pesca dei gamberi d'acqua dolce*. Edizioni Calderini, Bologna, 180 pp.
- Manganelli G., Favilli L., Fiorentino V. 2006. Taxonomy and nomenclature of Italian white-clawed crayfish. *Crustaceana* 79: 633-640.
- Mathews L.M., Adams L., Anderson E., Basile M., Gottardi E., Buckholt M.A. 2008. Genetic and morphological evidence for substantial hidden biodiversity in a freshwater crayfish species complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48: 126-135.
- Mauvisseau Q., Coignet A., Delaunay C., Pinet F., Bouchon D., Souty-Grosset C. 2018. Environmental DNA as an efficient tool for detecting invasive crayfishes in freshwater ponds. *Hydrobiologia* 805: 163-175.
- Mazza G., Agostini N., Aquiloni L., Carano G., Inghilesi A.F., Tricarico E., Gherardi F. 2011. The indigenous crayfish *Austropotamobius pallipes* complex in a national Park of Central Italy. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401: 1-12.
- Mazza G., Aquiloni L., Bellavita M., Cianfanelli S., Cianferoni F., Orioli G., Palombi A., Piazzai M., Rocchi S., Terzani F., Gherardi F. 2012. Ricerche faunistiche negli habitat stagnatili (troscie) della Riserva Naturale Monte Rufeno (Lazio, Italia Centrale). *Studi Trentini di Scienze Naturali* 92: 21-32.
- Mazza G., Aquiloni L., Inghilesi A., Giuliani C., Lazzaro L., Ferretti G., Lastrucci L., Foggi B., Tricarico E. 2015. Aliens just a click away: the online aquarium trade in Italy. *Management of Biological Invasions* 6: 253-261.
- Mazza G., Tricarico E., Cianferoni F., Stasolla G., Inghilesi A. F., Zoccola A., Innocenti G. 2017. Native crab and crayfish co-occurrence: first evidence in Europe. *Biologia* 72(7): 790-795.
- Mazzoni D., Gherardi F., Ferrarini P. 2004. *Guida al riconoscimento dei gamberi d'acqua dolce*. Tipografia SAB Bologna.

- McCormack J.E., Hird S.M., Zellmer A.J., Carstens B.C., Brumfield R.T. 2013. Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66: 526-538.
- McDowall R.M. 2005. Historical biogeography of the New Zealand freshwater crayfishes (Parastacidae, *Paranephrops* spp.): restoration of a refugial survivor? *New Zealand Journal of Zoology* 32: 55-77.
- Meriweather F. 1986. Tagging and marking crawfish (*Procambarus clarkii*) in a population estimation study. *Proceedings Arkansas Academy of Science* 40: 45-47.
- Micheli F., Gherardi F., Vannini M. 1990. Growth and reproduction in the freshwater crab, *Potamon fluviatile* (Decapoda, Brachyura). *Freshwater Biology* 23: 491-503.
- Miller A.D., Murphy N.P., Burrige C.P., Austin C.M. 2005. Complete mitochondrial DNA sequences of the decapod crustaceans *Pseudocarcinus gigas* (Menippidae) and *Macrobrachium rosenbergii* (Palaemonidae). *Marine Biotechnology* 7: 339-349.
- Miller A.D., Van Rooyen A., Sweeney O.F., Whiterod N.S., Weeks A.R. 2013. The development of 10 novel polymorphic microsatellite markers through next generation sequencing and a preliminary population genetic analysis for the endangered Glenelg spiny crayfish, *Euastacus bispinosus*. *Molecular Biology Reports* 40: 4415-4419.
- Mittenthal J.E., Hutton S. 1982. Regeneration in the telson and uropods of crayfish. *American Zoologist* 22(4): 879.
- Morpurgo M., Aquiloni L., Bertocchi S., Brusconi S., Tricarico E., Gherardi F. 2010. Distribuzione dei gamberi d'acqua dolce in Italia. *Studi Trentini di Scienze Naturali* 87: 125-132.
- Munasinghe D.H.N., Burrige C.P., Austin C.M. 2004a. Molecular phylogeny and zoogeography of the freshwater crayfish of the genus *Cherax* (Decapoda: Parastacidae) in Australia. *Biological Journal of Linnean Society* 81: 553-563.
- Munasinghe D.H.N., Burrige C.P., Austin C.M. 2004b. The systematic of freshwater crayfish of the genus *Cherax* Erichson (Decapoda: Parastacidae) in eastern Australia: re-examined using nucleotide sequences from *12S* rRNA and *16S* rRNA genes. *Invertebrate Systematics* 18: 215-225.
- Nardi P.A., Ghia D., Razzetti E., Rossi S., Negri A., Bernini F. 2003. Indagini sulla distribuzione di *Austropotamobius pallipes* complex nella provincia di Alessandria (Italia nord-occidentale): primi risultati. *Atti Società Italiana di Scienze Naturali, Museo Civico di Storia Naturale di Milano* 144(II): 241-246.
- Nardi P.A., Bernini F., Bo T., Bonardi A., Fea G., Ghia D., Negri A., Razzetti E., Rossi S., Spairani M. 2005. Status of *Austropotamobius pallipes* complex in the watercourses of the Alessandria province (N-W Italy). *Bulletin Francais de la Pêche et de la Pisciculture* 376-377: 585-598.
- Ndongo P.A.M., Schubart C.D., Von Rintelen T., Tamesse J.L., Cumberlidge N. 2017. Morphological and molecular evidence for a new species of freshwater crab of the genus *Sudanonautes* Bott, 1955 (Brachyura: Potamoidea: Potamonautidae) from Cameroon, with notes on its ecology. *Zootaxa* 42 161-173.
- Nguyen T.T.T., Austin C.M. 2005. Phylogeny of the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*-complex (Decapoda: Parastacidae) inferred from four mitochondrial gene regions. *Invertebrate Systematics* 19: 209-216.
- Nobuaki N., Tatsuya Y. 1997. Observation of the behavior of an atyid shrimp *Neocaridina denticulata* migrating to upstream habitats by mark and recapture experiments using trypan blue and trypan red. *Aquaculture Science* 45: 437-443.
- Nonnis Marzano F., Scalici M., Chiesa S., Gherardi F., Piccinini A., Gibertini G. 2009. The first record of the marbled crayfish adds further threats to fresh waters in Italy. *Aquatic Invasions* 4: 401-404.
- Palumbi S., Martin A., Romano S. 1991. *The Simple Fool's Guide to PCR*. Department of Zoology and Kewalo Marine Laboratory, University of Hawaii: Honolulu, Hawaii.

