

Commissione internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere



PROGRAMMA TRIENNALE 2022-2024

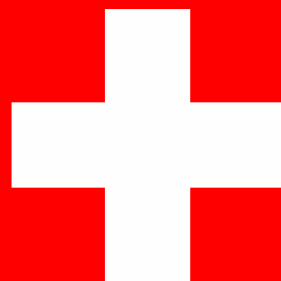
CAMPAGNA 2022

**RICERCHE SULL'EVOLUZIONE DEL LAGO MAGGIORE
AMBIENTI LITORALI E TEMI EMERGENTI**

a cura di

Diego Fontaneto

Verbania, 2023



ISSN: 1013-8099

Commissione Internazionale
per la protezione delle acque italo-svizzere

Sezione Ambienti Litorali e Temi emergenti

Programma triennale 2022–2024
Campagna 2022

Ente
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)
Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA)
Sede di Verbania

I dati riportati nel presente volume possono essere utilizzati purché se ne citi la fonte come segue:

CNR IRSA. Sede di Verbania. 2023. Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Ambienti Litorali e Temi emergenti. Programma triennale 2022-2024. Campagna 2022. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzeri (Ed.): 38 pp.

SOMMARIO

INTRODUZIONE.....	4
Sintesi.....	5
Summary	6
Inquadramento geografico e stazioni di campionamento.....	7
1. CAPITOLO 1: PRESENZA E DISTRIBUZIONE DELLE PLASTICHE E LORO TRASFERIMENTO NELLA CATENA TROFICA DEL LAGO MAGGIORE	9
1.1 Monitoraggio mensile delle matrici ambientali e del biota.....	9
1.2 Caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche superficiali.....	10
1.3 Caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche presenti nella colonna d'acqua e negli stomaci di coregone.....	15
2. CAPITOLO 2: PROGETTO PILOTA PER IL MONITORAGGIO DI FAUNA MACROINVERTEBRATA E FAUNA INTERSTIZIALE BENTONICA ANCHE INVASIVA NEL LAGO MAGGIORE TRAMITE APPROCCI MORFO-MOLECOLARI	17
2.1 Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva.....	17
2.2 Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica.....	21
2.3 Sviluppo metodica di eDNA per <i>early detection</i> di specie aliene invasive	23
CONCLUSIONI.....	27
ALLEGATI.....	28
Metodi di campionamento e di analisi	28
ELENCO DEGLI AUTORI E COLLABORATORI.....	37

INTRODUZIONE

Il presente rapporto illustra i risultati emersi dalle ricerche sul Lago Maggiore realizzate dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-IRSA) nel corso del 2022 per conto della Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere (CIPAIS). Il 2022 costituisce il primo anno del nuovo programma di ricerche (2022-2024). Questo triennio presenta argomenti simili rispetto a quelli dei programmi degli anni precedenti, in aggiunta a nuovi argomenti e approfondimenti.

Le ricerche si propongono di portare avanti attività che, grazie al finanziamento da parte della CIPAIS, consentano di individuare elementi innovativi nella conoscenza degli ambienti litorali del Lago Maggiore e nell'individuazione di temi emergenti, considerando approcci multidisciplinari ed integrati.

I risultati di seguito riportati afferiscono alle seguenti linee di ricerca:

- presenza e distribuzione delle plastiche e loro trasferimento nella catena trofica;
- progetto pilota per il monitoraggio di fauna macroinvertebrata e fauna interstiziale bentonica anche invasiva tramite approcci morfo-molecolari;

Sintesi

Vengono presentati i risultati raccolti nel 2022 nell'ambito delle ricerche sul Lago Maggiore relative ad ambienti litorali e temi emergenti. Le ricerche sono state realizzate dall'Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA) del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) sede di Verbania su mandato della CIP AIS. Le ricerche portate avanti nel 2022 si sono focalizzate su tre temi principali: l'effetto delle microplastiche nella rete trofica del lago, lo studio degli organismi delle zone litorali e la ricognizione della qualità delle zone litorali del Lago Maggiore.

Lo studio delle microplastiche si è focalizzato sul monitoraggio della presenza e delle caratteristiche delle plastiche galleggianti sulla superficie lacustre per fornire indicazioni sul livello di inquinamento generale, sulle principali fonti di contaminazione insistenti sul bacino imbrifero e sulla presenza di eventuali influenze stagionali. Il monitoraggio della quantità e delle caratteristiche delle plastiche flottanti nella colonna d'acqua e di quelle ingerite dai coregoni hanno permesso di determinare il livello di esposizione degli organismi acquatici e di individuare i meccanismi che ne influenzano l'ingresso nella catena alimentare.

Il progetto di monitoraggio della fauna bentonica ed interstiziale litorale ha permesso di mappare alcune specie invasive come tre specie di gamberi e una di briozoo, seguendone l'espansione. In aggiunta, è stato predisposto il piano d'azione per l'utilizzo di DNA ambientale per il monitoraggio delle specie invasive. Il progetto si è anche focalizzato sulla fauna interstiziale, raccogliendo i campioni ed iniziando la determinazione delle specie trovate.

Summary

This report illustrates the results that emerged from the research on Lake Maggiore carried out by the Water Research Institute of the National Research Council (CNR-IRSA) during 2022 on behalf of the International Commission for the Protection of Italian-Swiss Waters (CIPAIS). This activity constitutes the first year of a 3-years research program (2022-2024).

The research aims to carry out activities which, thanks to funding from CIPAIS, allow for the identification of innovative elements in the knowledge of the coastal environments of Lake Maggiore and in the identification of emerging themes, considering multidisciplinary and integrated approaches.

The results refer to three main lines of research:

- occurrence and distribution of microplastics in the trophic food web of the lake;
- monitoring project focused on macroinvertebrates, interstitial benthic microfauna, and invasive species, using both morphological and molecular approaches;
- monitoring of the quality of coastal areas.

The study of microplastics monitored the presence and characteristics of floating plastics on the surface to provide information on the level of general pollution, on the main sources of pollution affecting the catchment area and on the presence of any seasonal influences. Monitoring the quantity and characteristics of floating plastics in the water column and those ingested by whitefish made it possible to determine the level of exposure of aquatic organisms and to identify the mechanisms that influence their entry into the food chain.

The monitoring project of benthic coastal macroinvertebrates and interstitial fauna made it possible to map some invasive species such as three species of crayfish and one of bryozoan, following their expansion. In addition, the action plan has been developed to allow the use of environmental DNA to monitor invasive species. The project also focused on interstitial fauna, collecting samples and starting the determination of the species that were found.

Inquadramento geografico e stazioni di campionamento

SUDDIVISIONI AMMINISTRATIVE DEL BACINO IMBRIFERO

Province (I): Novara, Verbano Cusio Ossola (Piemonte); Varese, Como (Lombardia)

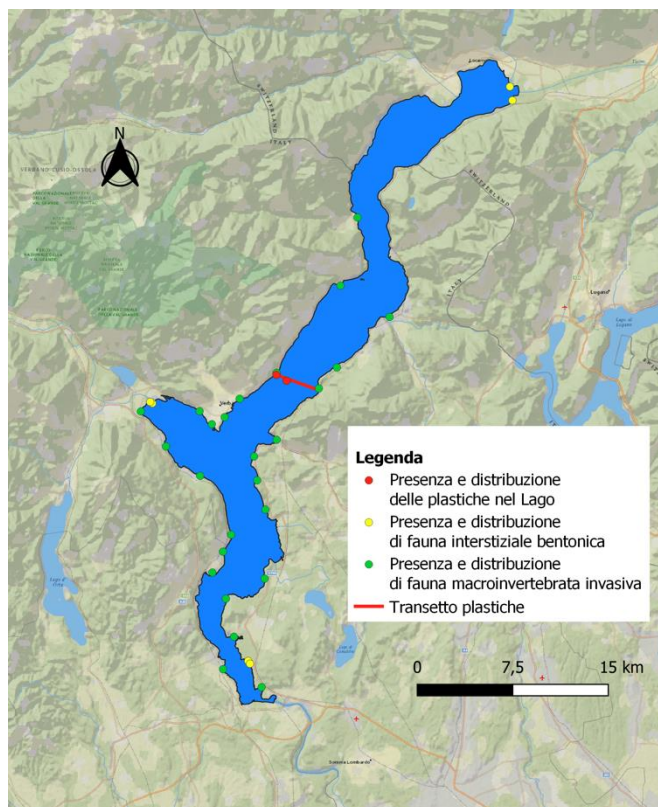
Cantoni (CH): Grigioni, Ticino e Vallese.

