

**Sensibilità della trota marmorata (*Salmo [trutta] marmoratus*) nei confronti della Setticemia Emorragica Virale e della Necrosi Ematopoietica Infettiva: osservazioni preliminari**

*Susceptibility of marble trout (Salmo [trutta] marmoratus) to Viral Haemorrhagic Septicaemia and Infectious Haematopoietic Necrosis: preliminary observations*

**Fabio Borghesan, Eliana Schiavon, Lucia Selli, Amedeo Manfrin, Elisabetta Cappelozza, Rosita Quartesan & Giuseppe Bovo\***

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro (PD)

---

RIASSUNTO – La trota marmorata (*Salmo [trutta] marmoratus*) ha ricevuto, negli ultimi anni, una particolare attenzione da parte di ittiologi ed enti pubblici interessati alla gestione delle acque interne che hanno attivato programmi di selezione genetica mirati al ripopolamento dei corsi d'acqua naturali. Di questa specie, caratterizzata da un'areale di diffusione relativamente limitato, non si hanno sufficienti informazioni in merito alla sensibilità nei confronti delle patologie che colpiscono gli altri salmonidi ed, in particolare, non vi sono segnalazioni relative alle malattie virali incluse nell'elenco II dell'allegato A del DPR 555/92. Per tale motivo, si è ritenuto opportuno avviare alcune indagini sperimentali di sensibilità nei confronti della Setticemia Emorragica Virale (SEV) e della Necrosi Ematopoietica Infettiva (NEI). Allo scopo sono stati costituiti tre gruppi di 100 soggetti ciascuno dell'età di tre mesi circa: uno infettato con il virus della SEV, uno infettato con il virus della NEI ed un gruppo controllo. La stessa prova è stata condotta contemporaneamente su tre gruppi di avannotti di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) di pari età, utilizzati come riferimento. Al termine dell'infezione gli animali sono stati stabulati in acquari con flusso continuo di acqua di rete dechlorata e mantenuta alla temperatura di 10° C. Le osservazioni cliniche sono state protratte per 30 gg e al termine di questo periodo, tutti i soggetti deceduti e sopravvissuti sono stati sottoposti ad indagine virologica. I risultati ottenuti suggeriscono che la trota marmorata sia più resistente della trota iridea nei confronti della SEV mentre, per quanto riguarda la NEI, non sono state riscontrate differenze significative.

*SUMMARY - Particular attention to marble trout (Salmo [trutta] marmoratus) has been devoted recently by ichthyologists and public organizations managing freshwaters, who have set up several programs for genetic selection, in order to restock natural watercourses. Marble trout typically lives in a relatively small area of distribution. There is insufficient information regarding its susceptibility to diseases which affect other salmonids; in particular, there are no reports of the viral diseases included in list II of Annex A of Italian DPR 555/92. For this reason, we believed it would be useful to carry out experimental studies of the susceptibility of marble trout to Viral Haemorrhagic Septicaemia (VHS) and Infectious Haematopoietic Necrosis (IHN). Three groups, A, B and C, of marble trout fingerlings about 3 months of age, each composed of two subgroups of 50 subjects each, were subjected to the following treatments: group A: infection by immersion with a reference strain of VHS virus; group B: infection by immersion with a reference strain of IHN virus; group C: negative controls. In parallel, in order to have a reference parameter, the same tests were carried out on three groups of fingerlings of similar age of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). After infection, the animals were kept in 50-litre aquaria and supplied with a continual flow of dechlorinated tap water at a temperature of 10° C. Each aquarium was inspected daily, to ascertain the appearance of symptoms and/or mortality. Clinical observations lasted 30 days, after which all subjects, dead or surviving, were subjected to virological examination. Results indicate that marble trout is more resistant to VHS than rainbow trout. No significant differences were found with IHN.*

**Key words:** marble trout, *Salmo [trutta] marmoratus*, VHS, IHN

---

\* Corresponding Author: c/o Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10 – 35020 Legnaro (PD) – Italy. Tel. 049-8084248; Fax 049-8084392; E-mail: gbovo@izsvenezie.it

