

Commissione internazionale
per la protezione delle acque italo-svizzere



PROGRAMMA 2019-2021

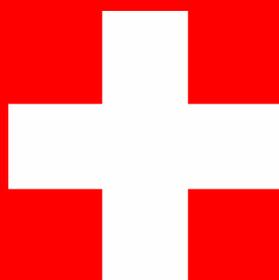
RAPPORTO ANNUALE 2019

**SPECIE ALIENE: IMPATTI E SFRUTTAMENTO COME BIONDICATORI PER IL
MONITORAGGIO DI PARASSITOSI E MICROPLASTICHE**

a cura di

Nicoletta Riccardi

Verbania, 2020



Sommario

Premessa.....	3
Summary.....	3
Andamento dei popolamenti nativi ed invasivi.....	4
Analisi delle parassitosi nelle specie native ed invasive	5
Caratterizzazione dell'accumulo di microplastiche in bivalvi.....	5
Bibliografia	6

Premessa

Il monitoraggio dei molluschi bivalvi del Lago Maggiore, iniziato nel 2010, è proseguito nel 2019 sia per seguire l'evoluzione delle popolazioni native e gli impatti delle specie invasive, che per approfondire due importanti problemi emergenti: l'incremento delle parassitosi e l'inquinamento da microplastiche.

Nel 2019 sono stati raccolti i campioni di *Dreissena polymorpha*, *Unio elongatulus* e *Corbicula fluminea* che verranno sfruttati sia nell'ambito del progetto "Contaminanti nei molluschi bivalvi" (Sezione 2 - indagini sulle sostanze pericolose nell'ecosistema del Lago Maggiore) sia nel presente progetto. Le metodologie di raccolta adottate sono quelle di riferimento per i molluschi bivalvi (Strayer & Smith, 2003). Gli individui raccolti sono stati mantenuti in freezer a -20°C per ridurre l'attività batterica ed enzimatica fino al momento delle analisi, sia per la presenza di parassitosi, che per l'accumulo di microplastiche.

Summary

The project ALIEN SPECIES: IMPACTS AND EXPLOITATION AS BIODINDICATORS FOR THE MONITORING OF PARASITOSIS AND MICROPLASTICS started in 2019 with a twofold purpose: to continue the monitoring of the native and alien populations of bivalves of Lake Maggiore started in 2010; use bivalves to explore two emerging problems, parasitosis and microplastics. Bivalves have been selected as accumulator organisms to microplastic abundance and distribution in Lake Maggiore because of their well-known advantages as traditional biological indicators and mounting evidence of microplastics uptake and assimilation (see review by Li et al. 2019).

To optimize the available resources and improve the comparability of the results of pollutants biomonitoring along Lake Maggiore perimeter, the sampling of bivalves for the analyses of dangerous substances (section 2) and of microplastics and parasites (section 3) were performed simultaneously in the same stations chosen as representative of the different coastal areas. In 2019 both the decline of native species taking place after 2010, and the decreasing trend of *Dreissena polymorpha* are confirmed. Both evidences coincide with the introduction and expansion of *Corbicula fluminea*, suggesting a possible competition. The analysis of the presence, prevalence and intensity of parasitosis, still ongoing on the 2019 samples, indicates that *Corbicula fluminea* benefits from the total absence of parasites.

The native species *Unio elongatulus* is heavily parasitized by water mites and trematodes, which undermine both its physiological conditions and its reproductive capacities. Present data will be compared with past parasitic loads to evaluate the influence of climate change on parasites diversity, prevalence and intensity.

The analyses of microplastic accumulation are still in progress: due to the lockdown caused by the pandemic COVID 19, it was not possible to complete the analysis of the samples already prepared according to the currently most accredited protocols. As the analysis of microplastics still presents methodological uncertainties, a preliminary experiment was also performed to verify microplastic uptake and identify the target organs for microplastic accumulation. Although preliminary, data from laboratory exposure confirm that mussels are good model organisms for the assessment of microplastic presence and revealed that accumulation occurs mainly in visceral sac.

Andamento dei popolamenti nativi ed invasivi

I dati di densità media delle specie native ed invasive rilevati nel 2019 confermano sia il forte declino delle specie native in atto dopo il 2010, che la tendenza alla riduzione di *Dreissena polymorpha* (Fig. 1). Entrambe le evidenze coincidono con l'introduzione ed espansione di *Corbicula fluminea*, suggerendo un possibile effetto di interazione competitiva. Studi precedenti avevano evidenziato una sovrapposizione della nicchia trofica di *Corbicula fluminea* con quella delle specie native, *Unio elongatulus* e *Anodonta* spp., e di *Dreissena polymorpha* (Fig. 2). L'analisi comparativa della presenza, prevalenza ed intensità di parassitosi, ancora in corso sui campioni del 2019, indica che *Corbicula fluminea* trae vantaggio dall'assenza totale di parassiti (Taskinen et al., 2020). La specie nativa *Unio elongatulus* risulta fortemente compromessa dalla infestazione da idracarini e da trematodi che ne minano sia le condizioni fisiologiche che le capacità riproduttive. I risultati verranno prodotti nel rapporto finale in forma di confronto spazio temporale tra la situazione attuale (in corso di studio) e la situazione pregressa allo scopo di identificare il possibile ruolo delle parassitosi nel determinare il declino delle specie native e l'andamento delle specie invasive.