CARATTERISTICHE MORFOMETRICHE DELLA CONCA LACUSTRE

Quota media del lago	194 m s.l.m.	Prof. criptodepressione	176 m
Lunghezza del thalweg	66 km	Volume	37,502 km ³
Larghezza massima	10 km	Profondità media	176,5 m
Area1	212,5 km ²	Sviluppo del volume	1,44
Larghezza media	3,9 km	Perimetro	170 km
Profondità massima	370 m	Indice di sinuosità	3,07
Tempo teorico di rinnovo delle acque	~ 4 anni		

CARATTERISTICHE MORFOMETRICHE DEL BACINO IMBRIFERO

Altitudine massima	4.633 m s.l.m.	Larghezza media (dal lago)	37,6 km
Altitudine media	1.270 m s.l.m.	Indice di compattezza	1,58
Area (lago incluso) ²	6.599 km ²	Rapporto fra aree del bacino imbrifero e del lago	31,1



COORDINATE GEOGRAFICHE UTM WGS84 32T

Finalità campionamento	Latitudine	Longitudine
Presenza e distribuzione delle plastiche nel Lago	471236.9228	5088759.74
Presenza e distribuzione delle plastiche nel Lago (transetto)	470427.518	5089220.34
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	476803.16	5101576.53
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	475466.31	5096227.35
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	473254.21	5204207.34
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	470448.49	5089375.05
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	467549.61	5087339.64
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	466372.74	5085892.63
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	465366.34	5085345.98
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	464406.00	5086366.97
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	459791.12	5086348.59
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	461765.21	5083602.78
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	464444.27	5081285.75
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	466881.72	5076669.06
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	466239.24	5075332.57
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	465407.45	5073698.33
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	466245.09	5066109.64
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	469277.16	5064689.57
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	467102.56	5068660.46
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	466470.97	5071643.70
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	469513.53	5073220.16
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	469580.53	5078641.82
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	468927.52	5080930.53
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	468685.62	5082812.80
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	470452.84	5084121.84
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	473768.53	5088150.09
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	475185.79	5089796.41
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	479315.99	5093764.41
Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva	479019.36	4988013.86
Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica	468218.23	5066754.99
Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica	468358.81	5066531.73
Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica	488962.79	5110773.00
Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica	488764.44	5111849.02
Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica	460527.96	5087094.50
Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica	460693.70	5086983.89

1. CAPITOLO 1: PRESENZA E DISTRIBUZIONE DELLE PLASTICHE E LORO TRASFERIMENTO NELLA CATENA TROFICA DEL LAGO MAGGIORE

Andrea Binelli, Stefano Magni, Riccardo Sbarberi, Silvia Galafassi

La presente ricerca ha lo scopo di effettuare uno studio solido e particolareggiato sulla presenza delle plastiche (dimensioni $\geq 20 \mu\text{m}$) nelle acque del lago Maggiore e nel coregone (*Coregonus lavaretus*) mediante campionamenti mensili lungo tutto il corso dell'anno 2022. In particolare, lo studio si prefigge di monitorare la presenza e le caratteristiche delle plastiche galleggianti sulla superficie lacustre per fornire indicazioni sul livello di inquinamento generale, sulle principali fonti di contaminazione insistenti sul bacino imbrifero e sulla presenza di eventuali influenze stagionali. Il monitoraggio della quantità e delle caratteristiche delle plastiche flottanti nella colonna d'acqua e di quelle ingerite dai coregoni, invece, permetteranno di determinare il livello di esposizione degli organismi acquatici e di individuare i meccanismi che ne influenzano l'ingresso nella catena alimentare.

1.1 Monitoraggio mensile delle matrici ambientali e del biota

A partire da gennaio 2022 si è con successo portato avanti un monitoraggio mensile del Lago Maggiore con campionamento delle acque superficiali, della colonna d'acqua e di individui di coregone. Particolare attenzione è stata posta alle condizioni atmosferiche dei giorni precedenti il campionamento, per garantire una certa standardizzazione e la confrontabilità dei dati ottenuti, soprattutto per quelli riguardanti le plastiche galleggianti sulla superficie. Per questo si è deciso di campionare in condizioni di calma di vento e, preferibilmente in assenza di precipitazioni, come consigliato in letteratura (GESAMP, 2019). Le condizioni di calma di vento sono particolarmente importanti durante il campionamento, per evitare che il retino utilizzato, appositamente ideato per filtrare i primi 15-20 cm d'acqua, si trovi sommerso dal moto ondoso. Per evitare questo si è deciso di campionare al pomeriggio, periodo solitamente meno ventoso nella zona di Ghiffa, e si sono evitate le giornate di vento particolarmente intenso. Durante i mesi estivi è stato necessario spostare i campionamenti al mattino, in quanto il flusso di natanti sul lago il pomeriggio è diventato più intenso e rischiava di interferire con la lunga e relativamente lenta navigazione che veniva effettuata con la manta, ma non si è comunque mai campionato in giornate di forte vento e con onde pronunciate. Per quanto riguarda le piogge, non sempre si è riusciti a garantire il campionamento dopo 3 giorni di tempo asciutto, per la necessità di conciliare la disponibilità dell'imbarcazione, gli impegni inderogabili dell'equipaggio, e la volontà di distribuire uniformemente i campionamenti nel corso dell'anno. In Tabella 1.1.1 sono riportati i millimetri di pioggia caduti nelle 72 ore e nei 7 giorni precedenti ai campionamenti (misurati nella stazione meteorologica di Cannobio). Dettagli particolareggiati della piovosità, ottenuti integrando dati provenienti da stazioni meteo distribuite nel bacino imbrifero, verranno utilizzati per analizzare l'andamento delle concentrazioni delle plastiche isolate dai campioni e i risultati saranno oggetto dei prossimi report.

In corrispondenza dei campionamenti dell'acqua superficiale, nei mesi da marzo a dicembre sono stati raccolti anche campioni della colonna d'acqua da 0 a 50 metri di profondità presso la stazione di Ghiffa, per la valutazione quali-quantitativa della presenza di plastiche (3 repliche per ogni data di campionamento, per un totale di 30

campioni) ed un ulteriore campione per la conta e la caratterizzazione delle prede del coregone (lo zooplancton, per un totale di 10 campioni). Nei giorni immediatamente successivi (1-3 giorni) sono state commissionate pescate a pescatori professionisti per la campionatura di almeno 15 individui di coregone, su cui indagare l'ingestione di plastiche. La posa delle reti è stata effettuata nelle acque del comune di Ghiffa.

Tabella 1.1.1. Dati di piovosità (mm) in prossimità delle date di campionamento, rilevati nella stazione meteorologica di Cannobio (dati da Arpa Piemonte).

Campionamento	Pioggia nelle 72 h precedenti	Pioggia nei 7 gg precedenti
	(mm)	(mm)
25/01/2022	0	0
28/02/2022	0	0
24/03/2022	0	0
26/04/2022	57,6	87
27/05/2022	3,8	32,6
22/06/2022	24	24,2
19/07/2022	0	0
22/08/2022	0,2	91,4
26/09/2022	11,6	11,8
28/10/2022	0	163,8
28/11/2022	0	6,2
22/12/2022	0	12,2

1.2 Caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche superficiali

In tale paragrafo evidenzieremo le caratteristiche quali-quantitative delle plastiche campionate mediante il Manta-net da 100 µm lungo il transetto trasversale posto nella zona centrale del Verbano e le relative caratteristiche delle particelle polimeriche per i 12 mesi dell'anno 2022.

La figura 1.1.1 mostra l'andamento della contaminazione da particelle polimeriche rinvenute mensilmente nel transetto nel 2022. Come si può osservare, la presenza di plastiche superficiali è risultata molto eterogenea, in quanto il valore di densità più elevato è stato ottenuto nel mese di dicembre (57.692 plastiche/km²), seguito da novembre (55.000 plastiche/km²), gennaio (43.750 plastiche/km²) e febbraio (39.333 plastiche/km²), mentre il livello più basso è stato misurato nel mese di settembre, con una densità di 4.375 plastiche/km², che rappresenta solamente circa l'8% delle plastiche rilevate a novembre. Per cercare di comprendere questo andamento molto differente tra le diverse mensilità, sarà forse utile ottenere i dati legati alla piovosità sul bacino e, eventualmente, anche le portate dei principali immissari, in modo da tentare di ottenere una correlazione tra parametri ambientali e contaminazione da plastiche.