## INTRODUZIONE

La trota marmorata (*Salmo [trutta] marmoratus*) è una specie endemica e storicamente caratteristica dell'areale veneto e friulano ed è presente negli affluenti alpini del Po, nel Tagliamento e nell'Isonzo (Pomini, 1939; 1940; Sommani, 1948; 1960; Gandolfi & Zerunian, 1987a; 1987b) per estendersi poi ai fiumi della Dalmazia e della Slovenia (Povz, 1995). Negli ultimi decenni il mutare delle condizioni ambientali, il grave inquinamento delle acque, la rettificazione dei fiumi, la cementificazione degli alvei e la costruzione di sbarramenti ha messo in serio pericolo questa specie con una forte riduzione della sua popolazione nei corsi d'acqua, ma anche con la formazione di ibridi con un'altra specie autoctona, la trota fario (*Salmo trutta fario*) (Giuffra *et al.*, 1996; Stefani *et al.*, 2000; Lucarda *et al.*, 2000). Negli anni settanta sono cominciati i primi progetti di recupero e successivamente, a cura delle Regioni coinvolte, di reintroduzione del ceppo puro di questa specie nei corsi d'acqua naturali. Questi progetti hanno incontrato alcune difficoltà legate soprattutto sia alle normative sanitarie ed ai requisiti richiesti per la movimentazione degli animali da un bacino ad un altro, sia al recupero dei selvatici per la costituzione di nuovi parchi di riproduttori. Infatti, secondo la normativa vigente che riguarda la gestione dei ripopolamenti delle acque libere, il materiale da semina deve provenire da aziende approvate ed in esse può a sua volta essere introdotto esclusivamente materiale proveniente da aziende o zone approvate; ne risulta pertanto la difficoltà di poter reperire materiale idoneo per rinnovare le popolazioni di riproduttori. Infatti tale materiale può essere introdotto in aziende approvate solo da zone approvate. Nel caso della trota marmorata il rispetto della normativa potrebbe trovare una deroga invocando la necessità di recupero di una specie in fase di riduzione; ciò nondimeno è estremamente importante conoscere la sua sensibilità nei confronti delle principali patologie che colpiscono i salmonidi in genere ed in particolare nei confronti della Setticemia Emorragica Virale (SEV) e la Necrosi Emopoietica Virale (NEI), malattie presenti nell'elenco II dell'allegato A del DPR 555/92, dove sono indicati genericamente, come specie sensibili i salmonidi, ma nulla è detto della trota marmorata.

Per tale motivo si è ritenuto opportuno avviare, in collaborazione con l'Ente Tutela Pesca del Friuli Venezia-Giulia, una sperimentazione atta a stabilire la patogenicità di questi due Rhabdovirus nei confronti della trota marmorata. Infatti questi agenti virali negli altri salmonidi allevati hanno causato, negli ultimi vent'anni, notevoli perdite economiche, ostacolando anche la commercializzazione dei nostri prodotti negli altri paesi europei.

## MATERIALI E METODI

### *Virus -*

Per l'infezione sperimentale sono stati utilizzati:

- un ceppo di campo del virus della Setticemia Emorragica Virale (234/I-99) isolato da trota iridea, coltivato per 6 passaggi su cellule EPC e quindi rivirulentato tramite un passaggio in vivo in trotelle iridee.
- un ceppo di campo del virus della Necrosi Ematopoietica Infettiva (343/I-99) isolato da trota iridea, coltivato per 3 passaggi su cellule EPC (*Epithelioma Papillosum Cyprini*) e quindi rivirulentato tramite un passaggio in vivo in trotelle iridee.

*Pesci -*

Sono stati impiegati 300 avannotti di trota marmorata (*Salmo [trutta] marmoratus*) e 300 di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) di circa 3 mesi di età, omogenei per taglia e provenienti da allevamenti sottoposti a controllo sanitario ed in attesa di riconoscimento di indennità da SEV e NEI in base al DPR 555/92.

*Infezione -*

Per entrambe le specie gli avannotti sono stati divisi in tre gruppi di 100 soggetti ciascuno. I 6 gruppi ottenuti sono stati così impiegati (vedere tabella 1): i gruppi 1 e 2 sono stati utilizzati come controlli; i gruppi 3 e 4 sono stati infettati con il virus della SEV; i gruppi 5 e 6 sono stati infettati con il virus della NEI.