- Papa R., Troglio M., Ajmone-Marsan P., Nonnis Marzano F. 2005. An improved protocol for the production of AFLP markers in complex genomes by means of capillary electrophoresis. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122: 62-68.
- Peakall R., Smouse P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Peay S. 2002. Monitoring protocol for White-clawed crayfish. Field-testing in River Eden Tributaries, summer 2002. Technical report for Life in UK Rivers Project.
- Peay S. 2003. Monitoring the White-clawed Crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Conserving Natura 2000 Rivers Monitoring Series No. 1*, English Nature, Peterborough.
- Peay S. 2004. A cost-led evaluation of survey methods and monitoring for white-clawed crayfish - lessons from the UK. *Bulletin Francais de la Pêche et de la Pisciculture* 372-373: 335-352.
- Pedraza-Lara C., Doadrio I. 2015. A new species of dwarf crayfish (Decapoda: Cambaridae) from Central México, as supported by morphological and genetic evidence. *Zootaxa* 3963: 583-594.
- Pedraza-Lara C., Doadrio I., Breinholt J.W., Crandall K.A. 2012. Phylogeny and evolutionary patterns in the dwarf Crayfish subfamily (Decapoda: Cambarellinae). *PlosOne* 7: e48233.
- Phiri E.E., Daniels S.R. 2013. Hidden in the highlands: the description and phylogenetic position of a novel endemic freshwater crab species (Potamonautidae: *Potamonautes*) from Zimbabwe. *Invertebrate Systematics* 27: 530-539.
- Pileggi L.G., Rossi N., Wehrtmann I.S., Mantelatto F.L. 2014. Molecular perspective on the American transisthmian species of *Macrobrachium* (Caridea, Palaemonidae). *Zookeys* 457: 109-131.
- Pillai B.R., Sahoo L., Mahapatra K.D., Ponzoni R., Sahu S., Mohanty S., Sahu S. 2009. Evaluation of the new fluorescent internal tag (soft visible implant alphanumeric tag) in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 61: 345-350.
- Ponniah M., Hughes J.M. 2004. The evolution of Queensland spiny mountain crayfish of the genus *Euastacus*. I. Testing vicariance and dispersal with interspecific mitochondrial DNA. *Evolution* 58: 1073-1085.
- Pretzmann G. 1984. Die Gattung *Potamon* Savigny in der Sammlung des Museo Civico di Storia Naturale, G. Doria in Genua. *Annali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova* 85: 119-123.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Rajyalakshmi T., Ramaraju T.S., Ramakrishna Rao D. 1968. Marking of freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*, in River Godavari. *Indian Journal of Fisheries* 2: 61-67.
- Ramalho R.O., McClain W.R., Anastácio P.M. 2010. An effective and simple method of temporarily marking crayfish. *Freshwater Crayfish* 17: 57-60.
- Raymond M., Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248-249.
- Renai B., Bertocchi S., Brusconi S., Gherardi F., Grandjean F., Lebboroni M., Perinet B., Souty-Grosset C., Trouilhé M.C., 2006. Ecological characterisation of streams in Tuscany (Italy) for the management of the threatened crayfish *Austropotamobius pallipes* complex. *Bulletin Francais de la Pêche et de la Pisciculture* 380-381: 1095-1114.
- Reynolds J.D., Souty-Grosset C. 2012. *Management of freshwater crayfish biodiversity: crayfish as bioindicators*. Cambridge University Press.
- Reynolds J.D. 2006. *Manual for monitoring Irish lake stocks of white-clawed crayfish, Austropotamobius pallipes (Lereboullet)*. Unpublished report to National Parks and Wildlife Service, Department of the Environment, Heritage and Local Government, Dublin.
- Reynolds J.D., O'Connor W., O'Keefe C., Lynn D. 2010. *A technical manual for monitoring white-clawed crayfish Austropotamobius pallipes in Irish lakes*. Irish Wildlife Manuals, No 45, National Parks and Wildlife Service, Department of the Environment, Heritage and Local Government, Dublin.

- Rice C.J., Larson E.R., Taylor C.A. 2018. Environmental DNA detects a rare large river crayfish but with little relation to local abundance. *Freshwater Biology* 63: 443-455.
- Rittschof D., Darnell M.Z., Darnell K.M., Goldman M., Ogburn M.B., McDowell R. 2010. Estimating relative abundance of the female Blue Crab spawning stock in North Carolina. In: Kruse G.H., Eckert G.L., Foy R.J., Lipcius R.N., Sainte-Marie B., Stram D.L., Woodby D. (eds), *Biology and Management of Exploited Crab Populations under Climate Change*. Alaska Sea Grant, University of Alaska Fairbanks.
- Robinson C.A., Thom T.J., Lucas M.C. 2000. Ranging behaviour of a large freshwater invertebrate, the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes*. *Freshwater Biology* 44: 509-521.
- Rousset F. 2008. Genepop'007: a complete reimplementaion of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8: 103-106.
- Santucci F., Iaconelli M., Andreani P., Cianchi R., Nascetti G., Bullini L. 1997. Allozyme diversity of European freshwater crayfish of the genus *Austropotamobius*. *Bulletin Francais de la Pêche et de la Pisciculture* 347: 663-676.
- Scalici M., Chiesa S., Gherardi F., Ruffini M., Gibertini G., Nonnis Marzano F. 2009. The new threat to Italian inland waters from the alien crayfish “gang”: the Australian *Cherax destructor* Clark, 1936. *Hydrobiologia* 631: 341-344.
- Scalici M., Macale D., Schiavone F., Gherardi F., Gibertini G. 2008. Effects of urban isolation on the river crab growth. *Fundamental and Applied Limnology* 172: 167-174.
- Scalici M., Rovelli V., Zapparoli M., Bologna M.A. 2016. *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) *sensu lato* (Gambero di fiume) e *A. torrentium* (Schrank, 1803). In: Stoch F., Genovesi P. (eds), *Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie animali*. ISPRA, Serie Manuali e linee guida, 141/2016.
- Schrimpf A., Schulz H.K., Theissing K., Pârvolescu L., Schulz R. 2011. The first large-scale genetic analysis of the vulnerable noble crayfish *Astacus astacus* reveals low haplotype diversity in central European populations. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401: 1-14.
- Schrimpf A., Theissing K., Dahlem J., Maguire I., Pârvolescu L., Schulz H.K., Schulz R. 2014. Phylogeography of noble crayfish (*Astacus astacus*) reveals multiple refugia. *Freshwater Biology* 59: 761-776.
- Schulz R. 2000. Status of the noble crayfish *Astacus astacus* (L.) in Germany: Monitoring protocol and the use of RAPD markers to assess the genetic structure of populations. *Bulletin Francais de la Pêche et de la Pisciculture* 356: 123-137.
- Sharp W.C., Lellis W.A., Butler M.J., Herrnkind W.F., Hunt J.H., Pardee-Woodring M., Matthews T.R. 2000. The use of coded microwire tags in mark-recapture studies of juvenile Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. *Journal of Crustacean Biology* 20(3): 510-521.
- Shen H., Braband A., Scholtz G. 2015. The complete mitogenomes of lobsters and crayfish (Crustacea: Decapoda: Astacidea) reveal surprising differences in closely related taxa and convergences to Priapulida. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 53: 273-281.
- Shepherd T., Gardner C., Green B.S., Richardson A. 2011. Estimating survival of the tayatea *Astacopsis gouldi* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae), an iconic, threatened freshwater invertebrate. *Journal of Shellfish Research* 30: 139-145.
- Sherman C.D.H., Ierodiaconou D., Stanley A.M., Weston K., Gardner M.G., Schultz M.B. 2012. Development of twenty-four novel microsatellite markers for the freshwater crayfish, *Geocharax gracilis*, using next generation sequencing. *Conservation Genetics Resources* 4: 555-558.
- Shih H.T., Fang S.H., Ng P.K.L. 2007a. Phylogeny of the freshwater crab genus *Somanniathelphusa* Bott (Decapoda: Parathelphusidae) from Taiwan and the coastal regions of China, with notes on their biogeography. *Invertebrate Systematics* 21: 29-37.
- Shih H.T., Ng P.K.L., Schubart C.D., Chang H.W. 2007b. Phylogeny and phylogeography of the genus *Geothelphusa* (Crustacea: Decapoda, Brachyura, Potamidae) in southwestern Taiwan based on two mitochondrial genes. *Zoological Science* 24: 57-66.