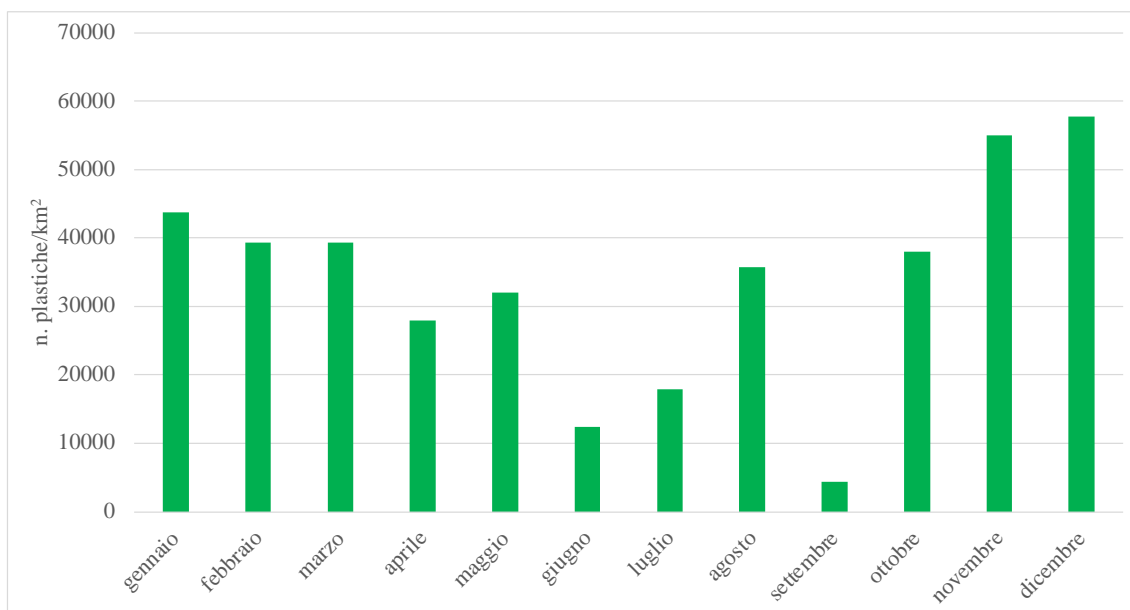


Figura 1.1.1 Andamento della densità di plastiche superficiali (numero plastiche/km²) misurate nel transetto trasversale nei 12 mesi di campionamento.

Un'ulteriore informazione sulla contaminazione da plastiche osservata mensilmente nel 2022 nel Verbano è data dalla figura 1.1.2 che rappresenta il numero di particelle polimeriche identificate espresse su m³. Tale figura evidenzia esattamente lo stesso pattern di contaminazione descritto precedentemente, confermando come nel 2022 è stato osservato un inquinamento in linea con le campagne di prelievo 2016 e 2018 eseguite da Legambiente (Sighicelli et al., 2018; Binelli et al., 2020), ma permette un confronto diretto con altri studi che esprimono la presenza di plastiche utilizzando tale unità di misura, che non tiene in considerazione la lunghezza del transetto campionato.

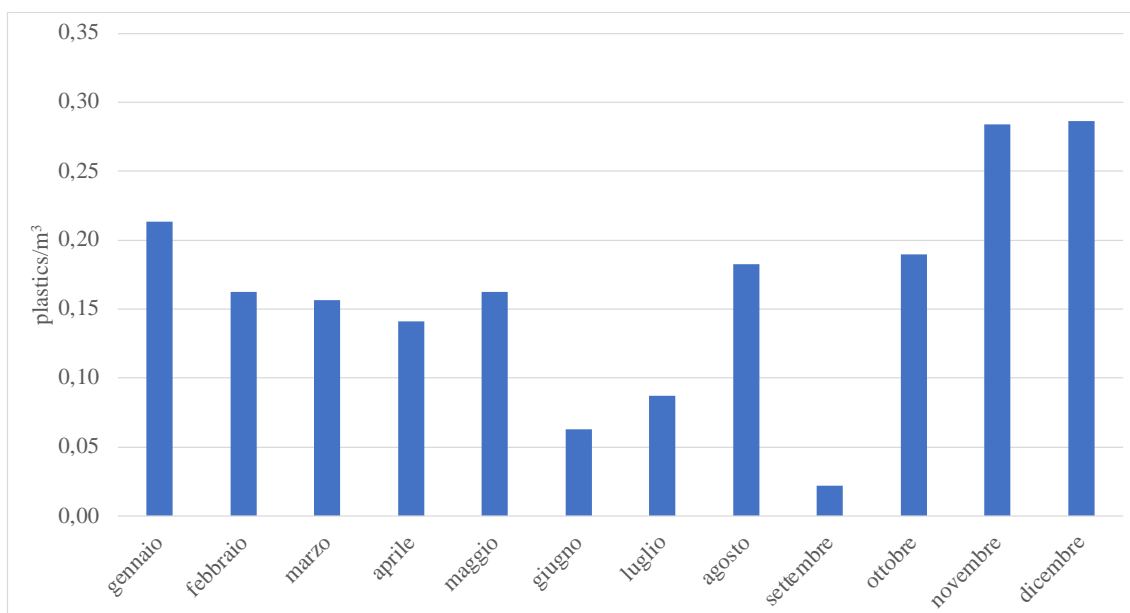


Figura 1.1.2 Andamento della densità di plastiche superficiali (numero plastiche/m³) misurate nel transetto trasversale nei 12 mesi di campionamento.

Considerando il fatto che, fino ad oggi, non esiste una classificazione ufficiale per quanto riguarda la dimensione delle plastiche, abbiamo deciso di seguire quella proposta da Hartmann et al. (2019) che definisce macroplastiche qualunque particella polimerica la cui dimensione maggiore sia superiore ai 10 mm, mesoplastiche quelle con dimensioni comprese tra 1-10 mm e microplastiche le particelle sintetiche con dimensioni comprese tra 1 mm e <1 mm. Tale classificazione ci sembra più corretta di quella “classica”, che definisce microplastica semplicemente qualunque particella con dimensioni inferiori ai 5 mm (Setälä et al., 2014) sia per il fatto che la prima proposta rispetta esattamente la classificazione dettata dal Sistema Internazionale di misura, sia per il fatto che in questo modo è possibile mettere in evidenza soprattutto una delle frazioni più fini della componente polimerica, vale a dire proprio le microplastiche, che sono la componente, insieme alle nanoplastiche, che dovrebbe entrare più facilmente negli organismi, rappresentando quindi la frazione più pericolosa dal punto di vista (eco)tossicologico. Stabilito ciò, la figura 1.1.3 evidenzia anche per questo parametro dimensionale una situazione molto eterogenea, in quanto le microplastiche risultano prevalenti nei tre mesi di febbraio, marzo e aprile, mentre piuttosto sorprendentemente le mesoplastiche sono la dimensione maggiormente rilevata in tutti gli altri. Tale particolare caratteristica dimensionale giustifica ancora di più la nostra scelta nel seguire la classificazione di Hartmann e collaboratori. Le macroplastiche sono state rilevate solo sporadicamente, come d’altra parte atteso.

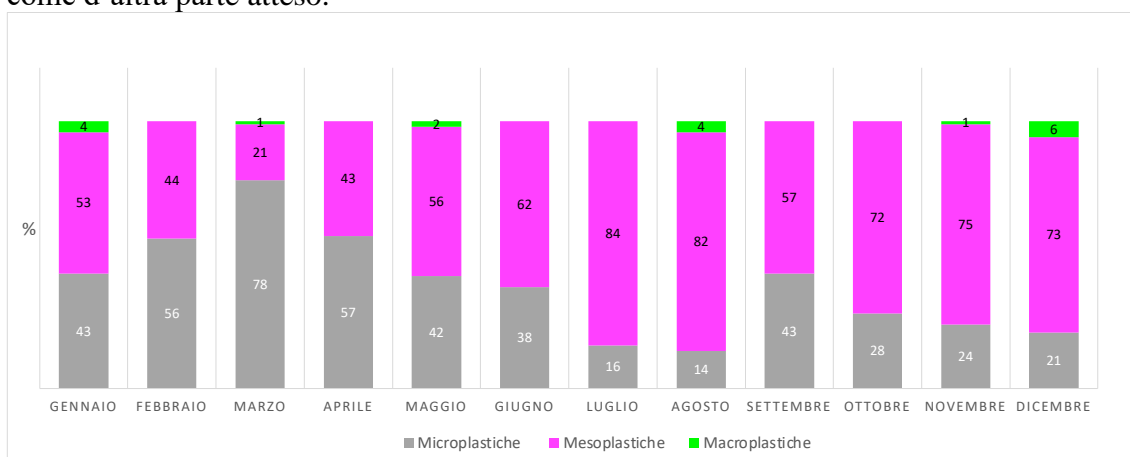


Figura 1.1.3 Classificazione dimensionale delle plastiche rilevate nei 12 mesi di campionamento.