SPECIE	CONTROLLO	INFEZIONE SEV	INFEZIONE NEI
TROTA IRIDEA	GRUPPO 1	GRUPPO 3	GRUPPO 5
	100 soggetti	100 soggetti	100 soggetti
TROTA MARMORATA	GRUPPO 2	GRUPPO 4	GRUPPO 6
	100 soggetti	100 soggetti	100 soggetti

Tabella 1: Gruppi sperimentali  
Table 1: Experimental groups

L'infezione dei gruppi di avannotti è avvenuta mediante bagno prolungato di 120 minuti in contenitori da 5 litri di acqua opportunamente ossigenata e ad una temperatura di circa 10° C. Entrambi i virus sono stati diluiti nei rispettivi bagni infettanti in modo da ottenere titoli finali di 10<sup>4</sup> DICT<sub>50</sub>/ml. I gruppi di controllo sono stati sottoposti a medesimo trattamento con esclusione dell'agente virale.

Trascorso il tempo di infezione gli avannotti sono stati trasferiti in acquari cilindrici di circa 50 litri di capacità, riforniti a flusso continuo di acqua di rete dechlorata e refrigerata a circa 11° C, suddividendo ogni gruppo in due vasche da 50 soggetti ciascuna. Questa suddivisione è stata effettuata anche per il gruppo controllo ottenendo così sei vasche per ogni specie.

*Osservazioni cliniche -*

Ogni acquario è stato ispezionato giornalmente per accertare la comparsa di sintomatologia e/o mortalità. I soggetti deceduti sono stati raccolti e conservati a -80° C fino all'inizio delle indagini di laboratorio. Le osservazioni cliniche sono state effettuate per 30 giorni ed al termine di questo periodo tutti i soggetti deceduti o sopravvissuti sono stati sottoposti ad indagine virologica.

*Esame virologico -*

Gli avannotti deceduti sono stati suddivisi in pool di consistenza variabile (dai 2 ai 6 soggetti ciascuno) in relazione alla data della morte; i sopravvissuti sono stati suddivisi in pool di 4-5 soggetti per la trota marmorata e di 10-11 soggetti per la trota iridea. Dagli

avannotti sono stati prelevati gli organi (rene, milza, cuore) da sottoporre ad esame virologico secondo la procedura ufficiale (Decisione 2001/183/CE): sono stati messi in sospensione in medium di diluizione (MEM con aggiunta di antibiotici e siero bovino fetale) in rapporto 1:10, omogeneizzati con stomacher e centrifugati a 4000 rpm a +4° C. I supernatanti sono stati raccolti, trattati per una notte a +4° C con antibiotici e successivamente inoculati in linee cellulari (monostrati di 24 ore coltivati su piastre a 24 pozzetti) EPC (Epithelioma Papillosum Cyprini - Fijan *et al.*, 1983) e BF-2 (Bluegill Fibroblast - Wolf & Quimby, 1966) a due diluizioni, tal quale e 1:10, in modo da ottenere diluizioni finali di 1:100 e 1:1000. Le colture cellulari inoculate sono state incubate per 7 giorni a 15° C e controllate regolarmente al microscopio ottico per individuare la comparsa di effetto citopatico. Le cellule inoculate, da cui dopo 7 giorni di incubazione primaria non si sono sviluppati effetti citopatici, sono state sottoposte a subcoltivazione. Il secondo passaggio su colture cellulari fresche è stato mantenuto per altri 7 giorni a +15° C. Al termine della seconda settimana di incubazione i campioni che non hanno sviluppato effetto citopatico sono stati considerati negativi. I campioni che hanno invece manifestato effetto citopatico nel corso del primo o del secondo passaggio sono stati sottoposti ad identificazione virale mediante immunofluorescenza utilizzando sieri iperimmuni anti-SEV e anti-NEI secondo la procedura ufficiale (Decisione 2001/183/CE).

## RISULTATI

Per quanto riguarda la specie marmorata, le osservazioni cliniche rilevate nei trenta giorni successivi all'infezione, hanno evidenziato assenza di sintomatologia apprezzabile sia nel gruppo infettato con il virus della SEV che nel gruppo infettato con il virus della NEI.

Analogo risultato è stato osservato nel gruppo di trote iridea infettato con il virus della NEI, con la presenza di due soli soggetti con melanosi cutanea ed un soggetto con atassia natatoria; al contrario, nel gruppo di trote iridea infettate con il virus della SEV, la mortalità era costantemente preceduta dalla comparsa dei sintomi classici della malattia quali: esoftalmo, iperpigmentazione cutanea, atassia natatoria, letargia.

L'andamento della mortalità rilevato nei diversi gruppi sperimentali è schematizzato nei grafici n° 1 e n° 2.

