

G. A. AMIRANTE

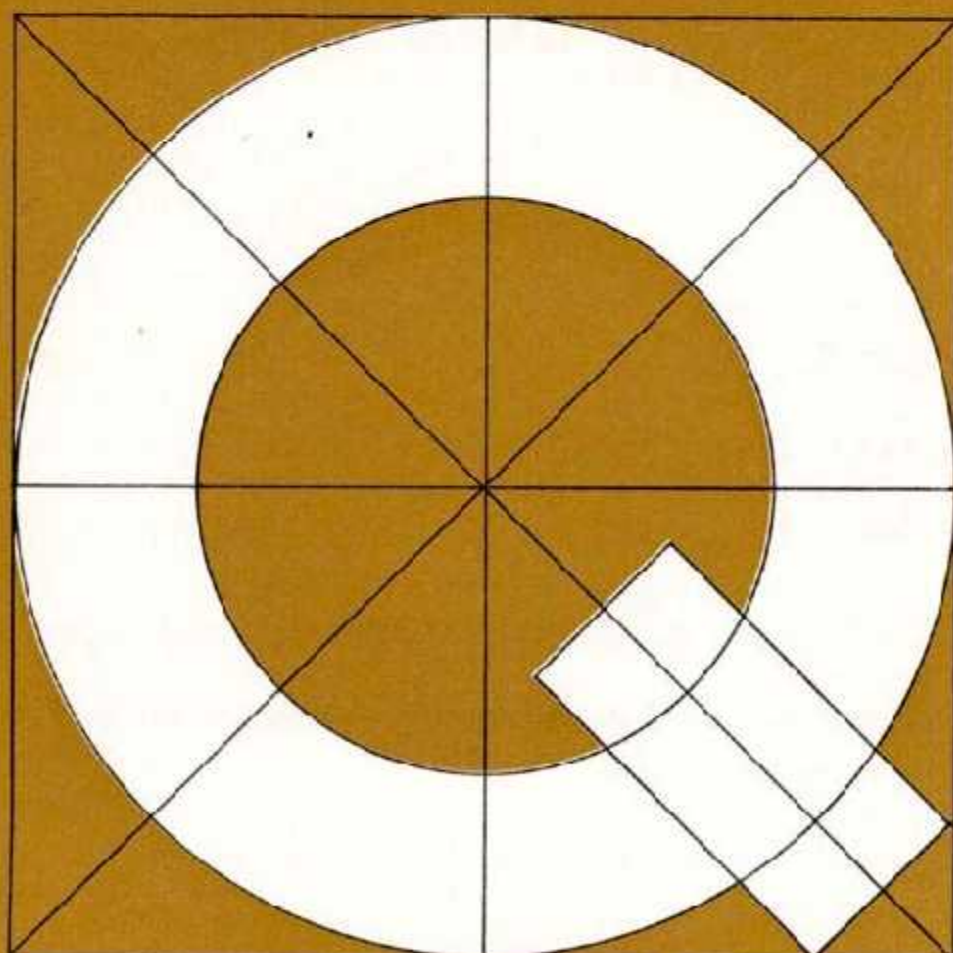
STUDI IMMUNOISTOCHEMICI SULLA PRESENZA
DELL'ENZIMA FOSFOPROTEIN-FOSFATASI IN AVANNOTTI
DI TROTA IRIDEA (*SALMO GAIRDNERI* RICH.)

*IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES ON PRESENCE
OF RAINBOW TROUT LARVAE ("SALMO GAIRDNERI" RICH.)
PHOSPHOPROTEIN-PHOSPHATASE*

G. B. DELMASTRO - G. FORNERIS - C. SARRA

DIETA ESTIVA DI *SALVELINUS ALPINUS* (L) (Osteichthyes, Salmonidae)
IN UN LAGO D'ALTA QUOTA DELLE ALPI OCCIDENTALI

*SUMMER DIET OF SALVELINUS ALPINUS (L) (Osteichthyes, Salmonidae)
IN A HIGH ALTITUDE LAKE OF WESTERN ALPS*



quaderni etp

QUADERNI DELL' ENTE TUTELA PESCA - UDINE

Rivista di Limnologia

N. 7 - 1983

Direttore responsabile: **Franco Spizzo**

I «QUADERNI» pubblicano in lingua italiana o in una lingua ufficiale di congressi lavori originali in vari campi della Limnologia, testi di conferenze, atti di convegni, monografie, ecc. Possono venir pubblicate anche note brevi.

I dattiloscritti — composti secondo le norme per gli Autori — vanno inviati a:

Direttore «Quaderni Ente Tutela Pesca»,

Viale Volontari della Libertà N. 37 - 33100 UDINE

I lavori saranno pubblicati nel più breve tempo possibile dopo essere stati sottoposti all'esame di un consulente di redazione nominato volta per volta, secondo le specifiche competenze. Quando il lavoro non dovesse risultare adatto ad essere pubblicato sui «Quaderni», la Direzione si riserva di restituirlo senza particolare motivazione.

Per l'acquisto dei «Quaderni», anche arretrati, o per richieste di scambi rivolgersi all'Ente Tutela Pesca.

Ente Tutela Pesca del Friuli-Venezia Giulia
33100 UDINE - Viale Volontari della Libertà, N. 37
Tel. (0432) 482285 - 482474

LABORATORIO DI IDROBIOLOGIA
33050 - Ariis di Rivignano (UD) - Via Chiesa, N. 11
Tel. (0432) 775815

Suppl. a NOTIZIARIO E.T.P.
Direzione, Redazione, Amministrazione, 33100 Udine - Viale Volontari della
Libertà, N. 37

Autorizzazione del Tribunale di Udine, N. 355 del 31 maggio 1974

Tipografia A. Pellegrini - Udine

Diritti riservati - In caso di riproduzioni, anche parziali, citare la fonte.

copertina - progetto grafico Sandro Comini

STUDI IMMUNOISTOCHEMICI SULLA PRESENZA
DELL'ENZIMA FOSFOPROTEIN-FOSFATASI IN AVANNOTTI
DI TROTA IRIDEA (*SALMO GAIRDNERI* RICH.)

*IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES ON PRESENCE
OF RAINBOW TROUT LARVAE ("SALMO GAIRDNERI" RICH.)
PHOSPHOPROTEIN-PHOSPHATASE*

Gianni A. Amirante *)

Keywords: Phosphoprotein-phosphatase (PPPasi). Fluorescein isothiocyanate (FITC). Lipovitellin. Rainbow trout.

Abstract: The localisation of an enzyme, the PPPase, at the intestine and faringeal level of Rainbow trout larvae was investigated, using immunochemical and immuno-histochemical methods. The possible role of PPPase in energetic cellular mechanisms is discussed

Riassunto: In questo lavoro viene isolato per la prima volta dalla milza di trote della specie *Salmo gairdneri* Rich. l'enzima PPPasi. La tecnica da noi adottata si è dimostrata buona in quanto l'enzima estratto è risultato puro ed attivo. Contro tale enzima è stato allestito un antisiero che viene poi marcato mediante coniugazione con isotiocianato di fluoresceina. Con tale antisiero sono state esaminate al microscopio a fluorescenza varie sezioni di avannotti a vari giorni dalla schiusa. Si è potuto così evidenziare la presenza della PPPasi a livello della mucosa intestinale e del faringe degli avannotti a partire dal 6° giorno dalla schiusa. Tale dato dimostrerebbe da un lato che l'enzima viene sintetizzato direttamente dall'avannotto e dall'altro che molto verosimilmente esso giocherebbe un ruolo essenziale nell'utilizzo delle fosfoproteine del tuorlo e nei processi energetici. E' stata parallelamente osservata la presenza di una proteina, parzialmente simile alla PPPasi a livello del muco, sintetizzata dalle cellule mucipare dell'epidermide.

Summary: In this work, for the first time, enzyme Phosphoprotein-Pho-

* Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Trieste

sphatase (PPPase) from *Salmo gairdneri* Rich. spleen was isolated and purified. The enzyme activity and purity demonstrate that our extraction technique is efficient. Specific antiserum against PPPase was obtained and conjugated with fluorescein isothiocyanate (FITC). Transversal sections of larve were treated with anti-PPPase-FITC and observed using a Leitz fluorescence microscope. In this way it was possible to demonstrate the PPPase presence at intestinal and faringeal mucosa level. This evidence strongly suggests that trout larvae are capable of synthesizing PPPase since the 6th day from hatching, and, on the other hand, that PPPase plays an essential role in yolk phosphoprotein utilization and in cellular energetic mechanisms. The presence of a protein, partially similar to PPPase, in the mucus was also observed. This protein is probably synthesized by mucous epidermal cells.

Introduzione

Le uova di trota, con il loro diametro di circa quattro millimetri, sono tra le più voluminose dei Teleostei. Tali dimensioni sono dovute alla grande quantità di materiale di riserva in forma di vitello o tuorlo. Il loro deutoplasma è composto da una miscela eterogenea di diverse sostanze, condensate sotto forma di dischetti, placchette, granuli insolubili, visibili al microscopio. Sono costituiti da gliceridi, glicogeno, proteine, fosfolipidi, steroidi, vitamine, enzimi e sali inorganici di calcio, potassio, sodio e ferro (Burley e Cook, 1961). Al polo animale si trovano inoltre gocce di lipidi liquidi che ne permettono il galleggiamento e l'orientamento. Tali gocce hanno anche una notevole importanza sistematica nei Teleostei, in quanto per ogni specie presentano grandezza, numero e colore caratteristici. Sin dal 1956 si era visto che la maggior parte delle proteine del tuorlo vengono sintetizzate nell'organismo materno e poi trasportate nell'uovo stesso. Infatti Flickinger (1956) e più tardi Heald e McLachland (1965) avevano dimostrato negli Uccelli che il fegato era il responsabile della loro sintesi. Amirante (1972) ha confermato che anche nei Teleostei il fegato è il luogo della sintesi dei precursori delle lipovitelline che tramite il circolo sanguigno vengono poi trasportate nelle uova ove vengono assemblate in lipovitelline insolubili. Tra le proteine del tuorlo le lipovitelline sono in quantità predominante e per la loro natura complessa (sono formate da lipoproteine e fosfoproteine) e per la loro funzione energetica e plastica sono anche le più interessanti. Gross (1952) aveva sottolineato il ruolo degli ioni bivalenti, come il Ca^{++} ed in minor misura il Mg^{++} , nel processo di utilizzazione del tuorlo, dimostrando che alte concentrazioni di calcio potevano solubilizzare le

placchette del turlo. Lo ione Ca^{++} non interviene solo al momento dell'utilizzo delle placchette del turlo da parte dell'embrione, ma anche nel meccanismo di trasporto delle lipovitelline dal fegato all'uovo durante l'ovogenesi. Si è visto infatti (Amirante, 1972) che la lipovitellina è solubile a basse concentrazioni dello ione Ca^{++} mentre è completamente insolubile ad eguali concentrazioni di ioni monovalenti. Amirante (1972) ha inoltre osservato che durante l'ovogenesi nella trota la concentrazione del Ca^{++} nel sangue aumenta considerevolmente, mentre il suo livello, anche durante il periodo di estro nei maschi, rimane costante. Non solo ma se in femmine immature si ha induzione dell'ovogenesi da parte di un estrogeno, si nota un considerevole aumento del tasso del Ca^{++} nel sangue. Panijel (1950) nel pollo ha determinato l'ammontare delle fosfoproteine che fanno parte delle lipovitelline nelle placchette vitelline piccole e grandi e ha osservato un'intensa attività enzimatica nelle placchette più piccole, ad alto contenuto di fosforo. L'enzima più attivo è la fosfoprotein-fosfatasi (PPPasi), evidenziata anche nell'uovo di Anfibia da Flickinger (1956). Mano (1969) aveva dimostrato che la insolubilità delle vitelline era legata alla componente fosfoproteica. Se quindi i gruppi fosfati sono determinanti per la insolubilità delle placchette del turlo c'è da aspettarsi che un enzima, la fosfoprotein-fosfatasi, possa entrare nel processo di utilizzazione del turlo da parte dell'embrione. Tale enzima idrolizza alcuni gruppi fosfati delle fosfoproteine in modo da impedire al complesso di riformarsi, solubilizzandolo definitivamente (Mano, 1969). Durante lo sviluppo embrionale infatti l'aumento del rapporto lipoproteine solubili/insolubili è correlato con l'aumento dello stesso enzima. Barth e Barth (1954) e più tardi Rosentein e Taborisky (1970) legano l'attività della PPPasi a quella dell'ATP nella sintesi di acidi nucleici ed altri composti fosforilati ed analogamente individuano la possibilità di un controllo della velocità di defosforilazione delle fosfoproteine che si basa essenzialmente sull'azione inibitrice dell'ATP sulla PPPasi. E' però ancora difficile poter stabilire il significato di tale enzima nell'utilizzazione del fosforo da parte dell'embrione. La sua azione consisterebbe nello staccare il fosforo dalla molecola proteica prima che intervenga una proteolasi, poichè esso non è in grado di staccare fosforo dai peptidi fosforilati, da cui viene staccato invece da enzimi proteolitici, come la fosfomonocetasi acida presente nell'embrione di pollo in grande quantità (Sundararajan e Sarma, 1954). Mentre l'enzima PPPasi è stato studiato in Mammi-