- Shull H.C., Perez-Losada M., Blair D., Sewell K., Sinclair E.A., Lawler S., Ponniah M., Crandall K.A. 2005. Phylogeny and biogeography of the freshwater crayfish *Euastacus* (Decapoda: Parastacidae) based on nuclear and mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 249-263.
- Siligardi M., Bernabei S., Cappelletti C., Chierici E., Ciutti F., Egaddi F., Franceschini A., Maiolini B., Mancini L., Minciardi M.R., Monauni C., Rossi G.L., Sansoni G., Spaggiari R., Zanetti M. 2007. I.F.F. – Indice di Funzionalità Fluviale. APAT, Lineagrafica Bertelli Editori Snc, Trento.
- Sinclair E.A., Madsen A., Walsh T., Nelson J., Crandall K.A. 2011. Cryptic genetic divergence in the giant Tasmanian freshwater crayfish *Astacopsis gouldi* (Decapoda: Parastacidae): implications for conservation. *Animal Conservation* 14: 87-97.
- Smith C.R., Present T.M.C. 1983. In vivo marking of shallow-water and deep-sea amphipods by ingestion of bait mixed with fast green. *Marine Biology* 73: 183-192.
- Söderbäck B. 1995. Replacement of the native crayfish *Astacus astacus* by the introduced species *Pacifastacus leniusculus* in a Swedish lake: possible causes and mechanisms. *Freshwater Biology* 33: 291-304.
- Souty-Grosset C., Holdich D.M., Noël P.Y., Reynolds J.D. and Haffner P. (eds.) 2006. Atlas of Crayfish in Europe, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, Patrimoines naturels, 64, 187 pp.
- Streissl F., Hödl W. 2002. Growth, morphometrics, size at maturity, sexual dimorphism and condition index of *Austropotamobius torrentium* Schrank. *Hydrobiologia* 477: 201-208.
- Svoboda J., Strand D.A., Vrålstad T., Grandjean F., Edsman L., Kozák P., Kouba A., Fristad R.F., Koca S.B., Petrusek A. 2014. The crayfish plague pathogen can infect freshwater-inhabiting crabs. *Freshwater Biology* 59: 918-929.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipinski A., Kumar S. 2013. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. 1997. The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876e4882.
- Timm L., Bracken-Grissom H.D. 2015. the forest for the trees: evaluating molecular phylogenies with an emphasis on higher-level Decapoda. *Journal of Crustacean Biology* 35: 577-592.
- Tréguier A., Paillisson J.M., Dejean T., Valentini A., Schlaepfer M.A., Roussel J.M. 2014. Environmental DNA surveillance for invertebrate species: Advantages and technical limitations to detect invasive crayfish *Procambarus clarkii* in freshwater ponds. *Journal of Applied Ecology* 51: 871-879.
- Trizzino M., Audisio P., Bisi F., Bottacci A., Campanaro A., Carpaneto G.M., Chiari S., Hardersen S., Mason F., Nardi G., Preatoni D.G., Vigna Taglianti A., Zauli A., Zilli A., Cerretti P. 2013. Gli artropodi italiani in Direttiva Habitat: biologia, ecologia, riconoscimento e monitoraggio. Quaderni Conservazione Habitat, 7. CFS-CNBFVR, Centro Nazionale Biodiversità Forestale. Cierre Grafica, Sommacampagna, Verona.
- Trontelj P., Machino Y., Sket B. 2005. Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 212-226.
- Valentini A., Taberlet P., Miaud C., Civade R., Herder J., Thomsen P.F., Bellemain E., Besnard A., Coissac E., Boyer F., Gaboriaud C., Jean P., Poulet N., Roset N., Copp G.H., Geniez P., Pont D., Argillier C., Baudoin J.M., Peroux T., Crivelli A.J., Olivier A., Acqueberge M., Le Brun M., Møller P.R., Willerslev E., Dejean T. 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 25: 929-942.
- Van Oosterhout C., Hutchinson W., Wills D., Shipley P. 2004. MICROCHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.

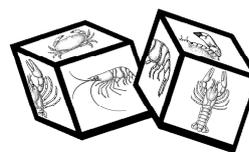
- Vannini M., Gherardi F. 1981. Dominance and individual recognition in *Potamon fluviatile* (Decapoda, Brachyura): possible role of visual cues. *Marine Behaviour and Physiology* 8: 13-20.
- Vogt G. 2012. Ageing and longevity in the Decapoda (Crustacea): a review. *Zoologischer Anzeiger* 251: 1-25.
- Weingartner D.L. 1982 A field-tested internal tag for crayfish (Decapoda, Astacidea). *Crustaceana* 43: 181-188.
- Whitmore N., Huryn A.D. 1999. Life history and production of *Paranephrops zealandicus* in a forest stream, with comments about the sustainable harvest of a freshwater crayfish. *Freshwater Biology* 42: 467-478.
- Wittwer C., Stoll S., Strand D., Vrålstad T., Nowak C., Thines M. 2018. eDNA-based crayfish plague monitoring is superior to conventional trap-based assessments in year-round detection probability. *Hydrobiologia* 807: 87-97.
- Wutz S., Geist J. 2013. Sex- and size-specific migration patterns and habitat preferences of invasive signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana). *Limnologica* 43: 59-66.
- Zaccara S., Stefani F., Crosa G. 2005. Diversity of mitochondrial DNA of the endangered white-clawed crayfish (*Austropotamobius italicus*) in the Po River catchment. *Freshwater Biology* 50: 1262-1272.
- Zaksek V., Sket B., Trontelj P. 2007. Phylogeny of the cave shrimp *Troglocaris*: evidence of a young connection between Balkans and Caucasus. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 223-235.
- Zanetti M., Rucli A., Scapini F., Giovannelli F., Aquiloni L. 2014. Il monitoraggio delle popolazioni selvatiche. In: "RARITY. Eradicazione del gambero rosso della Louisiana e protezione dei gamberi di fiume del Friuli Venezia Giulia". Pubblicazione realizzata con il contributo finanziario della CE, nell'ambito del progetto RARITY, LIFE10 NAT/IT/000239.
- Zhu B.F., Huang Y., Dai Y.G., Bi C.W., Hu C.Y. 2013. Genetic diversity among red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) populations in the middle and lower reaches of the Yangtze River based on AFLP markers. *Genetics and Molecular Research* 12: 791-800.