La caratterizzazione delle diverse forme (fibre, frammenti, linee e pellets) indica chiaramente come non esista nel Verbano, almeno per il 2022, una contaminazione di tipo industriale, come testimoniato dal fatto che i pellets rappresentano non più del 2% delle diverse forme riscontrate, tra l’altro rilevati solamente in tre degli undici mesi (Fig. 1.1.4). I pellets sono sferette di varie dimensioni, generalmente sui 200-300 µm, che costituiscono proprio il prodotto-base per produrre oggetti in plastica, attraverso un processo di riscaldamento, scioglimento e successiva solidificazione in appositi stampi. Negli ambienti acquatici in cui sono presenti scarichi di attività industriali di questo tipo, infatti, è comune rilevare un inquinamento prevalentemente legato a pellets che possono finire nel corpo idrico recettore sia durante il trasporto che durante le successive lavorazioni. Nel caso del Verbano, invece, abbiamo rilevato quasi esclusivamente una contaminazione dovuta a fibre, provenienti in gran parte da lavaggi d’indumenti sintetici, e frammenti, prodotti invece dalla frammentazione di oggetti in plastica abbandonati in

ambiente. Anche in questo caso, non è possibile identificare un andamento comune nell'anno di campionamento, in quanto le fibre polimeriche sono quasi del tutto prevalenti nei mesi di ottobre e novembre, mentre rappresentano solamente il 19% a maggio e il 25% a marzo 2022.

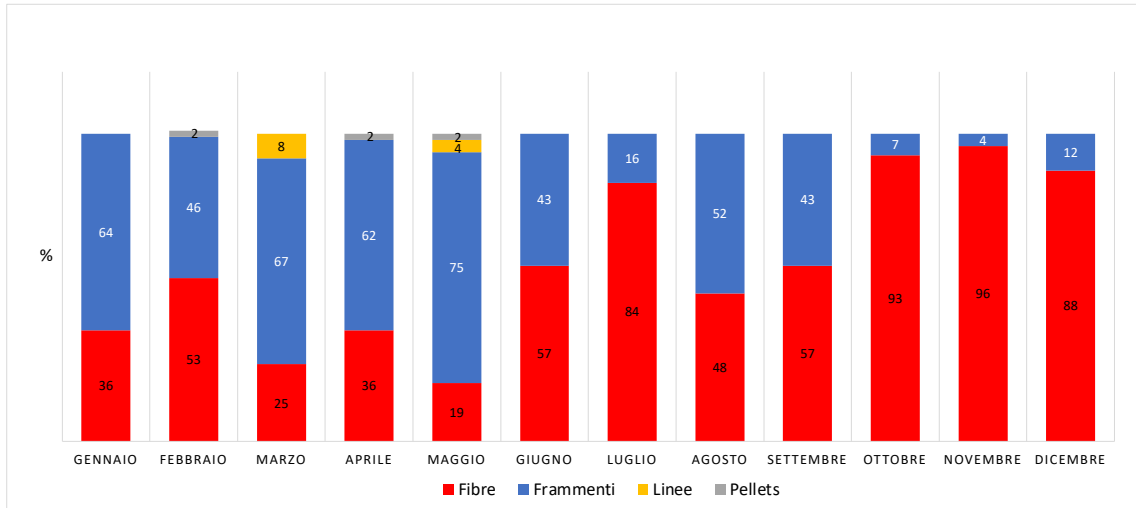


Figura 1.1.4 Percentuali delle diverse forme delle particelle polimeriche riconosciute nei 12 campionamenti.

Anche dal punto di vista della composizione polimerica delle diverse particelle plastiche esaminate, la situazione appare molto diversificata (Fig. 1.1.5). Infatti, i polimeri più frequentemente rilevati sono stati poliestere, polipropilene e polietilene, ma abbiamo rilevato anche polimeri piuttosto rari da ritrovare in ambiente acquatico, come ad esempio il kevlar, che ha rappresentato circa il 14% dell'intera composizione polimerica rilevata nel mese di settembre. Tale polimero è ormai ampiamente utilizzato nei dispositivi di protezione individuali (DPI), quali giubbotti e pantaloni, guanti da lavoro e scarpe antinfortunistiche, che ne rendono probabilmente semplice l'ingresso in ambiente attraverso l'utilizzo, l'usura o il semplice lavaggio di tali sistemi protettivi. Il poliestere, che raggiunge il massimo della sua presenza nei mesi di ottobre (84% rispetto al totale) e novembre (91% rispetto al totale), è stato il polimero maggiormente rilevato nelle fibre, a testimonianza del fatto che i lavaggi d'indumenti sintetici rappresentano una delle sorgenti principali di contaminazione da plastica negli ambienti acquatici (Napper e Thompson, 2016). Il polipropilene è stato rilevato con percentuali molto variabili, da circa l'1% a novembre fino al 65% a marzo, indicando una volta di più la complessità e la variabilità della contaminazione da polimeri sintetici nel Verbano. Tale polimero è presente in numerosi prodotti di largo consumo, come i tappi in plastica delle bottiglie, molti componenti delle autovetture e nei bicchierini del caffè usa e getta, la cui vendita è stata comunque recentemente vietata. Infine, il polietilene, costituente dei vecchi sacchetti in plastica, anch'essi vietati in Italia già dal 2012, degli involucri alimentari e dei fogli di "pluriball" per la protezione degli oggetti fragili, ha rappresentato dal 4% (ottobre e novembre) fino al 47% (gennaio).

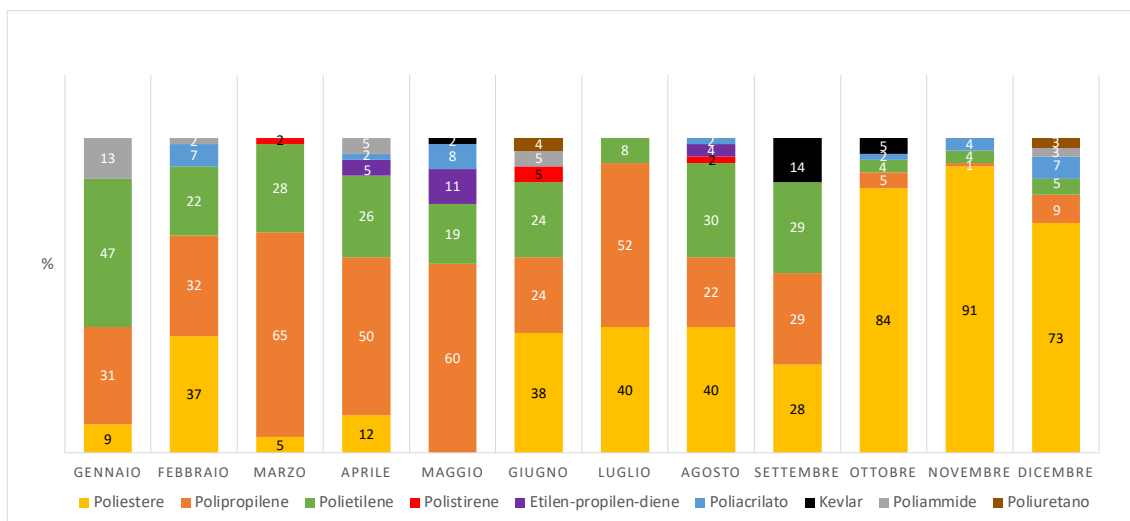


Figura 1.1.5 Composizione polimerica delle diverse plastiche rilevate lungo il transetto trasversale nei 12 mesi di campionamento.

Infine, l'ultima caratteristica che abbiamo considerato per le particelle polimeriche è stato il loro colore, che potrebbe sembrare una caratteristica di secondaria importanza. In realtà, da un punto di vista ecotossicologico rappresenta una caratteristica fondamentale, insieme alla forma della particella plastica, in quanto sono ormai numerosi gli studi che dimostrano come alcuni organismi acquatici scambino le plastiche di certe dimensioni e colore per cibo, introducendo volontariamente questo tipo d'inquinanti nel proprio tubo digerente (Ory et al., 2017; Yagi et al., 2022). In figura 1.1.6 è possibile osservare come tendenzialmente siano il nero, il rosso, il blu e le plastiche trasparenti a dominare la composizione colorimetrica, anche in questo caso con profonde ed evidenti differenze tra le differenti mensilità.