feri, Uccelli e Anfibi, nei Pesci e in particolare nei Teleostei nulla è stato fatto.

Con questo lavoro si è voluto verificare se anche nell'avannotto di un Teleosteo, la trota iridea (*Salmo gairdneri* Rich.), a fianco della già nota azione del Ca^{++} presente nel sangue, che favorisce la solubilizzazione dei granuli del tuorlo, fosse presente un meccanismo enzimatico, legato alla PPPasi, e se fosse possibile dimostrare mediante tecniche immunochimiche che tale enzima viene sintetizzato ex novo dall'embrione.

Materiali e metodi

ESTRAZIONE E PURIFICAZIONE DELLA PPPasi

Per l'estrazione dell'enzima sono state usate milze prelevate da 15 trote adulte della specie *Salmo gairdneri* Rich. del peso di circa 500 g., prelevate direttamente dall'allevamento Trocicoltura di Bagnolo (Brescia) ed è stata seguita la metodica di Sundararajan e Sarma (1954) parzialmente modificata. Le milze tagliuzzate vengono omogenate in PBS pH 5.8. Si centrifuga e al sovrinatante si aggiunge lentamente ammonio solfato in modo da ottenere una concentrazione finale del 22%. Il precipitato viene sospeso in acqua distillata e dializzato 24 h contro acqua distillata. Si centrifuga e il precipitato si scioglie in PBS. Si aggiunge ammonio solfato sino a una concentrazione finale del 44% e si centrifuga. Dopo dialisi contro acqua distillata il precipitato va ridisciolti in PBS. A tale soluzione va aggiunto lentamente un egual volume di acetone. Si raccoglie il precipitato e si scioglie in PBS. La purezza dell'enzima viene saggiata mediante elettroforesi in acetato di cellulosa.

PURIFICAZIONE DELLA LIPOVITELLINA

La lipovitellina viene estratta da circa 100 g di uova vergini di trota iridea seguendo il metodo descritto da Amirante (1972).

MISURA DELL'ATTIVITA' ENZIMATICA

A una serie di provette contenente ciascuna 1 mg di enzima sciolto in 1 ml di PBS pH 6 vengono aggiunte diverse quantità di lipovitellina (da 2 a 12 mg) e incubate a 37 °C per 30 minuti. Dopo deproteinizzazione mediante acido tricloroacetico, l'attività enzimatica viene calcolata dalla quantità di fosforo inorganico liberato, mediante il metodo descritto da Fiske e Subbarow (1925). Contempo-

raneamente vengono eseguiti controlli con substrato ed acqua ed enzima ed acqua. Un'altra misura dell'attività enzimatica viene calcolata dalla percentuale di lipovitellina solubilizzata. A 1 ml di soluzione con varie quantità di enzima (da 2 a 12 mg) vengono aggiunti 10 mg di lipovitellina sospesa in acqua distillata. Dopo 30 minuti a 37 °C si centrifuga e il surnatante viene dializzato contro acqua distillata. Dal precipitato ottenuto si estrapola la percentuale di substrato solubilizzato dall'enzima.

PRODUZIONE DI ANTICORPI ANTI-PPPasi

Vengono immunizzati 3 conigli New Zeland mediante iniezione nella vena marginale dell'orecchio con 0.5 ml di una soluzione di PPPasi in soluzione fisiologica (3 mg enzima/ml). Vengono fatte tre iniezioni a distanza di 15 giorni l'una dall'altra e infine il sangue viene prelevato direttamente dal cuore. L'antisiero, saggiato mediante immunodiffusione, viene mantenuto a -20 °C, dopo purificazione mediante ammonio solfato.

CONIUGAZIONE DELL'ANTISIERO CON FLUORESCEINA

A una soluzione contenente approssimativamente 100 mg di anti-PPPasi in tampone pH 9 vengono aggiunti lentamente 0.5 mg di isotiocianato di fluoresceina (FITC). La soluzione tenuta su agitatore una notte a 4 °C viene purificata su colonna con DEAE-Sephadex A25 e concentrata mediante ultradialisi.

IMMUNOFLUORESCENZA

Per le prove di immunofluorescenza vengono usati 30 avannotti dalla schiusa fino a 10 giorni, fissati e inclusi secondo il metodo descritto da Sainte-Marie (1962). Le fettine vengono trattate con anti-PPPasi coniugato con FITC per 30 minuti a 37 °C e osservate al microscopio a fluorescenza (Leitz Dialux 20 - Ploemopac 2.3). Per controllo alcune fettine vengono pretrattate con antisiero non coniugato e poi con antisiero coniugato con FITC.