10. ALLEGATI

Allegato 3



**Associazione Italiana
Ittologi Acque Dolci**
Italian Freshwater Ichthyologists Association



La scheda di monitoraggio dell'ambiente

Data	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Ora	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Compilatore	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Parametri fisico-chimici:		pH		<input type="text"/>	Temperatura acqua (°C)		<input type="text"/>			
Conductività (µS/cm)		<input type="text"/>		Ossigeno (mg/l)		<input type="text"/>				
Corrente (m/s)		<input type="text"/>		Profondità (cm)		<input type="text"/>				
Durezza carbonatica (mg/l)		<input type="text"/>		Alveo bagnato (m)		<input type="text"/>				
Data	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Ora	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Compilatore	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Parametri fisico-chimici:		pH		<input type="text"/>	Temperatura acqua (°C)		<input type="text"/>			
Conductività (µS/cm)		<input type="text"/>		Ossigeno (mg/l)		<input type="text"/>				
Corrente (m/s)		<input type="text"/>		Profondità (cm)		<input type="text"/>				
Durezza carbonatica (mg/l)		<input type="text"/>		Alveo bagnato (m)		<input type="text"/>				
Data	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Ora	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Compilatore	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Parametri fisico-chimici:		pH		<input type="text"/>	Temperatura acqua (°C)		<input type="text"/>			
Conductività (µS/cm)		<input type="text"/>		Ossigeno (mg/l)		<input type="text"/>				
Corrente (m/s)		<input type="text"/>		Profondità (cm)		<input type="text"/>				
Durezza carbonatica (mg/l)		<input type="text"/>		Alveo bagnato (m)		<input type="text"/>				

***Potamon fluviatile* (Herbst, 1785)**

Granchio di fiume



Famiglia: Potamidae

Status legislativo: prossimo alla minaccia/NT (IUCN Red List)

Sinonimi: *Potamon edule* Latreille, 1818; *Potamon fluviatilis* (Herbst, 1785)

Areale d'origine: la specie ha una distribuzione geografica frammentata nel bacino mediterraneo. Si trova in Italia, Malta, penisola balcanica (Croazia, Montenegro, Macedonia, Albania) e Grecia (anche nelle isole Ionie e nelle isole dell'Egeo occidentale).

Caratteri diagnostici:

- carapace robusto, di colore marrone-verdastro
- chele robuste, marrone-violacee
- eterochelia negli esemplari maschi adulti
- addome ripiegato sotto il carapace.

Habitat. Si ritrova in fiumi, torrenti e laghi in aree boscate su terreni calcarei e silicei. Nei torrenti e fiumi si ritrovano sotto le rocce o tra la vegetazione riparia, scavano le loro tane lungo gli argini.

Biologia. I granchi di fiume sono attivi da Maggio a Ottobre, mentre nei mesi invernali tendono a limitata attività e possono andare in letargo nelle tane. Sono molto attivi nelle ore notturne ed hanno abitudini anfibe, consumando un'ampia varietà di risorse alimentari, sia vegetali che animali, quest'ultimi vengono predati vivi o morti. Gli esemplari giovani sono più acquatici degli

adulti, che invece spesso si ritrovano facilmente fuori dall'acqua, le femmine si accoppiano nella tarda primavera e i piccoli si sviluppano durante l'estate.

Peste del gambero. Da studi recenti è risultato che la peste del gambero, trasmessa da *Procambarus clarkii*, è capace di infettare altri decapodi tra cui il congenerico *Potamon potamios* (Olivier, 1804).

Minacce. È una specie vulnerabile al degrado dell'habitat e all'inquinamento, inoltre può essere soggetto a prelievo illecito.

***Astacus astacus* (Linnaeus, 1758)**

Gambero di fiume europeo



@Chris Lukhaup

Famiglia: Astacidae

Status legislativo: Vulnerabile/VU (IUCN Red List), Allegato V (Direttiva Habitat)

Sinonimi: *Potamobius fluviatilis* ssp. *balcanicus* Karaman, 1929, *Astacus astacus* ssp. *colchicus* Kessler, 1876, *Cancer astacus* Linnaeus, 1758, *Astacus fluviatilis* Fabricius, 1775

Areale d'origine: Europa centro-orientale. Presente in Italia, ma forse introdotto in tempi storici.

Caratteri diagnostici:

- carapace liscio con 2 paia di creste post-orbitali
- una fila di spine posteriori al solco cervicale
- rostro liscio con bordi abbastanza paralleli fino alla regione posteriore e due spine alla base, apice molto prominente e appuntito
- chele robuste granulose dorsalmente e parte ventrale di colore rossastro.

Habitat. Vive in corsi d'acqua a scorrimento lento, in laghi e stagni con substrati fangosi e/o con ciottoli. Scava tane semplici nel fango e negli argini. Ha bisogno di acque ben ossigenate e ricche di calcio. Il suo range ottimale di temperature è di 16-22 °C in estate. È sensibile all'inquinamento.

Biologia. Raggiunge in media i 12-15 cm di lunghezza totale, talvolta i maschi arrivano ai 25 cm. È onnivoro e notturno. Può vivere anche oltre i 20 anni. La maturità sessuale è raggiunta intorno ai 5 anni. L'accoppiamento avviene in tardo autunno. È più prolifico di *Austropotamobius*: una femmina può produrre anche fino a 260 uova. La schiusa avviene in tarda primavera/estate.

Peste del gambero. Specie molto sensibile.

Minacce. La specie è in declino a causa del degrado e dell'inquinamento degli ecosistemi acquatici, prelievi e sottrazioni d'acqua, introduzione di specie alloctone di gamberi d'acqua dolce con diffusione della peste del gambero.

Pontoastacus (Astacus) leptodactylus **(Eschscholtz, 1823)**

**Gambero turco, Gambero di Galizia,
Gambero dalle zampe esili, Gambero pontico**



Famiglia: Astacidae

Status legislativo: Specie alloctona

Sinonimi: *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823

Areale d'origine: Regione Ponto–Caspica; Mar d'Azov e Mar Nero. É originario anche dalla parte europea della Russia e in Siberia, presso Novosibirsk e Tomsk. In Europa è specie indigena per Austria orientale, Bielorussia, Bosnia-Erzegovina, Bulgaria, Croazia, Grecia, Moldavia, Romania, Serbia, Slovacchia, Ungheria e Turchia.

Caratteri diagnostici:

- lunghezza corporea massima di circa 25 cm con un peso di 200-250 g. La taglia media riscontrata in natura varia tra i 10 e 15 cm
- maschi con dimensioni maggiori delle femmine e riconoscibili dalle loro chele di dimensioni notevoli

- colore dominante è bruno-giallastro o bruno-rossastro (talvolta con riflessi verdastri) sul dorso, mentre il ventre è più chiaro
- due paia di creste post-orbitali, di cui il secondo meno sviluppato
- chela con ganasce senza incisive, strette e più o meno allungate
- rostro con margini dentellati quasi paralleli con un rilievo leggermente dentellato sull'asse
- corpo robusto e fortemente calcificato
- spine lungo il solco cervicale
- pleure del 2° e 3° segmento addominale con margine inferiore munito di un evidente dentello.