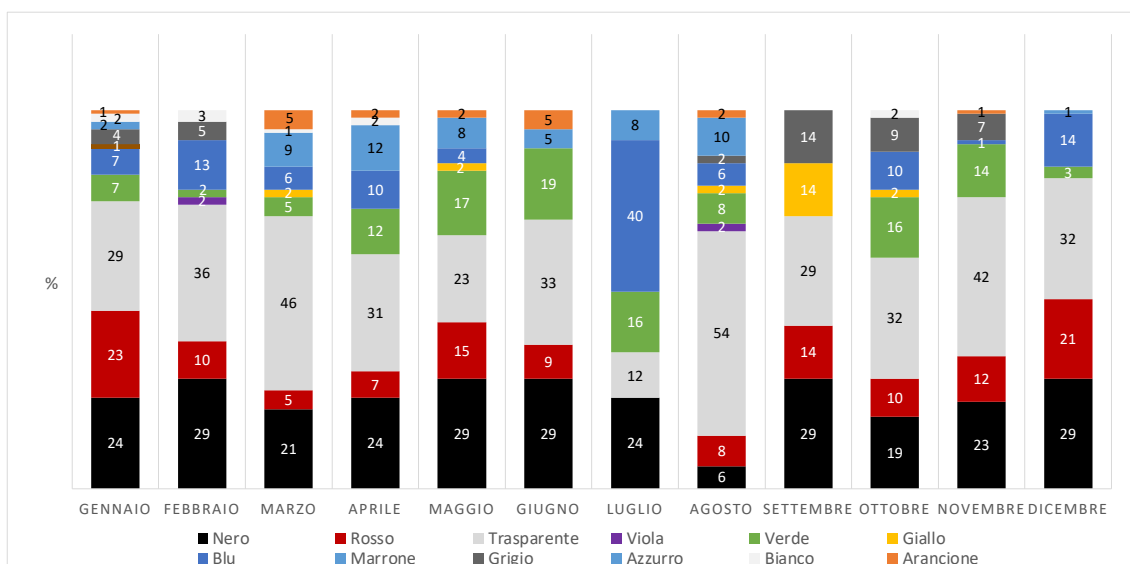


Figura 1.1.6 Colore delle particelle polimeriche ritrovate nei 12 campioni, espresso come percentuale.

In conclusione, è da sottolineare il fatto che l'inquinamento da plastica osservato nel 2022 nel Verbano è sicuramente non elevato, se confrontato con i dati di altri laghi a livello mondiale, e di origine quasi esclusivamente domestica, legata ai lavaggi dei capi sintetici o dovuta alla frammentazione di rifiuti plastici abbandonati intenzionalmente o involontariamente in ambiente, mentre sembra del tutto trascurabile una contaminazione di tipo industriale. Tale risultato è molto importante nell'ottica non solo di una corretta valutazione del rischio ambientale (*Environmental Risk Assessment*, ERA), ma anche e soprattutto per una necessaria e futura gestione del rischio per questo tipo d'inquinanti emergenti in tale fondamentale ecosistema acquatico.

1.3 Caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche presenti nella colonna d'acqua e negli stomaci di coregone

Sui campioni prelevati nel corso del 2022 si sono iniziate le analisi per la conta e la caratterizzazione morfo-dimensionale delle plastiche presenti. Ad oggi però non si sono analizzati in maniera completa (ovvero in tutte le repliche e gli individui prelevati; i dati finali verranno presentati nei prossimi report. I dati preliminari finora ottenuti mostrano concentrazioni di plastiche nella colonna d'acqua molto inferiori rispetto a quelle trovate in superficie (range 0,02 – 0,2 particelle m⁻³), fenomeno evidenziato anche in altri studi sia in acque dolci che marine (Liu et al., 2020). I polimeri trovati mostrano al momento una forte presenza nella colonna d'acqua di polimeri come PE e PP, abbondanti anche nei campioni superficiali. La presenza di questi polimeri, che hanno densità bassa e che quindi dovrebbero galleggiare sul pelo dell'acqua, sottolinea l'importanza dei processi di fouling microbico e di invecchiamento che, modificando la superficie esterna, possono modificare la distribuzione della plastica in ambiente. I primi dati sull'ingestione di plastica da parte dei pesci ha mostrato una forte variabilità nelle diverse date di campionamento analizzate, con alcuni periodi in cui gli individui presentavano raramente plastiche nel loro tratto gastrointestinale e periodi in cui la presenza era più alta e le ingestioni medie erano intorno a valori di una particella per pesce.

Bibliografia

- Binelli, A., Pietrelli, L., Di Vito, S., Coscia, L., Sighicelli, M., Della Torre, C., Parenti, C.C., Magni, S. 2020. Hazard evaluation of plastic mixtures from four Italian subalpine great lakes on the basis of laboratory exposures of zebra mussels. *Science of the Total Environment* 699, 134366.
- GESAMP. (2019). Guidelines for the monitoring and assessment of plastic litter in the ocean (Kershaw P.J., Turra A. and Galgani F. editors), (IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP/ISA Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Prote. Rep. Stud. GESAMP, no 99, 130p. <http://www.gesamp.org/publications/guidelines-for-the-monitoring-and-assessment-of-plastic-litter-in-the-ocean>
- Hartmann, N.B., Huffer, T., Thompson, R.C., Hasselov, M., Verschoor, A., Daugaard, A.E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M.P., Hess, M.C., Ivleva, N.P., Lusher, A.L., Wagner, M., 2019. Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. *Environment Science and Technology* 53, 1039–1047.

- Liu, K., Courtene-Jones, W., Wang, X., Song, Z., Wei, N., Li, D. 2020. Elucidating the vertical transport of microplastics in the water column: A review of sampling methodologies and distributions. *Water Research* 186: 116403.
- Napper, I.E., Thompson, R.C., 2016. Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines: effects of fabric type and washing conditions. *Marine Pollution Bulletin* 112, 39–45.
- Ory, N.C., Sobral, P., Ferreira, J.L., Thiel, M., 2017. Amberstripe scad *Decapterus muroadsi* (Carangidae) fish ingest blue microplastics resembling their copepod prey along the coast of Rapa Nui (Easter Island) in the South Pacific subtropical gyre. *Science of Total Environment* 586, 430–437.
- Razeghi, N., Hamidian, A. H., Wu, C., Zhang, Y., Yang, M. 2021. Microplastic sampling techniques in freshwaters and sediments: a review. *Environmental Chemistry Letters* 19, 4225–4252.
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V., Lehtiniemi, M. 2014. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental Pollution* 185, 77–83.
- Sighicelli, M., Pietrelli, L., Lecce, F., Iannilli, V., Falconieri, M., Coscia, L., Di Vito, S., Nuglio, S., Zampetti, G., 2018. Microplastic pollution in the surface waters of Italian Subalpine Lakes. *Environmental Pollution* 236, 645–651.
- Yagi, M., Ono, Y., Kawaguchi, T. 2022. Microplastic pollution in aquatic environments may facilitate misfeeding by fish. *Environmental Pollution* 315, 120457.

2. CAPITOLO 2: PROGETTO PILOTA PER IL MONITORAGGIO DI FAUNA MACROINVERTEBRATA E FAUNA INTERSTIZIALE BENTONICA ANCHE INVASIVA NEL LAGO MAGGIORE TRAMITE APPROCCI MORFO-MOLECOLARI

Angela Boggero, Tiziana Di Lorenzo, Lyudmila Kamburska, Jordi Renè Mor, Raffaella Sabatino, Agostina Tabilio Di Camillo, Silvia Zaupa, Laura Garzoli

2.1 Presenza e distribuzione di fauna macroinvertebrata invasiva

Nel corso del 2022 sono state monitorate le sponde italiane del lago Maggiore per rilevare la presenza di macroinvertebrati invasivi, in particolare prendendo in considerazione pontili e darsene. I campionamenti sono stati effettuati mediante nasse ad inganno e caratterizzazione ambientale delle aree di rilevamento. Sono state rinvenute due specie, *Faxonius limosus* e *Procambarus clarkii*, di cui è stata aggiornata la distribuzione. In area svizzera sono state fatte alcune fotografie subacquee che testimoniano la presenza di tane a una profondità di 11-12m di fronte a Locarno. Durante le attività è inoltre stato rinvenuto il briozoo invasivo *Pectinatella magnifica* nelle vicinanze di Magadino.