Discussione

L'enzima da noi isolato dalla milza di trota iridea adulta si è dimostrato puro, come si è potuto constatare dalla presenza di una unica banda elettroforetica a media velocità di migrazione. La PPPasi da noi isolata è risultata inoltre attiva. Infatti in presenza di lipovi-

tellina insolubile, la solubilizza (fig. 1) e ne libera contemporaneamente fosforo inorganico, legato alla fosfoproteina (fig. 2). Tale dato confermerebbe l'ipotesi che la fosfoproteina lega mediante il radicale fosforico due molecole di lipoproteine formando un complesso inso-

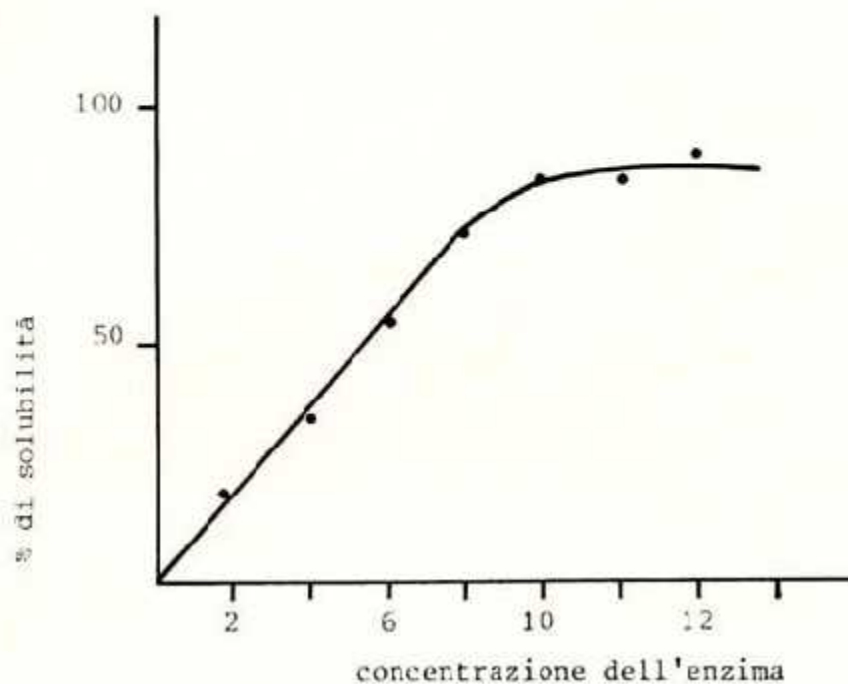


Fig. 1 - Curva della percentuale di lipovitellina solubilizzata da varie concentrazioni dell'enzima PPPasi, dopo 30 minuti a 37 °C.

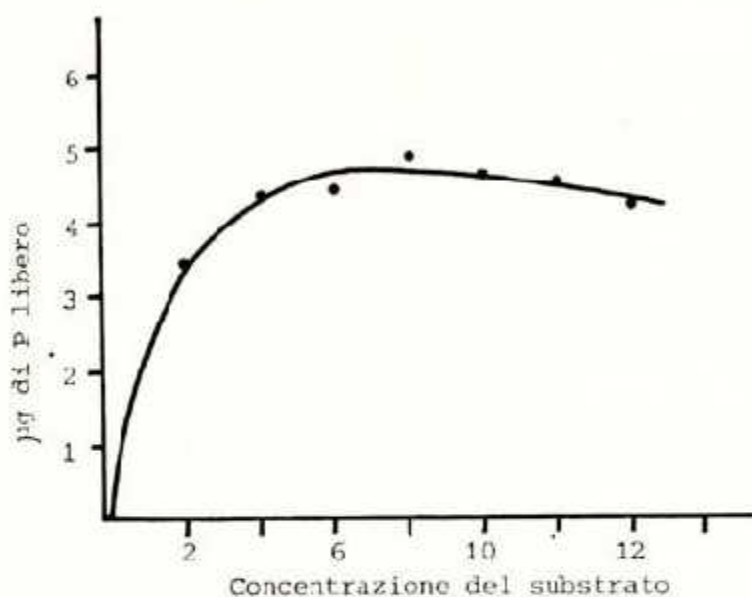


Fig. 2 - Curva della quantità di fosforo inorganico liberato da varie concentrazioni di lipovitellina ad opera dell'enzima PPPasi, dopo 30 minuti a 37 °C.



Fig. 4. Staking fluorescento di frammenti di un fusto di *Ipomoea* (corteo trasversale) con il 10% NaOH, con il 10% NaOH, la fluorescenza è tipica per la lignificazione delle cellule del fusto della pianta.



Fig. 5. Staking fluorescento di un fusto di *Ipomoea* (corteo trasversale) con il 10% NaOH, con il 10% NaOH, la fluorescenza è tipica per la lignificazione delle cellule del fusto della pianta.

rispondenza dei vasi più grossi; ciò lascerebbe supporre che a livello dei vasi vitellini il maggior responsabile della solubilizzazione delle placchette dovrebbe essere lo ione calcio presente nel sangue stesso.

Degno di nota ci è parso il fatto che si è osservata una notevole fluorescenza anche a livello delle cellule mucipare della cute e del muco stesso (fig. 5). Tale fluorescenza non è dovuta alla presenza della PPPasi, ma alla presenza nel muco di una proteina (probabilmente un enzima proteolitico) parzialmente simile alla PPPasi. Infatti l'estratto idrosolubile del muco fatto reagire in immunodiffusione assieme alla PPPasi ha presentato una banda di precipitazione che non si fonde con quella della PPPasi, ma dà un netto sperone, il che sta a indicare una parziale identità immunologica tra le due proteine esaminate. Inoltre se il siero anti-PPPasi fluorescinato viene fatto precedentemente reagire con estratto idrosolubile di muco, la fluorescenza a livello del muco e delle cellule mucipare dell'epidermide scompare, mentre permane, seppure attenuata, la fluorescenza specifica a livello del tratto digerente.