Prendendo in considerazione i gruppi infettati con il virus della Setticemia Emorragica Virale (grafico n° 1), si rileva che nella trota iridea la curva di mortalità inizia il 5° giorno p.i. e mantiene un andamento costante fino al 16° giorno dove subisce una flessione; a partire dal 23° giorno la mortalità si arresta completamente. Nella trota marmorata si registra una mortalità lieve (3 soggetti) al 7° giorno e l'assenza di mortalità o quasi nei giorni successivi raggiungendo il valore totale di 8 soggetti morti nell'intero periodo di osservazione.

Per quanto riguarda l'infezione con il virus della Necrosi Ematopoietica Virale, la mortalità nelle due specie mostra inizialmente un andamento molto simile (grafico n° 2). Infatti questa si manifesta in entrambe al 5°-6° giorno p.i. per arrestarsi al 12° giorno. Successivamente nella trota iridea la mortalità si arresta, mentre nella trota marmorata, a partire dal 19° giorno, si assiste ad una seconda curva di mortalità, più bassa della precedente, che si protrae fino alla fine della prova.

Come si rileva dai grafici i gruppi di controllo hanno presentato una mortalità non significativa.

Per quanto riguarda le indagini virologiche, i risultati ottenuti sono riassunti nelle tabelle 2, 3 e 4. Dalla tabella 2 si evidenzia che i gruppi di controllo sono risultati negativi per entrambi i virus in esame.

Gruppi		Pool esaminati (n.soggetti)	Pool + SEV (n.soggetti)	Pool + NEI (n.soggetti)	Pool Negativi (n.soggetti)	% di positività
<b>GRUPPO 1</b> Iridea C--	Deceduti	0	-	-	-	-
	Sopravvissuti	10 (100)	-	-	10 (100)	<b>0%</b>
	Totali	10 (100)	-	-	10 (100)	<b>0%</b>
<b>GRUPPO 2</b> Marmorata C--	Deceduti	1 (3)	-	-	1 (3)	<b>0%</b>
	Sopravvissuti	10 (97)	-	-	10 (97)	<b>0%</b>
	Totali	11 (100)	-	-	11 (100)	<b>0%</b>

Tabella 2: Risultati dell'esame virologico nei gruppi di controllo.  
*Table 2: Virological results obtained from negative control groups*

Gruppi		Pool esaminati (n.soggetti)	Pool + SEV (n.soggetti)	Pool + NEI (n.soggetti)	Pool Negativi (n.soggetti)	% di positività
<b>GRUPPO 3</b> Iridea + SEV <sub>v</sub>	Deceduti	7 (34)	6 (24)	-	1 (10)	<b>86%</b>
	Sopravvissuti	6 (66)	2 (22)	-	4 (44)	<b>33%</b>
	Totali	13 (100)	8 (46)	-	5 (54)	<b>61%</b>
<b>GRUPPO 4</b> Marmorata + SEV <sub>v</sub>	Deceduti	4 (8)	-	-	4 (8)	<b>0%</b>
	Sopravvissuti	15 (92)	-	-	15 (92)	<b>0%</b>
	Totali	19 (100)	-	-	19 (100)	<b>0%</b>

Tabella 3: Risultati dell'esame virologico nei gruppi infettati con il virus della SEV  
*Table 3: Virological results obtained from VHS virus infected groups*

Gruppi		Pool esaminati (n.soggetti)	Pool + SEV (n.soggetti)	Pool + NEI (n.soggetti)	Pool Negativi (n.soggetti)	% di positività
<b>GRUPPO 5</b> Iridea + NEIv	Deceduti	3 (12)	-	3 (12)	0	<b>100%</b>
	Sopravvissuti	9 (88)	-	1 (10)	8 (78)	<b>11%</b>
	<b>Totali</b>	<b>12</b> <b>(100)</b>	<b>-</b>	<b>4</b> <b>(22)</b>	<b>8</b> <b>(78)</b>	<b>33%</b>
<b>GRUPPO 6</b> Marmorata + NEIv	Deceduti	6 (23)	-	3 (9)	3 (12)	<b>50%</b>
	Sopravvissuti	18 (77)	-	4 (18)	14 (59)	<b>22%</b>
	<b>Totali</b>	<b>24</b> <b>(100)</b>	<b>-</b>	<b>7</b> <b>(27)</b>	<b>17</b> <b>(73)</b>	<b>29%</b>