Habitat. Predilige i grandi corsi d'acqua a corrente debole, i laghi e gli stagni naturali ed artificiali, ma vive anche in acque salmastre. Lo si riscontra anche nei canali e nelle zone paludose. Si adatta bene ad una vasta gamma di condizioni ambientali. Tollera bene forti carichi di inquinanti, basse concentrazioni di ossigeno disciolto ed elevati sbalzi termici stagionali.

Biologia. È una specie onnivora anche se la componente predominante è quella animale che negli individui adulti raggiunge l'80%, seguita dai detriti e dalla vegetazione acquatica. Specie gonocorica. I maschi raggiungono la maturità sessuale a circa due anni, mentre la femmina è sessualmente matura solo verso il quarto anno di vita. L'accoppiamento ha luogo in autunno e la schiusa avviene tra la primavera e l'inizio dell'estate dell'anno successivo. Il periodo di riproduzione varia a seconda della latitudine. La fecondità e la velocità di accrescimento sono significativamente più elevate delle altre specie indigene europee. Alla fine del primo anno di vita, in condizioni ottimali, i giovani possono raggiungere una lunghezza totale di 5 cm.

Peste del gambero. Resistente e portatore sano. La specie sembra provenire dalla Galizia (Spagna) e da lì anche il nome. Il gambero turco è stato introdotto per sostituire le popolazioni delle specie europee in forte declino a causa della peste del gambero, poiché ritenuto immune alla malattia.

Minacce. Può competere con gamberi autoctoni ed alloctoni grazie alle sue relativamente grandi dimensioni, soprattutto se costituisce dense popolazioni.

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

Gambero di fiume



Famiglia: Astacidae

Status legislativo: In pericolo/EN (IUCN Red List), Allegati II e V (Direttiva Habitat)

Sinonimi: *Atlantoastacus orientalis* ssp. *orientalis* Starobogatov, 1995; *Atlantoastacus orientalis carinthiacus* Starobogatov, 1995; *Atlantoastacus pallipes rhodanicus* Starobogatov, 1995; *Austropotamobius (Atlantoastacus) pallipes lusitanicus* Bott, 1972; *Austropotamobius (Atlantoastacus) berndhauseri* Bott, 1972; *Austropotamobius italicus carsicus* Karaman, 1962; *Austropotamobius pallipes italicus* Faxon, 1914; *Astacus pallipes* ssp. *fulcisiana* Ninni, 1886; *Astacus pallipes* Lereboullet, 1858

Areale d'origine: Europa occidentale (Italia compresa).

Caratteri diagnostici:

- 1 paio di creste post-orbitali
- 1-2 spine posteriori al solco cervicale
- rostro con bordi divergenti dall'apice verso gli occhi
- chele con margine interno irregolare e parte ventrale di colore chiaro.

Habitat. Specie tipica di ambienti lotici e lentici ricchi di rifugi, costituiti da ciottoli e rocce, da radici sommerse o da vegetazione acquatica. Si trova in acque ricche di carbonati di calcio. Ha un optimum termico di circa 16-18 °C in estate. Non tollera né acque inquinate né variazioni di portata.

Biologia. La fecondazione delle uova avviene in autunno e la schiusa in tarda primavera/inizio estate. L'età riproduttiva viene raggiunta a circa 3 anni e gli individui possono vivere anche oltre i 10 anni, raggiungendo una lunghezza totale di circa 10-12 cm. La specie è onnivora con tipica attività crepuscolare-notturna.

Peste del gambero. Specie molto sensibile.

Minacce. La specie è in declino in tutto il suo areale, causato soprattutto da degrado e inquinamento degli ecosistemi acquatici, prelievi e sottrazioni d'acqua, introduzione di specie alloctone di gamberi d'acqua dolce, diffusione della peste del gambero e di altre patologie.

***Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803)**

Gambero di torrente



Famiglia: Astacidae

Status legislativo: carenza di dati/DD (IUCN Red List), Allegati II (*specie prioritaria) e V (Direttiva Habitat)

Sinonimi: *Austropotamobius torrentium* ssp. *macedonicus* Bott, 1950; *Cancer torrentium* Schrank, 1803

Areale d'origine: Europa centrale e Balcani, fino in Grecia e Turchia. In Italia è presente in Friuli Venezia Giulia.

Caratteri diagnostici:

- rostro privo di cresta medio-dorsale; bordi del rostro a forma di triangolo equilatero

- 1 paio di creste post-orbitali
- assenti le spine posteriori al solco cervicale
- scafocerite (porzione antennale a forma di lamina piatta) dentellato
- superficie delle chele granulosa e parte ventrale di colore chiaro
- chele con granulazioni evidenti e superficie rugosa
- assenza di spine al solco cervicale
- cresta mediana della faccia ventrale dell'esopodite dell'antenna finemente denticolata.

Habitat. Specie tipica di torrenti e rii montani con abbondante vegetazione riparia, in acque fredde e ben ossigenate e fondali ghiaiosi e pietrosi; si trova occasionalmente in corsi d'acqua pedemontani. Tende ad occupare i tratti più montani dei torrenti e i tratti dei fiumi prossimi alle sorgenti. È la specie nativa europea più sensibile all'inquinamento organico e al degrado ambientale. Tollera solo minime variazioni di ossigeno disciolto e temperatura. Ha un optimum termico di circa 14-18 °C in estate.

Biologia. Si riproduce generalmente dagli inizi di settembre; le femmine ovigere portano fino ad un massimo di 100 uova fino a metà giugno dell'anno successivo. La maturità sessuale viene raggiunta al terzo anno di vita. La dimensione massima è di 10-12 centimetri. È una specie essenzialmente detritivora, di abitudini notturne. Gli individui possono vivere anche oltre i 10 anni; mediamente sono più piccoli rispetto alle altre specie native europee, raggiungendo raramente una lunghezza totale massima di circa 10 cm. La specie è onnivora con tipica attività crepuscolare-notturna.

Peste del gambero. Specie sensibile.

Minacce. Nonostante non siano disponibili dati quantitativi, la specie sembra in declino in tutto il suo areale. Le principali cause di minaccia per la specie sono rappresentate dalla presenza di specie alloctone di gamberi, dalla patologia della peste del gambero e dalla perdita di habitat e dall'inquinamento. La specie non è tollerante nei confronti di variazioni ambientali (inquinamento industriale e civile, agricolo, eutrofizzazione, presenza di sbarramenti, derivazioni e canalizzazioni). Incidono anche l'inquinamento degli ecosistemi acquatici, prelievi e sottrazioni d'acqua.

Pacifastacus leniusculus (Dana, 1852)

Gambero della California



Famiglia: Astacidae

Status legislativo: minor preoccupazione/LC (IUCN Red List) in areale primario, specie invasiva di rilevanza unionale (Regolamento 1143/2014)

Sinonimi: nessuno

Areale d'origine: Nord America e Canada. Introdotto in Italia.

Caratteri diagnostici:

- 2 paia di creste post-orbitali
- cefalotorace liscio
- rostro con bordi quasi paralleli con evidente cresta mediana
- chele con margine interno irregolare e parte ventrale di colore rosso
- macchia bianca bluastra all'intersezione tra dito fisso e dito mobile della chela.

Habitat. Specie tipica di acque fredde, colonizza ambienti diversi sia lotici sia lentic, fino alle acque salmastre nelle foci dei fiumi.