Bibliografia

- AMIRANTE G. A. - 1972 - Immunochemical studies on Rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) lipovitellin. *Acta Embryol. Exp. suppl.*, 377-383.
- BARTH L. B. and BARTH L. J. - 1954 - The energetics of development: A study of metabolism in the frog egg. *Columbia University Press*.
- BURLEY R. W. and COOK W. H. - 1961 - Isolation and composition of avian egg yolk granules and their constituents α - and β -lipovitellins. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39, 1295-1307.
- FISKE C. H. and SUBBAROW Y. - 1925 - The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375-400.
- FLICKINGER R. A. - 1956 - The relation of phosphoprotein-phosphatase activity to yolk platelet utilization in the Amphibian embryo. *J. Exp. Zool.*, 131, 307-332.
- FLICKINGER R. A. and ROUNDS D. E. - 1956 - The maternal synthesis of egg yolk proteins as demonstrated by isotopic and serological means. *Biochim. Biophys. Acta*, 22, 38-42.
- GROSS P. R. - 1952 - An enzymatic study of yolk platelet lysis. *Biol. Bull.*, 103, 281.
- HEALD P. I. and McLACHLAND P. M. - 1965 - The synthesis of phosphitin in vitro by slices of liver from laying hen. *Biochem. J.*, 94, 32-39.
- MANO Y. - 1969 - Continuous splitting off of phosphate from phosphitins by Phosphoprotein-Phosphatase. *J. Biochem.*, 66, 109-111.
- PANIJEL J. - 1950 - L'organisation du vitellus dans les oeuf d'amphibiens. *Biochim. Biophys. Acta*, 5, 343-357.
- ROSENTEIN R. W. and TABORSKY G. - 1970 - Mechanism of oxidation dephosphorylation of the Phosphoprotein phosphitin. *Biochemistry*, 9, 649-657.
- SAINTE-MARIE G. - 1962 - A paraffin embedded technique for studies employing immunofluorescence. *J. Histochem.*, 10, 250-256.
- SUNDARARAJAN T. A. and SARMA P. S. - 1954 - Purification and properties of Phosphoprotein-Phosphatase from Ox spleen. *Biochem. J.*, 56, 125-130.

DIETA ESTIVA DI *SALVELINUS ALPINUS* (L)
(Osteichthyes, Salmonidae)
IN UN LAGO D'ALTA QUOTA DELLE ALPI OCCIDENTALI

SUMMER DIET OF SALVELINUS ALPINUS (L)
(Osteichthyes, Salmonidae)
IN A HIGH ALTITUDE LAKE OF WESTERN ALPS

Giovanni B. Delmastro (1), Gilberto Forneris (2), Carlo Sarra (3)

Key words: Summer diet and lipidie composition have been evaluated on stomach contents of *Salvelinus alpinus* from a high altitude lake of western Alps.

Riassunto: Vengono analizzati 78 contenuti stomacali di *Salvelinus alpinus* raccolti nel periodo luglio-settembre degli anni 1979-80 nel lago Savine, situato in territorio francese a 2.500 m s.l.m.

La dieta è risultata così costituita: Insetti 99,77%, Aracnidi e Lamelli-branchi 0,23%.

Sono inoltre riportate le percentuali dei diversi Ordini all'interno della Classe degli insetti.

Di alcuni esemplari catturati nel 1980 è stata valutata la percentuale di grasso e la composizione acidica di tale componente lipidica. Mentre la percentuale di grasso diminuisce progressivamente da luglio a settembre non si hanno variazioni significative riguardo la componente acidica.

Summary: 78 stomach contents of *Salvelinus Alpinus* were analyzed. All samples were collected between July and September in 1979-80 in

-
- (1) Museo Civico di Storia Naturale, 10022 Carmagnola (TO) Italia.
 - (2) Istituto di Scienze degli allevamenti e controllo dei prodotti di origine animale. Facoltà di Medicina Veterinaria, via Nizza 52 - 10126 Torino, Italia.
 - (3) Centro di studio per l'alimentazione degli animali in produzione zootecnica del CNR - Via Nizza, 52 - 10126 Torino, Italia.

lake Savine, 2.500 m. above sea level in French territory. The composition of the diet was estimated to be: Insecta 99,77%, Aracnids and Lamellibranchiata 0,23%.

Percentages of different orders in the class of Insecta are also reported. In few specimen, collected in 1980, were determined fat percentage and its acid composition.

Results show a progressive decrease in fat percentage and minor changes in its acid composition over July-september period.

Premessa

L'alimentazione dei Salmerini del Nord Europa fu oggetto di numerose pubblicazioni. Molto recentemente diverse popolazioni viventi nella sola Penisola Scandinava vennero ad esempio studiate sotto questo punto di vista da diversi AA: Aass (1970), Nilsson e Filipsson (1971), Nilsson e Pejler (1973), Henricson e Nyman (1976), Svardson (1976); quest'ultimo enumera a sua volta un buon numero di altri ricercatori che si occuparono in passato di questo aspetto della biologia del Salmerino.

Assai scarse e frammentarie sono invece le notizie riguardanti le abitudini alimentari dei *Salvelinus alpinus* localizzati nei biotopi acquatici della catena alpina.

Pensiamo quindi che possa essere di interesse rendere noti i primi risultati delle ricerche da noi eseguite intorno alla dieta estiva dei Salmerini di un laghetto delle Alpi occidentali.

Cenni sulle caratteristiche ambientali ed ecologiche del lago Savine

Il lago Savine è situato a 2.500 m s.l.m. nelle Alpi occidentali al limite tra le Alpi Cozie e le Graie Meridionali; posto in territorio francese (4.500 m circa a Ovest del valico del Moncenisio) è compreso nel Massiccio dell'Ambin e nel territorio comunale di Bramans.

Caratteristiche morfologiche ed ambientali: la forma di questo bacino naturale di origine glaciale è irregolarmente ellittica; la superficie è di 14 ha circa, la profondità massima di 10 metri, con una media, a 10 m dalla riva, di 4 m.

Esiste un piccolo immissario ed un emissario tributario dell'Isere a sua volta compreso nel bacino fluviale del Rodano. La riva destra

(orografica) è bassa e costituita da prato-pascolo, quella sinistra prevalentemente rocciosa.

I fondali sono costituiti essenzialmente da sedimenti fini (circa l'80%); il rimanente 20% è costituito da materiali più grossolani e roccia. La superficie del bacino rimane sgombra dai ghiacci per un lasso di tempo limitato, di regola da giugno sino al tardo ottobre.