Tabella 4: Risultati dell'esame virologico nei gruppi infettati con il virus della NEI  
*Table 4: Virological results obtained from IHN virus infected groups*

Dalle trote iridee infettate con il virus della SEV (tabella 3) lo stesso è stato isolato da 6 dei 7 pool di soggetti deceduti nel corso delle osservazioni cliniche (per un totale di 24 soggetti positivi su 34 esaminati) e da 2 dei 6 pool, ciascuno costituito da 11 pesci, di soggetti sopravvissuti fino al 30° giorno di esame con una percentuale di positività, calcolata sul totale dei pool esaminati, pari al 61% (86% nei pool dei soggetti deceduti e 33% in quelli dei sopravvissuti). Al contrario nelle trote marmorate infettate con il medesimo virus nessun pool, né fra i deceduti né fra i sopravvissuti, è risultato positivo all'isolamento virale.

Per quanto riguarda l'infezione con il virus della NEI, negli avannotti di trota iridea la percentuale di positività calcolata sul totale dei pool esaminati, pari al 33%, è risultata molto simile a quella ottenuta dai pool di specie marmorata, pari al 29%. Però, mentre per nel gruppo di iridee si è avuto il 100% di positività nei soggetti deceduti e l'11% in quelli sopravvissuti, nel gruppo di marmorate la percentuale di positività all'isolamento virale è risultata pari al 50% nei morti e 22% nei sopravvissuti.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La necessità di effettuare la prova di infezione sperimentale in parallelo anche nella trota iridea, nasce dal fatto che solo per quest'ultima si conoscono sia i segni clinici che le lesioni anatomopatologiche significative delle due patologie virali oggetto del lavoro.

I risultati ottenuti suggeriscono che la trota marmorata (*Salmo [trutta] marmoratus*) sia resistente al virus della SEV. Infatti, in questa specie, non è stata evidenziata alcuna sintomatologia ed inoltre, sia negli 8 animali morti, probabilmente per cause ambientali che nei sopravvissuti, non è stata rilevata la presenza dell'agente patogeno. La mancata

manifestazione della sintomatologia e mortalità nella specie marmorata nonchè il mancato riscontro del virus nei tessuti di tutti i soggetti esposti all'infezione, potrebbe essere riferibile ad un fenomeno di resistenza naturale di questa specie. Ovviamente questa osservazione deve essere considerata, molto cautelativamente, come un risultato preliminare da confermare con ulteriori e più approfondite indagini. In particolare è necessario verificare se la resistenza esplicita nei confronti del ceppo 243/I-99 che appartiene al sierotipo maggiormente riscontrato nel territorio, sia mantenuta anche per altri sierotipi dello stesso virus o se, come nel caso della trota fario, specie ritenuta più resistente alla SEV rispetto alla trota iridea, questa resistenza venga meno in presenza di alcuni ceppi virali, come nel caso del ceppo 23-75 che è in grado di indurre gravi mortalità in questa specie oltre che nella trota iridea.

Per chiarire ogni dubbio e stabilire l'effettiva sensibilità di questa specie alla SEV è necessario approfondire le indagini sperimentali, impiegando tutti i sierotipi e/o genotipi presenti nel territorio. Nei confronti dell'agente eziologico della Necrosi Ematopoietica Infettiva, le due specie risultano avere, al contrario, una sensibilità paragonabile, anche se si sono evidenziate alcune differenze.

In entrambe il quadro clinico che accompagnava la mortalità è risultato poco significativo e la curva di mortalità post infezione ha mostrato lo stesso andamento iniziale, sebbene nella specie marmorata sia comparsa in seguito una seconda curva di mortalità di minore entità. È importante sottolineare che questa seconda fase di mortalità non è comunque imputabile al virus della Necrosi Ematopoietica Virale in quanto i soggetti morti e successivamente testati virologicamente hanno dato esito negativo. Di conseguenza è stato possibile attribuire tale mortalità tardiva a cause diverse da quelle virali.

Per quanto riguarda la percentuale di positività all'isolamento virale, calcolata sul totale dei pool esaminati, in entrambe le specie abbiamo ottenuto risultati molto simili, ovvero una percentuale di positività del 33% nell'iridea e del 29% nella marmorata.