Biologia. La fecondazione delle uova avviene generalmente in ottobre e la schiusa in aprile. L'età riproduttiva viene raggiunta a 2 anni circa e gli individui possono vivere anche oltre i 6 anni, raggiungendo una lunghezza totale di circa 10-12 cm. La specie è onnivora opportunista.

Peste del gambero. Resistente e portatore sano.

Minacce. Nessuna.

Faxonius (Orconectes) limosus (Rafinesque, 1817)

Gambero americano



Famiglia: Cambaridae

Status legislativo: minor preoccupazione/LC (IUCN Red List) in areale primario, specie invasiva di rilevanza unionale (Regolamento 1143/2014)

Sinonimi: *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817)

Areale d'origine: Nord America e Canada. Introdotto in Italia.

Caratteri diagnostici:

- 1 paio di creste post-orbitali
- regione antero-laterale del cefalotorace con spina prominente e due-tre spine più piccole
- rostro con bordi quasi paralleli; apice liscio senza cresta mediana e denti evidenti
- chele con lato interno del carpo provvisto di spina prominente e ricurva; punta delle chele uncinata, con bande nere e arancione e margine interno regolare e liscio
- addome con tipiche bande bruno rossastre sulla parte dorsale.

Habitat. Colonizza corsi d'acqua a lento decorso, laghi e stagni, anche con qualità scadente o inquinata, con fondali preferibilmente melmosi, ma anche ghiaiosi e ciottolosi.

Biologia. Può riprodursi sia sessualmente che asessualmente tramite partenogenesi facoltativa. Nel corso di un anno può accoppiarsi due volte, in autunno e in primavera (l'accoppiamento autunnale è poco conosciuto e non sempre presente); i due periodi possono estendersi per 7-8 mesi (da settembre ad aprile). La schiusa avviene a giugno. Raggiunge la maturità nella seconda

estate. La durata media di vita è 2 anni, ma alcuni esemplari raggiungono i 4 anni. È una specie onnivora.

Peste del gambero. Resistente e portatore sano.

Minacce. Nessuna.

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

Gambero rosso della Louisiana



Famiglia: Cambaridae

Status legislativo: specie invasiva di rilevanza unionale (Regolamento 1143/2014)

Sinonimi: nessuno

Areale d'origine: originario delle paludi e dei fiumi del Messico nord-orientale e degli Stati Uniti centro-meridionali. Introdotto in Italia.

Caratteri diagnostici:

- lunghezza corporea media di 10 cm e massima di 15 cm cui corrisponde un peso di circa 100 g
- adulti con colorazione rossastra o rosso-brunastra sul dorso e sui pereiopodi mentre nei giovani è verde o grigiastra
- carapace rugoso con un paio di spine post-orbitali
- rostro stretto che si allarga verso la base
- chele del primo paio di pereiopodi ben sviluppate, ornate di tubercoli e di rientranze opposte tra di loro
- sperone del carpopodite molto robusto, arcuato e accompagnato da spine più piccole.

Habitat. Predilige i corpi idrici a lento scorrimento o stagnanti e i bacini eutrofici (biotopi lentic). Si rinviene inoltre in una vasta gamma di ambienti acquatici sia naturali che artificiali, perenni o temporanei. Rinvenuto anche in acque sotterranee.

Biologia. Specie gonocorica. Maturità precoce dopo tre mesi, rapido tasso di crescita fino a 50 g in 3-5 mesi ed elevato investimento nella riproduzione da parte di entrambi i sessi. Specie prolificata con 700-750 uova per femmina. Spesso avvengono due eventi riproduttivi durante l'anno, uno in primavera e uno in autunno. Cure parentali delle femmine. Predatore onnivoro e opportunist.

Peste del gambero. Resistente e portatore sano.

Minacce. Invasività elevata. L'attività di scavare gallerie può generare danni ambientali anche notevoli, causando dispersioni idriche e parziali crolli delle sponde nei fossati irrigui. Negli ambienti mediterranei *P. clarkii* è stato responsabile della scomparsa di macrofite acquatiche. La presenza del gambero può causare un decremento significativo delle comunità di vertebrati e invertebrati influenzando negativamente le attività economiche legate a pesca e agricoltura. È in grado di trasmettere malattie infettive all'uomo come la tularemia. Estremamente aggressivo, il gambero rosso ha causato l'estinzione di varie popolazioni locali di *Austropotamobius pallipes* vincendo la competizione per le risorse trofiche e territoriali.

Procambarus virginalis Lyko, 2017

Gambero marmorato



@Chris Lukhaup

Famiglia: Cambaridae

Status legislativo: specie invasiva di rilevanza unionale (Regolamento 1143/2014), presente in lista come *Procambarus f. virginalis*

Sinonimi: *Procambarus f. virginalis*

Areale d'origine: è una specie partenogenetica scoperta in Europa. Probabilmente è originaria del Nord America.

Caratteri diagnostici:

- rostro appuntito e triangolare senza cresta mediana con bordi lisci
- carapace generalmente liscio, con un paio di creste post-orbitali con spine e con una fila di tubercoli presente posteriormente al solco cervicale
- chele piccole, poco granulose e con un pattern di colorazione marmorata
- dorsalmente, colorazione marmorata su uno sfondo che varia da marrone scuro a marrone chiaro a verde.

Habitat. L'habitat elettivo naturale della specie è sconosciuto. Sembra comunque tollerare un'ampia varietà di condizioni, essendo stato trovato in ambienti molto differenti di acque lentiche e lotiche.

Biologia. La specie è onnivora come tutti i gamberi, ma sembra preferire detrito vegetale e molluschi. Vive 3 anni e raggiunge i 10-13 cm di lunghezza totale. Una femmina si riproduce 2-3 volte l'anno per partenogenesi, producendo anche oltre 500 uova a volta. La maturità sessuale è raggiunta entro il 1° anno.

Peste del gambero. Resistente e portatore sano.

Minacce. Nessuna.

Cherax destructor Clark, 1936

Yabby



Famiglia: Parastacidae

Status legislativo: vulnerabile/VU (IUCN Red List) in areale primario, specie invasiva di rilevanza unionale (Regolamento 1143/2014)

Sinonimi: nessuno

Areale d'origine: Australia sud-orientale. Introdotto in altre zone dell'Australia, Cina, Sud Africa, Zambia, Spagna e Italia. Per quanto riguarda l'Italia la specie era presente nei Giardini di Ninfa (Latina, Lazio) dove sembra attualmente scomparso a causa dell'arrivo di *Procambarus clarkii* e, recentemente, è stata segnalata in Sicilia, nel fiume Costanzo, in provincia di Siracusa.

Caratteri diagnostici:

- rostro con margini divergenti e senza spine.
- un paio di creste post orbitali.
- chele presentano una spina arrotondata sul carpo.
- margine laterale interno delle chele è liscio e ha una caratteristica peluria.

Habitat. La specie colonizza una grande varietà di habitat, dai fiumi, ai torrenti, ai bacini naturali ed artificiali, preferendo fondali fangosi. Può vivere anche in habitat effimeri scavando tane e

rifugiandosi al loro interno. Può tollerare acque con bassi livelli di ossigeno e un certo grado di salinità. L'*optimum* è rappresentato da ambienti con temperatura dell'acqua intorno ai 20-25°C.