La recente segnalazione dell'espansione di *Dreissena bugensis* nelle acque svizzere suggerisce il sospetto che siano già presenti nuclei di questa specie nel Lago Maggiore. Sulla base di un precedente sospetto, nel 2018 e nel 2019 sono state effettuate analisi di e-DNA a Magadino, nel Fiume Tresa (a valle della briglia di Ponte Tresa e alla foce a Luino), a Feriolo, a Sesto Calende e nel Ticino emissario (a valle della diga della Miorina). I dati sono risultati negativi per *D. bugensis* in tutte le stazioni (Egeter et al., in prep.), ma sarebbe opportuno ripetere l'analisi in più stazioni lungo il perimetro del lago. Poiché *D. bugensis* tende a collocarsi a profondità molto più elevate della congenerica *D. polymorpha*, non è da escludere che l'analisi di e-DNA nelle acque superficiali non sia in grado di rilevare la presenza di nuclei iniziali di colonizzazione se composti da pochi individui e a profondità maggiori di 40 m, come riportato per il lago di Costanza (Cozza quagga nel lago di Costanza • Scheda informativa della IGKB • Maggio 2019). Poiché il rilevamento delle specie invasive nelle prime fasi di invasione è notoriamente difficoltoso e spesso fornisce falsi negativi, si sta valutando se procedere con un campionamento "guidato" in profondità mediante l'utilizzo di un drone subacqueo in fase di sviluppo (Professione Droni S.r.l.).

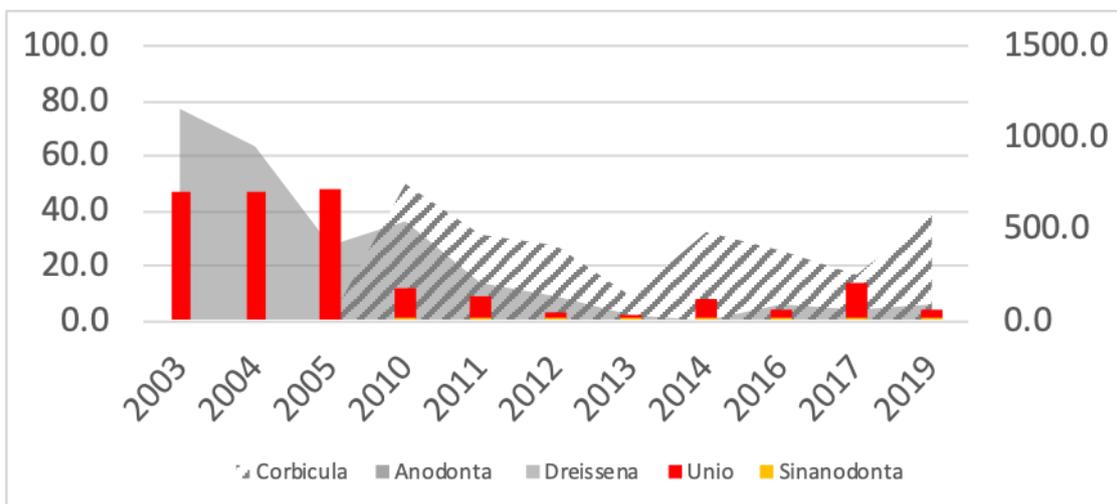


Fig. 1: Andamento dei valori medi di densità dei popolamenti di bivalvi nativi ed invasivi nel Lago Maggiore.

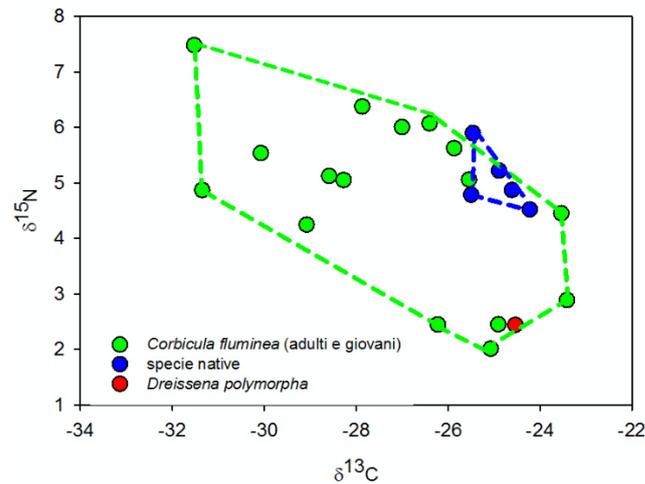


Fig. 2: Nicchia trofica di *Corbicula fluminea* in confronto alle specie native (*Unio elongatulus*, *Anodonta* spp) e a *Dreissena polymorpha* (Riccardi, unpublished).