2.1.1 Introduzione

A seguito dei risultati positivi ottenuti nel progetto SPecie Alloctone invasive nel bacino del Lago Maggiore (SPAM 2017-2019), per l'annualità 2022-2024 si è deciso di proseguire le attività di verifica della presenza e distribuzione delle specie di fauna macroinvertebrata invasiva sulle sponde del Lago Maggiore. Ciò poiché, successivamente alla pubblicazione dei report di progetto SPAM, sono state ricevute numerose segnalazioni della presenza del gambero rosso della Louisiana (detto "killer") *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) nel bacino del Lago. La presenza della specie era però stata verificata solo in due siti, e in entrambi con un solo esemplare rinvenuto (sud-ovest del Lago Maggiore). Nelle attività propedeutiche al presente progetto si è quindi provveduto a validare le suddette segnalazioni. Si è verificato che molte di queste risultavano scorrette, in quanto si riferivano al gambero di fiume americano *Faxonius limosus* Rafinesque, 1817 (nome attualmente valido per la specie precedentemente nota come *Orconectes limonus*), specie ben rappresentata nel Lago; alcune segnalazioni si sono rivelate invece corrette. Caratteristica peculiare di queste segnalazioni erano la presenza di *P. clarkii* associata ad aree con pontili o dove erano ormeggiate imbarcazioni. Durante il presente progetto si è quindi deciso di dare rilievo a questa osservazione, monitorando questa tipologia di habitat per verificare la correttezza delle nostre ipotesi.

2.1.2 Risultati

Per la redazione del piano di azione dei campionamenti a fini di monitoraggio da effettuarsi nel 2022, è stata preparata una mappa in cui venivano evidenziati, lungo il perimetro del Lago Maggiore, i punti di presenza di imbarcaderi e pontili in area italiana (Fig. 2.1.1a). Sono quindi stati evidenziati i siti accessibili (sia in termini di accessibilità delle sponde, sia per esclusione di pontili di ville private), ad una distanza minima di 1.5-2km (come da metodologia messa a punto nel progetto SPAM, Beghi et al. 2019, Garzoli et al. 2020). In questo modo, sono stati prescelti 25 siti in area italiana in cui sono state effettuate le attività di trappolaggio. Per la metodologia di campionamento e di analisi di laboratorio vedasi il dettaglio in Appendice A2.1 del presente documento.

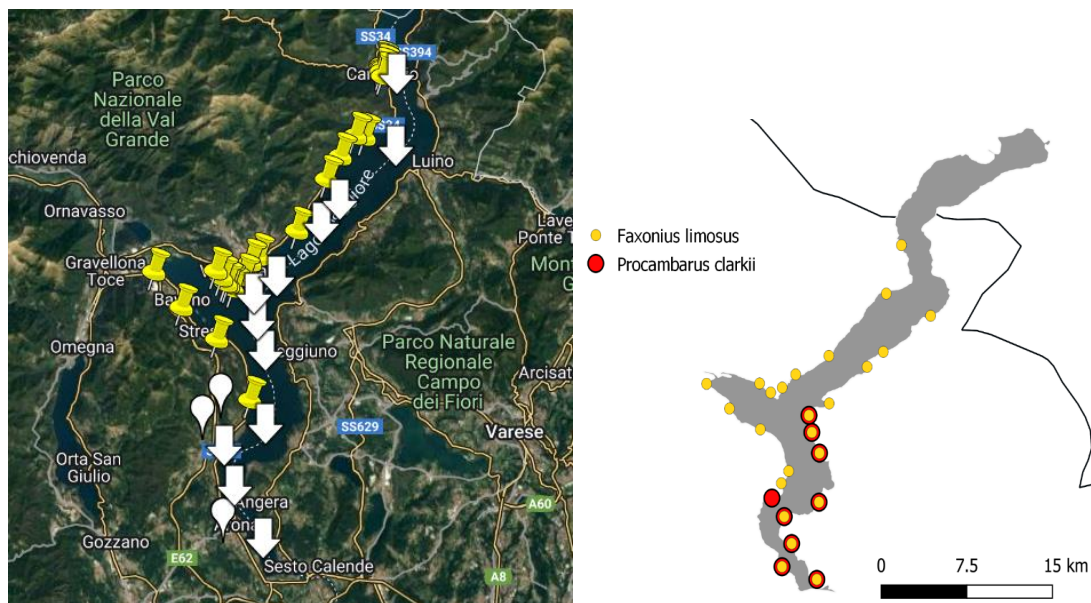


Figura 2.1.1 a) mappatura dei possibili siti di campionamento in area italiana. Puntatore giallo: siti piemontesi, freccia bianca: siti lombardi. 1b) siti effettivamente prescelti per le attività di trappolaggio tramite nasse.

Nei siti italiani monitorati nel 2022 è stata rinvenuta la presenza di gamberi invasivi appartenenti a due specie: *P. clarkii* e *F. limosus* (Tab. 2.1.1, Fig. 2.1.1b, Fig. 2.1.2). Entrambe le specie sono facilmente riconoscibili: *P. clarkii* possiede una estesa colorazione rossa su tutto il corpo, *F. limosus* ha la punta delle chele di colore arancione, spine sulla parte laterale del carapace e bande rosso porpora nella parte dorsale dei segmenti addominali (Mazzoni et al., 2004; Souty-Grosset et al., 2006; Boggero et al., 2023). In dettaglio, nel 2022 sono stati raccolti 188 maschi (M) e 96 femmine (F) di *F. limosus* e 38 M e 11 F di *P. clarkii* con un sex ratio M/F di 2 per *F. limosus* e di 3.5 per *P. clarkii*. Le dimensioni degli esemplari variano in un range di 4.3-10.5 cm per *F. limosus* e di 6.4-12.0 cm per *P. clarkii*, mentre il peso totale degli individui varia in un range di 2.1-5.1 g e 3.3-6.3 g rispettivamente per la prima e la seconda specie. Nel Lago Maggiore, *F. limosus* è quindi molto più diffuso (25/25 siti) e abbondante rispetto a *P. clarkii* (9/25 siti). La seconda specie raggiunge però dimensioni maggiori.



Figura 2.1.2 Un esemplare adulto di *Faxonius limosus*

In area svizzera, per ora non si sono svolti campionamenti, ma un fotografo professionista ha accertato la presenza di *F. limosus* e di tane di fronte al Centro subacqueo di Locarno a profondità di 11-12 m (Fig. 2.1.3) e la presenza di *P. clarkii* è testimoniata da una comunicazione del Direttore delle Bolle di Magadino. Quanto detto dovrà essere verificato da indagini specifiche nel 2023.

Tabella 2.1.1 Presenza di specie di gamberi invasivi per provincia e per sesso, range di valori di lunghezza totale e peso totale per ogni specie e sesso. Piemonte - VB: Verbano Cusio Ossola, NO: Novara; Lombardia - VA: Varese.

Provincia/Specie/Sesso	N. ind.	Lunghezza min (cm)	Lunghezza max (cm)	Peso min (g)	Peso max (g)
VB					
<i>Faxonius limosus</i>	95	5.50	9.52	2.50	4.62
F	37	5.60	8.80	2.50	4.10
M	58	5.50	9.52	2.60	4.62
NO					
<i>Faxonius limosus</i>	25	5.56	9.62	2.59	4.77
F	14	5.56	9.60	2.70	4.67
M	11	6.17	9.62	2.59	4.77
<i>Procambarus clarkii</i>	11	6.96	11.58	3.56	6.20
F	3	6.96	11.58	3.56	6.20
M	8	7.87	11.41	4.15	6.09
VA					
<i>Faxonius limosus</i>	164	4.32	10.54	2.12	5.12
F	45	4.32	10.07	2.12	4.89
M	119	4.78	10.54	2.27	5.12
<i>Procambarus clarkii</i>	38	6.43	11.95	3.29	6.11
F	8	9.40	11.03	4.78	5.76
M	30	6.43	11.95	3.29	6.11



Figura 2.1.3 Fotografie subacquee che attestano la presenza di *F. limosus* a una profondità di circa 11-12 m in area svizzera (Locarno). Foto Beatrizzotti S.

Durante le attività di monitoraggio di gamberi invasivi effettuate nel 2022, è stato rinvenuto anche un altro organismo alieno invasivo, *Pectinatella magnifica* (Leidy, 1851). Si tratta di una specie appartenente al phylum Bryozoa d'acqua dolce, ordine Plumatellida (Fig. 2.1.4). *Pectinatella magnifica* è una colonia di organismi (zooidi) che possono talvolta raggiungere un diametro di 1.5-2 m. Si trovano spesso attaccati a parti sommerse di cavi d'ormeggio e pontili, ma, come nel nostro caso, possono anche essere fluttuanti. Hanno corpo traslucido con gli zooidi che crescono in macchie simili a rosette sulla base gelatinosa esterna. Ogni zoide ha una struttura simile a una testa a forma di ferro di cavallo (lofoforo) con una corona di 50-84 tentacoli che filtrano il cibo dall'acqua. La densità dell'organismo è simile a quella della gelatina ed è facilmente scomponibile in pezzi più piccoli.