Considerando separatamente le percentuali di positività nei gruppi dei morti e dei sopravvissuti si notano però delle differenze: nell'iridea l'agente virale è stato isolato nel 100% dei pool dei soggetti deceduti, mentre nella specie marmorata la positività nello stesso gruppo è risultata significativamente più bassa (50%). È necessario però sottolineare che, considerando soltanto i pool dei morti nella prima curva di mortalità p.i., anche in questa specie la percentuale di positività è risultata elevata, pari al 75% (3 pool positivi su 4 esaminati), mentre, come già detto in precedenza, i soggetti deceduti nel corso della seconda curva di mortalità, sono risultati virologicamente negativi.

Negli avannotti di iridea sopravvissuti il virus è stato isolato dall'11% dei pool esaminati, mentre nella trota marmorata la percentuale di positività risulta essere il doppio (22%), facendo pensare ad una maggiore presenza, per questa specie, di portatori asintomatici.

In conclusione si può senz'altro affermare che la trota marmorata risulti sensibile almeno nei confronti della Necrosi Ematopoietica Infettiva.

Inoltre la presenza del virus in soggetti che non hanno mostrato sintomatologia e che sono sopravvissuti ad un mese post-infezione, suggerisce la possibilità che si possa instaurare uno stato di portatore-eliminatore.

Tale evenienza costituisce un fattore di rischio che va valutato con attenzione nell'ambito della gestione dei piani di ripopolamento ed impone, anche per la trota marmorata per la quale talora sono state ipotizzate deroghe al fine del recupero e della salvaguardia della specie, una stretta osservanza delle normative riguardanti la semina nelle acque pubbliche ed il riconoscimento delle aziende/zone.

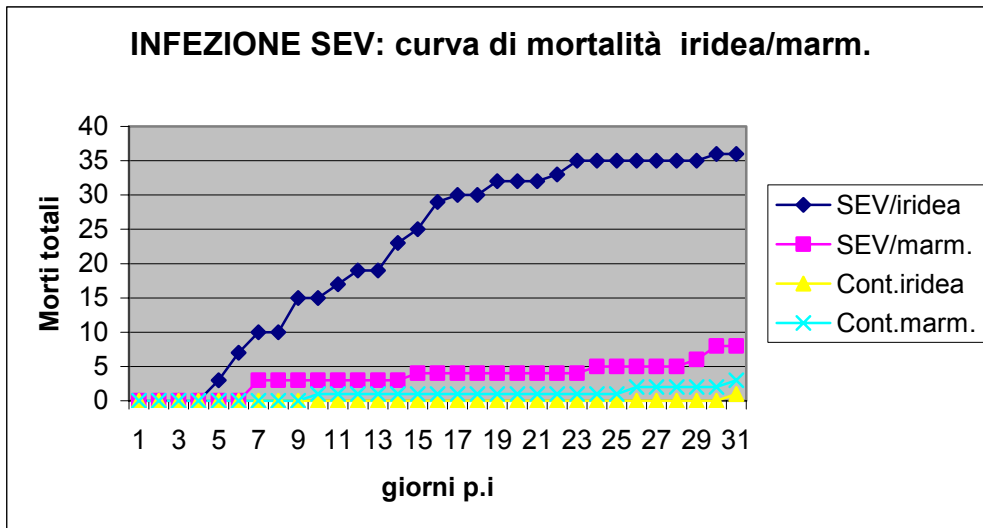


Fig. 1: Curva di mortalità nelle specie iridea e marmorata infettate con il virus della SEV  
*Figure 1: mortality curves in rainbow and marble species infected with VHS virus*