La macro-vegetazione acquatica è costituita dal *Ranunculus aquatilis* L.; questo vegetale forma un anello erboso a 5 m circa dalla riva lungo tutto il perimetro del bacino.

La fauna ittica, totalmente alloctona, è attualmente costituita da due specie di Saimonidi (*Salmo trutta* e *Salvelinus alpinus*) e da un Ciprinide (*Phoxinus phoxinus*).

Le prime immissioni di *Salmo trutta* furono effettuate intorno al 1910 e procedettero in modo discontinuo sino a pochi anni orsono; intorno al 1930 venne immesso *Salvelinus alpinus* e solo recentemente (1975), con l'intento di «foraggiare» i due Salmonidi, il Ciprinide *Phoxinus phoxinus*.

Attualmente la popolazione di *Salmo trutta* è assai scarsa; discretamente numerosa è quella di *Phoxinus phoxinus*; *Salvelinus alpinus* si è acclimatato molto bene e viene attivamente pescato.

E' ignota la precisa località di provenienza delle due specie di salmonidi in questione, mentre la Sanguinerola proviene dal vicino lago della Ferrera situato nel comune di Moncenisio.

Attualmente il lago Savine è gestito da una associazione franco-italiana di pescatori.

Materiali e metodi

Salvelinus alpinus (L.) ha una distribuzione circumpolare e vive nelle acque sia marine che dolci dell'emisfero Nord; esso rappresenta in assoluto la specie d'acqua dolce con distribuzione più settentrionale (Lelek, 1980).

Del Salmerino è nota una forma migratrice ed una dulcacquicola: la prima è attualmente vivente alle latitudini più settentrionali (acque artiche), mentre la seconda, oltre a rinvenirsi in Europa Settentrionale, è la sola che si riscontra nelle acque del distretto alpino. La forma stanziale dulcacquicola è da intendersi come relitta del periodo immediatamente post-glaciale, quando la forma migratrice viveva e si riproduceva anche nei fiumi dell'Europa (Wheeler, 1978).

I 78 esemplari esaminati vennero pescati nell'arco di due anni

(79 e 80); per ogni giornata di pesca furono catturati 6 esemplari il cui contenuto stomacale è stato conservato in un contenitore correlato di numero di catalogo (vedi tabella I).

La lunghezza di tutti gli esemplari di *Salvelinus alpinus* studiati è compresa tra 23 e 28 cm.

I contenuti stomacali analizzati sono stati conservati e depositati nelle collezioni in liquido del Museo Civico di Storia Naturale di Carmagnola.

Parallelamente alle precedenti determinazioni si è valutata la componente lipidica e la relativa composizione acidica in quanto secondo la letteratura consultata rispecchia l'eventuale variazione della dieta.

Infatti non è tanto l'ambiente il fattore condizionante la variazione degli acidi grassi corporei del pesce, quanto la sequenza dei medesimi nel cibo ingerito. I tempi necessari affinché avvengano tali variazioni indotte da una differente dieta sono quantificabili in tempi lunghi (Kelly P. B. e coll., 1958); (Ackman R. G., 1967).

I lipidi totali della parte edibile di alcuni soggetti catturati nei mesi di luglio, agosto e settembre 1980 sono stati quindi estratti secondo il metodo Bligh-Dyer ed opportunamente trasformati in metil-esteri ed analizzati per mezzo della gascromatografia liquida (tab. III).

La principale considerazione che ci viene suggerita dai risultati ottenuti è che *Salvelinus alpinus* (L.), nel lago Savine e durante il pe-

Numero di catalogo	Numero esemplari	Data di cattura
c. st. 43	6	1-7-79
» 44	6	7-7-79
» 45	6	7-7-79
» 46	6	20-7-79
» 47	6	20-7-79
» 48	6	21-8-79
» 49	6	30-8-79
» 50	6	6-7-80
» 51	6	10-7-80
» 52	6	13-7-80
» 53	6	20-7-80
» 54	6	27-7-80
» 55	6	7-9-80

Tabella I

Data catture								
Acidi	2-7	6-7	13-7	20-7	27-7	15-8	30-8	7-9
12 : 0	0.16	0.12	0.13	0.13	0.15	0.14	0.24	0.17
13 : 0	0.19	0.19	0.16	0.15	0.18	0.19	0.24	0.17
14 : iso	0.09	—	—	0.04	—	0.05	0.05	0.03
14 : 0	2.15	2.02	1.93	2.23	2.00	1.90	2.33	2.34
14 : 1 + 15 : R	0.95	0.95	0.78	0.95	1.14	1.00	0.79	1.01
15 : 0	0.38	0.38	0.30	0.37	0.35	0.44	0.38	0.40
16 : iso	0.15	0.13	0.10	0.14	0.14	0.15	0.13	0.11
16 : 0	14.79	14.31	16.90	13.93	13.97	15.32	17.08	14.86
16 : 1	16.51	21.95	16.48	19.05	20.05	19.63	13.43	17.92
17 : 0	0.71	0.70	0.53	0.69	0.75	0.92	0.63	0.67
17 : 1	1.41	1.60	1.03	1.47	1.53	1.63	1.26	1.50
18 : 0	4.12	3.60	3.85	3.67	3.76	4.20	3.98	3.66
18 : 1	27.20	25.67	20.36	27.62	26.65	22.18	23.23	28.11
18 : 2	8.46	7.68	6.40	8.52	7.80	8.61	7.90	8.00
18 : 3	0.07	0.25	—	0.12	0.11	—	0.08	0.12
20 : 1	2.13	2.21	1.72	2.36	2.68	2.22	2.51	2.58
18 : 4	1.53	1.78	1.15	1.95	1.88	1.40	1.28	2.27
20 : 2	0.53	0.47	0.37	0.75	0.64	0.56	0.47	0.75
20 : 3	0.36	0.21	0.29	0.34	0.22	0.20	0.39	0.19
22 : 1	1.59	1.15	1.80	1.33	1.33	1.58	1.96	1.37
20 : 4	0.23	0.31	0.30	0.27	0.42	0.55	0.24	0.35
20 : 5	8.37	7.86	10.40	7.09	6.93	8.86	9.92	7.32
22 : 4	0.18	0.18	0.20	0.22	0.21	0.23	0.22	0.20
24 : 1	0.12	0.10	0.60	0.18	0.27	0.29	1.18	0.18
22 : 5	2.45	1.90	2.76	1.89	2.00	1.98	2.72	1.90
22 : 6	5.14	4.26	10.59	4.46	4.78	5.74	7.33	3.85
Sat.	22.74	21.45	23.90	21.39	21.30	23.31	25.06	22.41
Ins.	77.26	78.55	76.10	78.65	78.70	76.69	74.94	77.59
Poly.	27.32	24.90	32.46	25.61	25.00	28.13	30.55	24.95
Grasso %	7,9%	7,16%	7,35%	6,82%	6,15%	5,47%	6,62%	6,45%