Analisi delle parassitosi nelle specie native ed invasive

Le analisi dei campioni del 2019 sono state sospese a causa dell'emergenza COVID 19 e verranno completate non appena saranno riprese le attività di laboratorio.

Caratterizzazione dell'accumulo di microplastiche in bivalvi

I campioni di *Unio* e *Dreissena* raccolti nel 2019 sono stati lavati, sgusciati e lavati accuratamente con acqua Milli Q, per rimuovere eventuali frammenti adesi alla superficie corporea. Successivamente, sono stati pesati e raggruppati in pool come indicato nella tabella sottostante.

Stazione	Specie	esemplari per pool	peso fresco g
Monvalle	<i>D. polymorpha</i>	29	5,6
Monvalle	<i>U. elongatulus</i>	3	21,4
Cannobio	<i>D. polymorpha</i>	30	8,1
Cannobio	<i>U. elongatulus</i>	4	35,6
Arolo	<i>D. polymorpha</i>	29	8,1
Arolo	<i>U. elongatulus</i>	3	17,3
Ranco	<i>U. elongatulus</i>	10	61,6
Feriollo	<i>U. elongatulus</i>	5	43,4
Cerro	<i>U. elongatulus</i>	20	126
Luino	<i>D. polymorpha</i>	30	6,1
Luino	<i>U. elongatulus</i>	3	15,7

Ciascun pool è stato omogenizzato mediante potter, utilizzando una soluzione ipersalina di cloruro di sodio (NaCl 1,2 g/cm³), precedentemente filtrata su filtri in fibra di vetro con porosità di 1,2 µm (Whatman GF/C 47 mm) per eliminare eventuali impurità. Questa soluzione permette di separare le microplastiche (MP) dalla sostanza organica presente nel mezzo, grazie al gradiente di densità.

I campioni sono stati ulteriormente miscelati e lasciati decantare overnight a 4°C. Successivamente il surnatante è stato filtrato su filtri in nitrato di cellulosa con porosità di 8 µm (Sartorius 50 mm) utilizzando una pompa da vuoto a membrana. I filtri ottenuti sono stati lavati con acqua Milli Q per rimuovere ogni traccia di sale. In seguito, la sostanza organica è stata degradata attraverso perossido di idrogeno (H₂O₂) al 15%, per 3 giorni a temperatura ambiente, mantenendo i filtri sotto cappa a flusso laminare per evitare un'eventuale contaminazione atmosferica da microfibre (Avio et al., 2015). In seguito alla digestione della materia organica, il filtrato è stato esaminato mediante uno stereo microscopio in modo da identificare e localizzare le particelle e le fibre potenzialmente composte da plastica. Tutte le particelle e le fibre verranno caratterizzate attraverso FT-IR µATR per confermare la loro origine plastica, discriminandole dai frammenti di origine naturale e per identificare le tipologie di polimero. Purtroppo non è stato possibile svolgere questa caratterizzazione finale a causa dell'emergenza Covid-19.

Per prevenire la contaminazione da MP atmosferiche, i campioni sono stati protetti con coperchi di vetro il maggior tempo possibile e sono sempre stati indossati camici in cotone e guanti. Le superfici di lavoro e le strumentazioni sono state lavate con acqua Milli Q e alcool, prima di ogni loro utilizzo. Inoltre, tutte le soluzioni sono state filtrate due volte con filtri in fibra di vetro di porosità 1,2 µm (Whatman GF/C 47 mm) per eliminare qualsiasi impurità. Infine, alcuni filtri puliti, utilizzati come bianchi, sono rimasti esposti all'aria atmosferica lo stesso tempo dei campioni.

Bibliografia

- Avio C.G., Gorbi S., Milan M., Benedetti M., Fattorini D., D'Errico G., Pauletto M., Bargelloni L., Regoli F. 2015. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Pollution*, 198: 211-222.
- Egeter B., Veríssimo J., Lopes-Lima M., Chaves C., Pinto J., Riccardi N., Beja P., Fonseca N.A. In prep. Speeding up the detection of invasive aquatic species using environmental DNA and nanopore sequencing.
- Li J, et al. 2019. Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Env. Poll.* 244, 522-533.