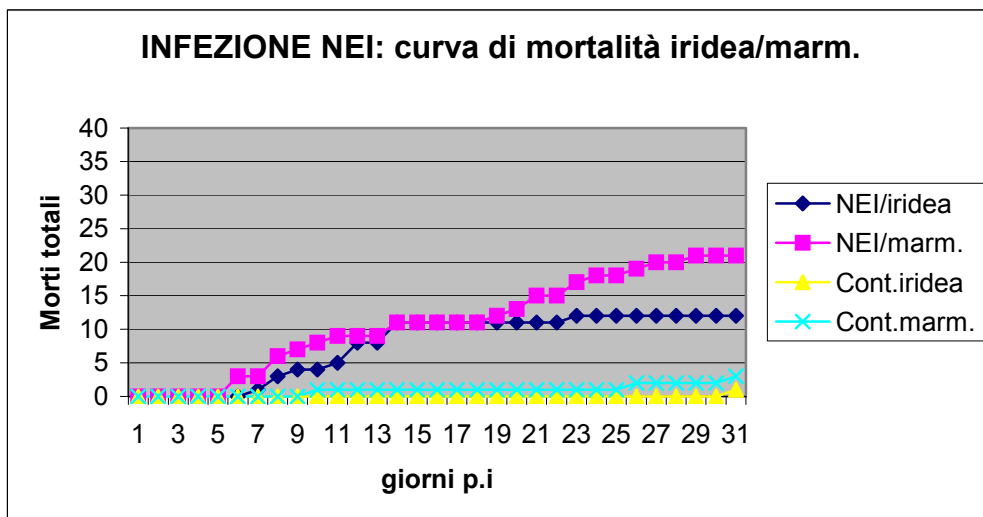


Fig. 2: Curva di mortalità nelle specie iridea e marmorata infettate con il virus della NEI  
*Figure 2: mortality curves in rainbow and marble species infected with IHN virus*

## RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia l'Ente Tutela Pesca del Friuli Venezia-Giulia che ha contribuito al finanziamento della ricerca e fornito gli avannotti di trota marmorata.

## BIBLIOGRAFIA

Anonimo (1992). D.P.R. n°555 del 30 Dicembre 1992: "Regolamento per l'attuazione della Direttiva 91/67/CEE che stabilisce norme di polizia sanitaria per i prodotti di acquacoltura".

Anonimo (2001). Decisione della Commissione n° 2001/183/CE del 22 Febbraio: "che stabilisce i piani di campionamento e i metodi diagnostici per individuare e confermare alcune malattie dei pesci e che abroga la decisione 92/532/CEE".

Fijan N., Sulimanovic D., Bearzotti M., Muzinic D., Zuillenberg L.O., Chilmoczyk S., Vautherot J.F., de Kinkelin P.(1983). Some properties of the epithelioma papulosum cyprini (EPC) cell line from carp *Cyprinus carpio*. *Ann. Virol. (Inst. Pasteur)* 134E: 207-220.

Gandolfi G. & Zerunian S. (1987a). I pesci delle acque interne italiane: aggiornamento e considerazioni critiche sulla sistematica e la distribuzione. *Atti Soc. It. Sci. Nat. Museo Civ. Storia Nat.*, 128: 3-56.

Gandolfi G. & Zerunian S. (1987b). L'ittiofauna autoctona delle acque interne italiane: problemi aperti sulla sistematica. *Atti II Conv. Naz. AIIAD, Torino, 1987*: 131-145.

Giuffra E., Guyomard R. & Forneris G. (1996). Phylogenetic relationships and introgression patterns between incipient parapatric species of Italian brown trout (*Salmo trutta* L. Complex). *Molecular Ecology*, 5: 207-220

Lucarda N.A., Patarnello T., Forneris G. & Pascale M. (2000). Population genetics of *S. trutta marmoratus*, *S. trutta trutta* and their hybrid of the Pellice river basin (Piemonte, Italy). *Quaderni ETP*, 29: 13-22.

Pomini F.P. (1939). Fenotipi ed ecotipi nei *Salmo* italiani. *Scientia Genetica*, 1: 206-218.

Pomini F.P. (1940). Il problema biologico dei *Salmo*. *Arch. Zool. Ital.*, 28: 421-481.

Povz M. (1995). Status of freshwater fishes in the Adriatic catchment of Slovenia. *Biol. Conserv.*, 72: 171-177.

Sommani E. (1948). Sulla presenza del *Salmo fario* L. e del *Salmo marmoratus* Cuv. nell'Italia settentrionale. Loro caratteristiche ecologiche e considerazioni relative ai ripopolamenti. *Boll. Pesca Pisc. Idrobiol.*, 3: 136-145.

Sommani E. (1960). Il *Salmo marmoratus* Cuv: sua origine e distribuzione nell'Italia settentrionale. Loro caratteristiche ecologiche e considerazioni relative ai ripopolamenti. *Boll. Pesca Pisc. Idrobiol.*, 15: 40-47.

Stefani F., Arcadipane M., Galli P. & Crosa G. (2000). Morphometric analysis and specific discrimination in salmonid population of province of Milan – Italy. *Quaderni ETP*, 29: 23-27.

Wolf K. & Quimby M.,C. (1966). Lymphocystis virus: Isolation and propagation in centrarchid fish cell lines. *Science*, 135: 1965-1966.