Tab. III - Modificazioni nella composizione chimica di *Salvelinus alpinus* in diversi periodi. Composizione acidica del grasso.

riodo estivo, è un osteitina marcatamente bentofago; la fauna bentonica rinvenuta negli stomaci rappresenta infatti oltre il 99% dell'intero numero di animali rinvenuti. E' oltremodo interessante constatare come nè plancton nè alcun altro osteitina sia stato rinvenuto negli stomaci esaminati.

Visti i costituenti della dieta estiva, si può cautamente ipotizzare che essa non vari marcatamente negli altri periodi dell'anno. Questa ipotesi può essere avvalorata dalla scarsa variabilità della componente acidica, strettamente legata alla «qualità» dei lipidi della dieta.

I Salmerini del biotopo acquatico che è stato preso in esame si riproducono già agli inizi di settembre: nell'unica pescata effettuata in questo mese (7-9-1980) sono stati infatti raccolti esemplari con prodotti sessuali maturi ed in alcuni casi la deposizione di tali prodotti era già avvenuta.

Negli stomaci dei 6 esemplari catturati in questo giorno, rispetto a tutti quelli pescati durante gli altri periodi dell'estate, si è notata una dieta quantitativamente molto scarsa: 103 animali rispetto ai 1320 rinvenuti, in media, in ognuno degli altri gruppi catturati più precocemente in estate.

Questa scarsità di contenuto non è probabilmente un fatto casuale: è infatti possibile che, durante la fregola, i Salmerini sospendano o riducano moltissimo la loro alimentazione.

Anche tale affermazione trova riscontro nel decremento della percentuale di grasso totale procedendo dal momento di deglaciazione del lago al periodo di ovodeposizione.

Risultati dell'analisi stomacale

Nella tabella II sono riportati, per ordine sistematico e per ogni gruppo di 6 esemplari studiati, i risultati dell'analisi.

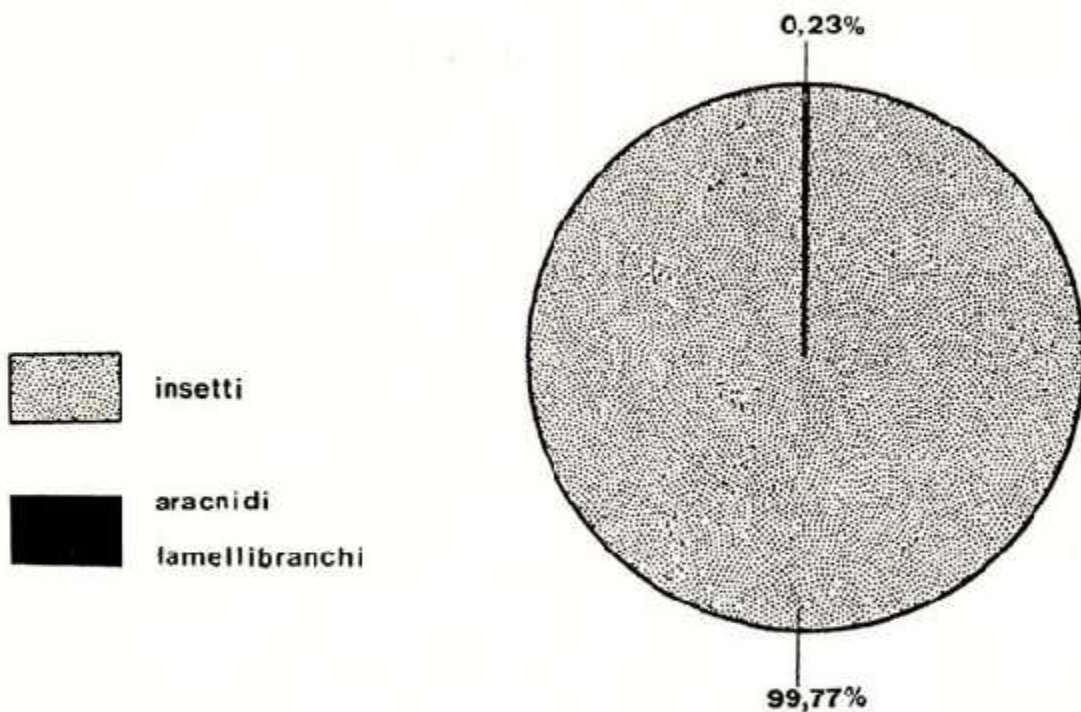
La dieta dei Salmerini presi in esame è risultata costituita complessivamente da 15943 animali, ripartiti nelle seguenti classi e percentuali: Bibalvi e Aracnidi 37 (0,23%); Insetti 15.906 (99,77%).

Tra gli insetti abbiamo i seguenti ordini con relative percentuali: Tricotteri 23 (0,15%); Imenotteri 11 (0,07%); Lepidotteri 7 (0,04%); Plecotteri 3 (0,02%); Emitteri 3 e Neurotteri 1 (0,02%); Ditteri 15.795 (99,30%); Coleotteri 63 (0,40%).