Biologia. la specie è principalmente notturna e onnivora, con una preferenza per materiale vegetale e detrito. La specie scava tane che possono essere profonde fino a 2 m, rendendo instabili e soggetti al collasso le sponde dei corpi idrici invasi. Diventa sessualmente matura prima di un anno di età e la femmina può produrre fino a 450 uova per volta e si riproduce dalla primavera all'estate, quando la temperatura dell'acqua è sopra i 15 °C. Se le condizioni sono ottimali si può riprodurre fino a 5 volte l'anno. La durata della vita di questa specie è di 3-6 anni.

Peste del gambero. Sensibile.

Minacce. Le principali minacce a questa specie nell'areale di origine sono la perdita della vegetazione autoctona e l'inquinamento delle acque a seguito del deflusso di fertilizzanti e insetticidi dalle fattorie agricole, nonché una maggiore predazione e competizione da parte delle specie aliene invasive introdotte.

***Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868)**

Redclaw



Famiglia: Parastacidae

Status legislativo: minor preoccupazione/LC (IUCN Red List), specie invasiva di rilevanza unionale (Regolamento 1143/2014)

Sinonimi: *Astacus quadricarinatus* von Martens, 1868

Areale d'origine: nord ovest del Queensland e in generale la parte a nord dell'Australia, presente anche nella porzione sud est della Papua Nuova Guinea. È stato diffuso ed esportato in Messico e Sud Africa. Viene comunemente utilizzato in alcuni centri di allevamento in Argentina, Uruguay, Ecuador, Cina. Alcuni paesi europei hanno ottenuto stock di redclaw a scopo riproduttivo da immettere in allevamenti, alcuni di questi si trovano in centro Italia.

Caratteri diagnostici:

- carapace liscio con un paio di creste post orbitali
- rostro lungo con bordi paralleli, con due creste posteriori e con tre paia di piccole spine laterali
- colorazione caratteristica blu chiazzato di beige e rosso su giunture e corpo, macchie rosse laterali sui segmenti addominali
- può essere confuso con altri generi di *Cherax* dai quali si distingue per le quattro creste.

Habitat. Predilige ambienti rocciosi con anfratti e cave dove esplorare e procurarsi il cibo, sebbene nel suo areale d'origine lo si ritrova anche in habitat con elevata torbidità a causa delle forti piogge stagionali che dilavano i fiumi e causano trasporto solido. Ha grande capacità di resistenza nei periodi siccitosi, perché si rifugia nelle tane riuscendo a sopravvivere anche quando i corsi d'acqua asciugano. È considerata una specie tropicale e sopporta un range termico che varia tra i 10 e i 36 °C, sebbene per riprodursi abbia bisogno di una temperatura di circa 23 °C. Non è capace di sopportare inverni rigidi e in generale non riesce a sopravvivere per un lungo periodo a temperature inferiori ai 10°C. Non ha difficoltà a sopravvivere a salinità del 5%, ma può resistere alcuni giorni in ambienti con salinità pari al 15%.

Biologia. Nel suo areale di origine raggiunge la maturità sessuale attorno al settimo mese, con un ciclo vitale che dura circa quattro cinque anni. Può raggiungere un peso corporeo di 400g per le femmine e 500 g per i maschi. Come gran parte dei suoi simili ha una dieta onnivora fatta di piante detrito vegetale, ma anche di una buona componente animale.

Peste del gambero. Sensibile.

Minacce. Non sono conosciute le minacce dirette per questa specie se non quelle naturali, di conseguenza non sono state definite misure di conservazione specifiche.

Atyaephyra desmarestii (Millet 1831)

Gamberetto di fiume



Famiglia: Atyidae

Status legislativo: minor preoccupazione/LC (IUCN Red List)

Sinonimi: Nessuno

Areale d'origine: Originaria dell'area mediterranea, dal Nordafrica (Marocco, Algeria, Tunisia) al Medio Oriente (Israele, Siria, Iran, Iraq) all'Europa meridionale (Portogallo, Spagna, Francia, Albania, Croazia, Grecia, Turchia), con alcune sottospecie. In Italia è presente al nord solo in Friuli, in laghi e fiumi del versante Tirrenico (Toscana, Umbria, Lazio, Campania, Basilicata), ed inoltre in Sardegna e Sicilia. Risulta essere una specie introdotta in alcuni paesi del centro Europa: Belgio, Olanda, Danimarca, Germania e Cecoslovacchia.

Caratteri diagnostici:

- rostro rettilineo, con 23-33 spine lungo il margine dorsale e 0-10 denti sul margine ventrale.

Habitat. Popola principalmente laghi o corsi d'acqua lenti, con abbondante vegetazione acquatica, talvolta è raccolta in canali e fossati di drenaggio.

Biologia. Non sono note informazioni sulla consistenza delle popolazioni, ma la specie è considerata abbondante. Si nutre di detriti organici e vegetali.

Minacce. Nessuna.

***Troglocaris anophthalmus* ssp. *sontica* Jugovic,
Jalžić, Prevorčnik & Sket, 2012⁵**



@ Gergely Balázs, agosto 2007
per gentile concessione di Proteus project
<http://www.devonkarst.org.uk/proteus%20project/eastern%20herzegovina%20hypogean%20biodiversity.html>

Famiglia: Atyidae

Status legislativo: quasi minacciata/NT (IUCN Red List)

Sinonimi: nessuno

Areale d'origine: la sottospecie vive in 4 grotte nel sistema fluviale Soča-Vipava, lungo il confine tra Italia e Croazia.

Caratteri diagnostici:

- occhi completamente ridotti
- colorazione assente
- lunghezza del rostro variabile, sempre dritto e stretto, con 7 o meno denti ventrali

Habitat. Vive nel sistema fluviale sotterraneo Soča-Vipava.

Biologia. Non nota.

⁵ Non è stato possibile reperire una fotografia di un esemplare vivente di *Troglocaris anophthalmus* ssp. *sontica*, per cui viene fornita un'immagine di *T. anophthalmus anophthalmus*, molto simile alla sottospecie italiana.

Minacce. I sistemi carsici della zona sono minacciati dagli scavi per mine o cave a cielo aperto, dalla costruzione di line stradali e ferroviarie, come anche dalla captazione dell'acqua per fini colturali o per impianti idroelettrici.

Palaemon antennarius H. Milne Edwards, 1837

Gamberetto di fiume



@ S. Cianfanelli

Famiglia: Palaemonidae

Status legislativo: minor preoccupazione/LC (IUCN Red List)

Sinonimi: *Palaemonetes antennarius* (H. Milne-Edwards, 1837)

Areale d'origine: in Europa è presente in Slovenia, Croazia (Dalmazia), Grecia (comprese le isole di Corfù, Zacinto, Creta, Cos e Rodi) e Turchia. È noto da laghi e fiumi di tutta Italia.

Caratteri diagnostici:

- rostro a sciabola con 5-7 denti sul margine superiore e 2-3 su quello inferiore
- cromatofori sparsi sul carapace.