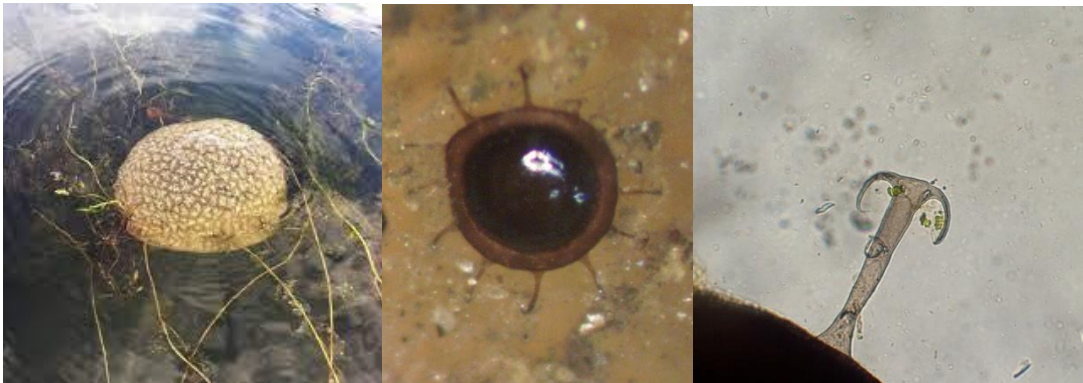


Figura 2.1.4. Da sinistra a destra. Esemplare di *P. magnifica*, suo statoblasto (forma riproduttiva a sessuale di resistenza in grado di sopravvivere in ambienti sfavorevoli e rigenerare la colonia) e tentacolo.

Pectinatella magnifica è originaria del Nord America orientale e la distribuzione nativa si estende in tutta la regione dei Grandi Laghi a est del Fiume Mississippi (Pennak, 1989; Wood, 2010). Nel 1883, è stata segnalata per la prima volta in Germania (Kraepelin 1887), per poi diffondersi sia in Europa che in Asia (Notteghem, 2009; Balounová et al., 2013). Il suo ritrovamento, successivo a quanto definito in Lepori et al. (2020), è stato effettuato alla foce del canale che porta dall'abitato di Magadino verso il lago aperto. Una volta portata in laboratorio, è stata conservata viva per il periodo estivo in modo da poter raccogliere l'acqua in cui viveva per analisi di eDNA e DNA barcode.

2.1.3 Conclusioni

Nel 2023 è stato ottenuto il permesso dell'Ufficio Federale per l'Ambiente (OFEV) per il trasporto di Decapodi vivi al di fuori del territorio svizzero. Questo ci permetterà di effettuare lo stesso tipo di campionamento anche in Svizzera nel 2023. Per quanto riguarda il briozoo invasivo *P. magnifica*, qualora dovesse superare il confine svizzero, questa sarebbe la prima segnalazione per l'Italia: finora infatti, la specie non è mai stata riscontrata né in corsi d'acqua né in laghi o stagni del territorio nazionale.

2.2 Presenza e distribuzione di fauna interstiziale bentonica

Le conseguenze della gestione dei livelli del lago e dei periodi prolungati di siccità sulla fauna e sugli ecosistemi lacustri necessita un'attenta valutazione, che prenda in considerazione diverse componenti dalla macro alla microscala. Per questo motivo si è deciso di effettuare un monitoraggio sui microinvertebrati psammonici (ovvero che vivono nella sabbia) in stazioni di riferimento per la gestione delle acque del Lago Maggiore. Nel corso del 2022 sono stati prelevati dei campioni in tre stazioni oggetto di monitoraggio del progetto Interreg ParchiVerbanoTicino. I campioni raccolti e fissati sono ora oggetto di studio degli esperti del CNR-IRSA di Firenze per l'identificazione tassonomica e lo studio delle abbondanze dei taxa, ai fini di valutare cambiamenti significativi riferibili ai fenomeni oggetto di studio.

2.2.1 Introduzione

La necessità di monitorare i microinvertebrati psammonici del Lago Maggiore scaturisce da alcuni risultati del progetto Interreg ParchiVerbanoTicino (PVT; ID 481668). I monitoraggi condotti durante il progetto hanno evidenziato una variazione significativa delle abbondanze tassonomiche dei microinvertebrati bentonici del litorale sabbioso del lago durante i periodi di basso livello idrico. L'abbassamento del livello comporta un aumento del moto ondoso e dell'azione di rimescolamento del substrato sabbioso operato dalle onde. In dettaglio, quattro taxa (copepodi, ostracodi, acari e chironomidi) hanno mostrato abbondanze più basse durante i periodi di basso livello idrico. Al contrario, oligocheti e nematodi sono risultati più abbondanti durante i periodi di medio e basso livello idrico. Tali variazioni possono essere ricondotte a due differenti fenomeni: i) il drift passivo (cioè gli animali vengono letteralmente strappati dalla zona litorale e trasportati al largo dal rimescolamento del substrato sabbioso operato dalle onde (Fig. 2.2.1); o ii) permanenza nello psammon (comunità di animali e piante che vivono negli strati sabbiosi del litorale) mediante *burrowing* (cioè, gli animali penetrano nel sedimento per ripararsi dall'azione delle onde).

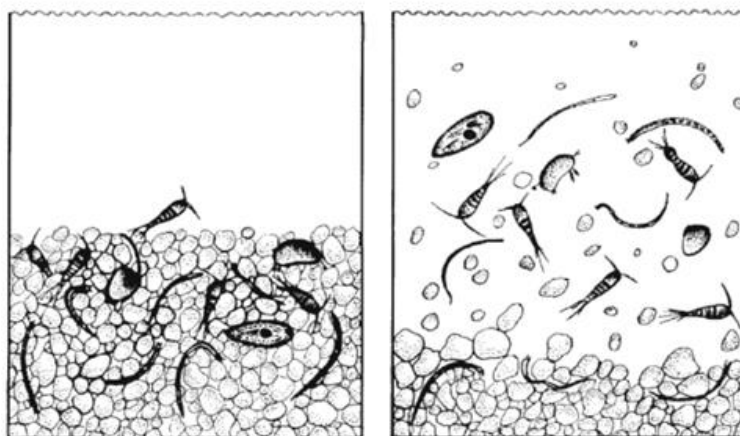


Figura 2.2.1. I microinvertebrati della zona litorale dei laghi prediligono gli ambienti iperbentici, ovvero primi centimetri di litorale sommerso (a sinistra). Da questo ambiente, gli organismi possono venire letteralmente trascinati via durante i periodi basso livello idrico, quando è più forte il rimaneggiamento dei sedimenti ad opera delle onde (a destra). Figura modificata da Giere (2009).

2.2.2 Risultati

Per verificare che ruolo abbiano avuto i fenomeni di *drift* passivo e permanenza nello psammon mediante *burrowing* nel determinare la composizione tassonomica degli assemblaggi a microinvertebrati monitorati durante il progetto Interreg PVT, abbiamo effettuato un campionamento come descritto nei metodi in Appendice A2.2 del presente documento. In particolare, nell'agosto del 2022, sono stati effettuati dei campionamenti degli organismi che vivono nella sabbia (psammon) nelle tre stazioni di monitoraggio del progetto Interreg PVT (Fig. 2.2.2a), di cui due italiane (Sesto Calende e Fondo Toce) e una svizzera (Bolle di Magadino). In ogni stazione sono stati campionati due siti, di cui uno permanentemente bagnato dalle onde ma mai del tutto sommerso (B – sito bagnato), l'altro soggetto a periodi di asciutta, (A – sito asciutto). Entrambi gli habitat subiscono un incremento nella loro estensione quando i livelli del lago si abbassano (l'*euarenal* si estende verso l'*hygroarenal* e l'*hygroarenal* si estende verso l'*hydroarenal*, Fig. 2.2.2b).