Ringraziamenti. - Siamo grati agli amici entomologi che hanno determinato parte del materiale entomologico rinvenuto negli stomaci

	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
BIVALVIA Sphaerioida								I	7	12	2		14
ARACHNIDA indet.											I		
Odontoceridae ?			19						4				
Symphyla indet.											I		
Apoidea indet.											I		
Ichneumonidae					2	I	I				3	I	
Formicidae												I	
Lepidoptera indet.								I					I
Lepidoptera st. l.								I	I				I
Rhopalocera						I							
Noctuidae?st. l.			I										
Noctuidae			I										
Plecoptera indet.							I						
Plecoptera st. l.				I						I			
Neuroptera													I
Psyllidae												I	
INSECTA Aphis sp.												2	
Diptera indet.												9	
Brachycera indet.								I					I
Brachycera st. l;													I
Chironomidae larvae	35	10			38			3700	4560	445	205	870	80
Chironomidae pupae	4315	402	879	841	603	1085	1200	40			17	400	2
Sirfidae						I	I						
Tipulidae							2						
Simuliidae							I						
Muscidae							I						
Coleoptera indet.					2				I				
Dytiscidae										I			
Staphylinidae												I	
Aphodius sp.	22	I		I		7	2			I	7	5	6
Cymindis sp.	2				2								
Nebria sp.													I
Pterostichus sp.					I								

Tabella II



dei Salmerini: il Sig. P. L. Scaramozzino (Ist. Malattie delle Piante, Torino), il Sig. P. F. Cavazzuti (Museo Civ. Storia Nat., Carmagnola), il Dr. A. Casale (Museo Reg. Scienze Nat., Torino).

Ricordiamo pure la Prof. V. Dal Vesco (Orto Botanico, Torino) che ha gentilmente determinato la pianta acquatica.

Bibliografia

- AASS P. - 1970 - The winter migration of Char, *Salvelinus alpinus* L. in the hydroelectric reservoirs Tunhovdfjord and Palsbufjord, Norway. *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm*, 50: 5, 44.
- ACKMAN R. G. - 1967 - Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some fresh-water fish oils and lipids in comparison with marine oils and lipids. *Comp. Biochem. Physiol.* 22, 907.
- HENRICSON J., NYMAN L. - 1976 - The ecological and genetical segregation of two sympatric species of Dwarfed Char (*Salvelinus alpinus* (L.) Species complex). *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm*, 55: 15-37.
- KELLY P. B. e Coll. - 1958 - The effect of diet on the fatty-acid composition of several species of fresh Water Fish. *J. Amer. oil chem. soc.* 55, 505.
- LELEK A. - 1980 - Threatened Freshwater Fishes of Europe. Council of Europe; Nature and Environmental Series n. 18, Strasbourg, pp. 269.
- NILSSON N.-A., FILIPSSON O. - 1971 - Characteristics of two discrete populations of Arctic Char (*Salvelinus alpinus* L.) in a North Swedish lake. *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm*, 51: 90, 108.
- NILSSON N.-A., PEJLER B. - 1973 - On the relation between fish fauna and zooplankton composition in North Swedish lakes. *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm*, 53: 51-77.
- SVÄRDSSON G. - 1976 - Interspecific population dominance in fish communities of Scandinavia lakes. *Ibid.* 55: 144-171.
- WHEELER A. - 1978 - Key to the Fishes of Northern Europe. *Frederick Warne e Co. Ltd.*, London, pp. 380.

NORME PER GLI AUTORI

I lavori o le note devono essere redatti in forma concisa e il numero delle tabelle e delle figure limitato allo stretto necessario. I lavori potranno essere di un massimo di 25 cartelle dattiloscritte compresi i riassunti e la bibliografia; le note brevi di non più di 5 cartelle. I lavori e le note dovranno essere corredati da un riassunto in italiano e da un summary in inglese con la relativa traduzione del titolo in inglese nel caso il lavoro non fosse scritto in quest'ultima lingua.

I lavori dovranno essere dattiloscritti a doppio spazio su una sola facciata del foglio in modo da contenere circa 40 righe di 60 battute. Per facilitare una rapida revisione devono essere inviati in due copie.

Le illustrazioni devono essere contrassegnate sul retro con un numero progressivo. L'Autore potrà dare alla Redazione suggerimenti ed uno schema per la composizione delle figure. Dei disegni dovranno essere inviati l'originale ed una riproduzione, delle fotografie due copie. Disegni e foto dovranno contenere istruzioni sul rapporto di riduzione. Le tabelle con le spiegazioni relative e le didascalie (con traduzione in inglese) delle figure devono essere inviate su fogli a parte.

Il testo, salvo casi particolari, dovrà essere generalmente così articolato:

- a) Titolo del lavoro in italiano
- b) Titolo del lavoro in inglese
- c) Nome dell'Autore o degli Autori
- d) Ente di appartenenza degli Autori e indirizzo
- e) Parole chiave
- f) Abstract di non più di tre righe (in inglese)
- g) Riassunto
- h) Summary
- i) Introduzione
- l) Materiali e Metodi
- m) Discussione
- n) Conclusioni
- o) Bibliografia.

Le citazioni bibliografiche nel testo devono essere indicate in maiuscoletto (quindi nel dattiloscritto saranno sottolineate due volte). La bibliografia dovrà essere in ordine alfabetico e dovrà comprendere il nome degli Autori, la data di pubblicazione, il titolo completo del lavoro, il titolo abbreviato del periodico sottolineato (le abbreviazioni devono essere fatte secondo le norme di «Bibliographic Guide for Editors and Authors» dei Chemical Abstracts o di «World List of Scientific Periodicals» 4 th Ed., London 1964-65 o infine di «Serial Sources for the Biosis Data Base» della Bio Sciences Information Service), il numero del volume, il numero del fascicolo (tra parentesi) ed infine i numeri della prima e dell'ultima pagina.

Es.: SPECCHI, M. e OREL, G. - 1968 - I popolamenti dei fondi e delle rive del valone di Muggia presso Trieste. Bol. Soc. Adriatica Scienze, Trieste, 56 (1), 157-161.

Gli Autori riceveranno 25 estratti gratuiti. Altri estratti potranno essere forniti a pagamento.