Habitat. Specie eurialina, vive sia in fiumi e laghi d'acqua dolce sia in zone salmastre, quali lagune ed estuari, tra la vegetazione di acque calme o debolmente correnti. È stata raccolta dal livello del mare fino a circa 500 m s.l.m.

Biologia. Vive tra la vegetazione di acque calme o debolmente correnti, nutrendosi principalmente di prede animali vive e/o morte e di detriti vegetali.

Minacce. Nessuna.

Typhlocaris salentina Caroli, 1923



@ N. Ciccarese
per gentile concessione di
<http://www.grottazinzulusa.it/typhlo.html>

Famiglia: Typhlocarididae

Status legislativo: vulnerabile/VU (IUCN Red List)

Sinonimi: nessuno

Areale d'origine: si trova in alcune grotte pugliesi, in Salento e nella Bassa Murgia.

Caratteri diagnostici:

- non completamente anoftalma e depigmentata, ma ha resti di cornea e di pigmento nei peduncoli oculari
- rostro breve, a prolungamento del carapace
- antenne provviste di lunghi flagelli.

Habitat. Vive in ambienti carsici, con acqua salmastra e acqua dolce.

Biologia. Non nota.

Minacce. Inquinamento delle falde, compreso i rifiuti dei visitatori delle grotte dove la specie vive.

CHIAVE DICOTOMICA DECAPODI DULCICOLI ITALIANI

1 – DECAPODI: crostacei provvisti di 5 paia di arti toracici (pereiopodi) atti alla locomozione e a volte provvisti di chele (anche ipertrofiche) in posizione distale

- Corpo generalmente depresso lateralmente; antennule fornite di stilocerito; scafocerito delle antenne generalmente ben sviluppato; addome lungo portante 5 paia di pleopodi ben sviluppati che, eccetto quelli sessuali, servono per nuotare NATANTIA, 2
- Corpo depresso dorso-ventralmente; antennule senza stilocerito; scafocerito delle antenne poco sviluppato o assente; pleopodi piccoli a volte in parte assenti e non nuotatori REPTANTIA, 3

2 - NATANTIA

- III paio di pereiopodi terminanti in pinza; pleura del II segmento addominale con la parte anteriore ricoperta dalla corrispondente pleura del I segmento Penaeidea, Stenopodidea
- III paio di pereiopodi non terminanti in pinza; pleura del II segmento addominale ricoprente la parte posteriore della pleura del I segmento CARIDEA, 4

4 – CARIDEA

- Dito della chela con la punta scavata in forma di cucchiaio e terminante con un ciuffo di setole; mandibola senza palpo ATYIDAE, 5
- I paio di pereiopodi con pinza piccola; II paio molto più lungo e con pinza più grande e più robusta PALAEMONIDAE, 6
- Carapace con linea di sutura longitudinale laterale; occhi ridotti senza pigmento; abitano acque dolci sotterranee TYPHLOCARIDIDAE, 7

5 – ATYIDAE

- Dentatura superiore del rostro composta da numerose piccole spine che inizia sopra il pereion dietro il bordo orbitario; manca la spina pterigostomiale
Atyaephyra desmarestii (Millet, 1831)
 - Rostro molto corto; carapace privo di spine o denti; II pereiopode recante una chela molto più sviluppato del I; pleure addominali poco sviluppate; uropodi più lunghi del telson
Troglocaris anophthalmus ssp. *sontica* Jugovic, Jalžić, Prevorčnik & Sket, 2012

6 – PALAEMONIDAE

- Rostro ben sviluppato con denti su entrambi i bordi; trasparente e con rari cromatofori
Palaemon antennarius H. Milne Edwards, 1837

7 – TYPHLOCARIDIDAE

- II pereiopode molto più sviluppato del I; V paio di pereiopodi più sviluppati del III e IV
Typhlocaris salentina Caroli, 1923

3 – REPTANTIA

- Addome asimmetrico quasi sempre con uropodi Anomura
- Carapace largo; addome appiattito, simmetrico e ripiegato e aderente sulla regione sternale ampia del torace BRACHYURA, 8
- Addome grande, simmetrico, ripiegato ventralmente ma non aderente alla regione sternale del torace, con uropodi MACRURA, 9

8 – BRACHYURA

- Carapace quadrangolare; d'acqua dolce POTAMIDAE, 10

10 – POTAMIDAE

- Carapace quadrangolare un po' più largo che lungo; margine antero-laterale del carapace con un solo dente oltre l'orbitario esterno e una serie di tubercoli laterali

Potamon fluviatile (Herbst, 1785)

9 – MACRURA

- Sperone sul margine interno del carpo assente; margine inferiore del propodio più corto del dattilopodio; una o due paia di creste postorbitali; primo segmento addominale dotato di un paio di pleopodi in entrambi i sessi
ASTACIDAE, 11
- Sperone sul margine interno del carpo presente; margine inferiore del propodio più corto del dattilopodio; un paio di creste postorbitali; primo segmento addominale dotato di un paio di pleopodi in entrambi i sessi
CAMBARIDAE, 12
- Sperone sul margine interno del carpo presente; margine inferiore del propodio più lungo del dattilopodio; carapace anteriore dotato di carene; primo segmento addominale senza pleopodi in entrambi i sessi
PARASTACIDAE, 13

11 – ASTACIDAE

- Spine presenti dietro il solco cervicale; sperone assente sul II gonopodio dei maschi; carena antero-mediana denticolata
Astacus astacus (Linnaeus, 1758)
- Spine presenti dietro il solco cervicale; sperone presente sul II gonopodio dei maschi; carena antero-mediana non denticolata; dita della chela lunghe e affusolate; leggera incisione sul dito fisso; due coppie di creste postorbitali
Pontoastacus (Astacus) leptodactylus (Eschscholtz, 1823)
- Spine presenti dietro il solco cervicale; sperone presente sul II gonopodio dei maschi; carena antero-mediana non denticolata; una coppia di creste postorbitali
Austropotamobius pallipes complex (Lereboullet, 1858)
- Spine assenti dietro il solco cervicale; superficie della chela irregolare; scafoceriti antennali denticolati
Austropotamobius torrentium (Schrank, 1803)
- Spine assenti dietro il solco cervicale; sperone assente sul II gonopodio dei maschi; superficie della chela relativamente liscia; scafoceriti antennali non denticolati; macchia bianca dorsale posizionata sulla chela nella giuntura tra dito mobile e fisso
Pacifastacus leniusculus (Dana, 1852)

12 – CAMBARIDAE

- Spine epatiche prominenti sul lato anteriore del carapace; fasce scure trasversali sui segmenti addominali
Faxonius (Orconectes) limosus (Rafinesque, 1817)
- Solchi branchiopatici del carapace convergenti pronunciata irregolarità della chela dovuta a tubercoli
Procambarus clarkii (Girard, 1852)
- Di colore marrone con screziature marmoree con un possibile sfondo verde; un paio di spine epatiche; chelipedi piccoli
Procambarus virginalis Lyko, 2017

13 – PARASTACIDAE

- Due piccole spine sulla superficie dorsale del telson
Cherax destructor Clark, 1936
- Nessuna spina sulla superficie dorsale del telson
Cherax quadricarinatus (von Martens, 1868)