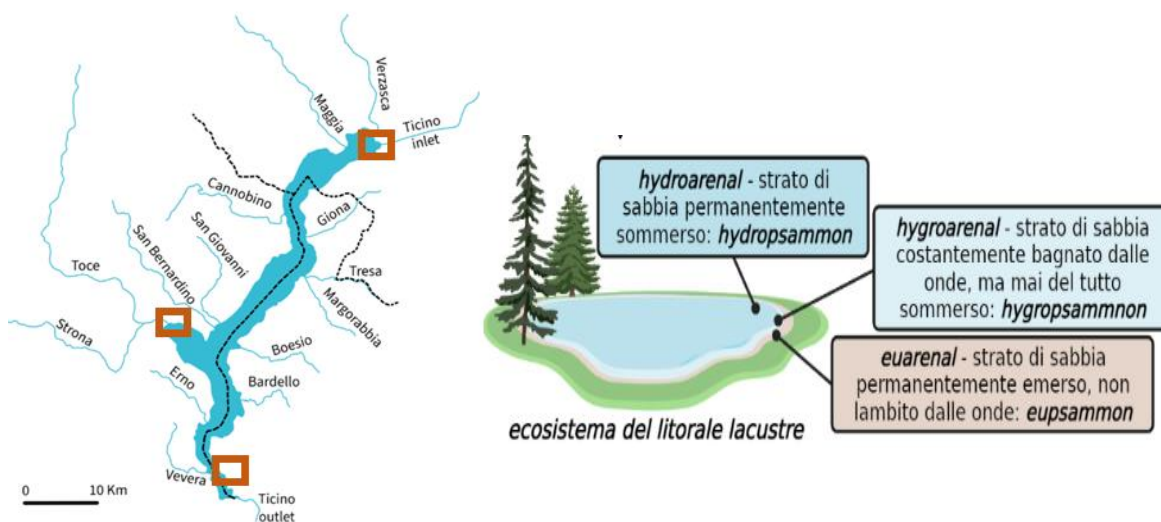


Figura 2.2.2 a) Stazioni di monitoraggio indagate nel 2022 per la fauna interstiziale bentonica; b) strati dell'ecosistema lacustre presi in considerazione per il campionamento

2.2.3 Conclusioni

I campioni raccolti sono stati fissati in campo in soluzione alcolica al 70% e verranno analizzati nel corso dell'anno 2023.

2.3 Sviluppo metodica di eDNA per *early detection* di specie aliene invasive

Tra i metodi all'avanguardia per l'*early warning* e per la gestione più efficace delle specie aliene invasive, sicuramente l'eDNA rappresenta una tecnica dalle grandi potenzialità. Per quanto riguarda il Lago Maggiore, in collaborazione con SUPSI, si stanno ottimizzando le metodiche disponibili per valutare la sensibilità e l'affidabilità nella *detection* delle diverse specie presenti. Durante il primo anno è stato composto il gruppo di lavoro, sono stati valutati i protocolli disponibili per le diverse specie presenti e si è redatto il piano d'azione per i successivi esperimenti in microcosmi e in vivo.

2.3.1 Introduzione

In anni recenti, la tecnica del DNA ambientale (environmental DNA, eDNA) ha conosciuto un enorme sviluppo per l'analisi di matrici ambientali (suolo, sedimenti, acqua, etc.). Questa metodica all'avanguardia rileva il DNA presente in campioni ambientali di specie target (associato a cellule oppure a frammenti di tessuto) senza la necessità di pre-isolare l'organismo target. Nei campioni di acqua, l'enorme vantaggio dell'eDNA è sicuramente quello di poter concentrare il DNA attraverso filtrazione e utilizzare sequenze "target" (sequenze note depositate in banche dati), caratteristiche degli organismi di interesse, per determinarne la presenza degli stessi in un determinato ambiente, minimizzando i costi e ottimizzando il tempo dedicato ai monitoraggi (Schenekar, 2023). Questo risulta particolarmente vantaggioso per l'individuazione della presenza e per il monitoraggio delle specie aliene invasive. L'eDNA rappresenta infatti uno strumento con grandi potenzialità per la sorveglianza e la *early detection* di specie non native, garantendo la possibilità di intervento e gestione di popolazioni quando esse siano ancora geograficamente limitate e prevenendone quindi la diffusione. Nonostante questa tecnica presenti evidenti vantaggi in termini di *scale-up* spazio-temporale dei monitoraggi, un'accurata calibrazione del metodo è necessaria in quanto 1) non per tutte le specie sono disponibili primers utilizzabili per l'amplificazione di sequenze target di DNA in real-time PCR (qPCR); 2) qualora i primers siano disponibili, va sempre valutata la capacità di discriminazione interspecie (cioè, va valutato se la sequenza in analisi può discriminare fra specie alloctone e autoctone); 3) a seconda delle caratteristiche delle specie in oggetto di studio (ad esempio, specie con stadi vitali nelle diverse componenti benthos/necton/plankton), la sensibilità e l'efficacia dei metodi di rilevamento può variare sensibilmente (vedi Rees et al. 2014).

In collaborazione con la Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana (SUPSI), Dipartimento per il Territorio, l'obiettivo dello studio è quello di ottimizzare e sviluppare protocolli di eDNA per le principali specie target presenti nel Lago Maggiore. Lo studio prende in considerazione le metodiche già sviluppate nei progetti DNAqua-NET e il progetto pilota Sorveglianza delle specie alloctone invasive nel Lago di Lugano e nel bacino svizzero del Lago Maggiore sviluppato da SUPSI per il Dipartimento del Territorio per la loro ottimizzazione.

2.3.2 Risultati

In collaborazione con SUPSI è stata stabilita la strategia per l'ottimizzazione delle risorse disponibili, per massimizzare costi-benefici e limitare sovrapposizioni e duplicazioni del lavoro svolto. In particolare, sono state effettuate riunioni di coordinamento insieme ai partner svizzeri che hanno già sviluppato delle metodiche per le invasive lacustri nel progetto ECO-ALPS WATER.

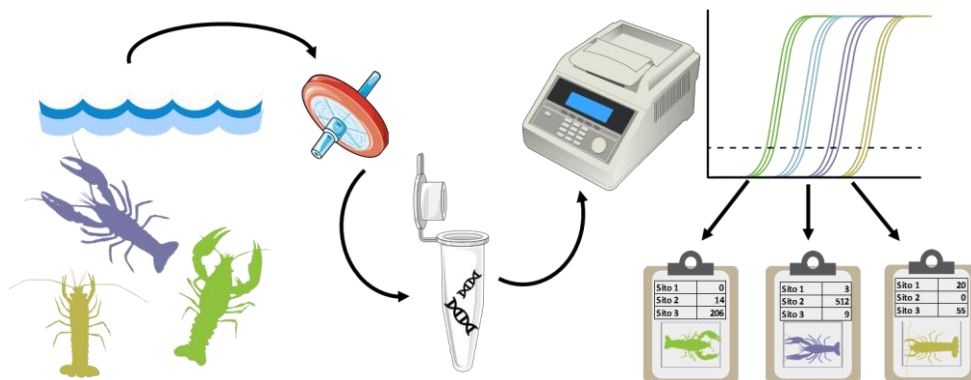


Figura 2.3.1 Schema di utilizzo della tecnica di eDNA. Da sinistra a destra: prelievo di campioni di acqua in campo mediante filtrazione su filtro 0.2µ, estrazione del DNA, qPCR con primers specifici per la quantificazione del DNA ambientale delle tre diverse specie, estrapolazione dei risultati.

Tabella 2.3.1 Briozoi d'acqua dolce nativi e alieni segnalati in Italia, in Europa, o assenti ma riportati come invasivi altrove. Presenza di sequenze in GenBank (GB) e quali, per lo sviluppo di marker in qPCR.

Status	Famiglia	Specie	GB	Quale marcatore	Note
Nativa	Cristatellidae	<i>Cristatella mucedo</i>	Yes	18S/ITS/cytb/cox1/cox3	
Nativa	Fredericellidae	<i>Fredericella sultana</i>	No	Nemmeno stesso genere	Coordinamento con gruppi di lavoro internazionali
Nativa	Lophopodidae	<i>Lophopus crystallinus</i>	Yes	18S/ITS/cytb/cox1/cox3	
Nativa	Plumatellidae	<i>Plumatella casmiana</i>	Yes	18S/ITS/cytb/cox1	
Nativa	Plumatellidae	<i>Plumatella emarginata</i>	Yes	18S/ITS/cytb/cox1/cox3	
Nativa	Plumatellidae	<i>Plumatella fruticosa</i>	Yes	NO cyt e ITS, SI 18S	Coordinamento con gruppi di lavoro internazionali
Nativa	Plumatellidae	<i>Plumatella fungosa</i>	Yes	18S/ITS/cytb/cox1	
Nativa	Plumatellidae	<i>Plumatella repens</i>	Yes	18S/ITS/cytb/cox1	
Nativa	Plumatellidae	<i>Hyalinella punctata</i>	Yes	18S/ITS/cytb/cox1	
Aliena	Pectinatellidae	<i>Pectinatella magnifica</i>	Yes	no ITS, Si 18S/cytb/cox1/cox3	Coordinamento con gruppi di lavoro internazionali
Assente	Pectinatellidae	<i>Pectinatella davenporti</i>	No		
Assente	Stephanellidae	<i>Stephanella hina</i>	Yes	16S/18S	
Assente	Tapajosellidae	<i>Tapajosella elongata</i>	No		

Si è deciso quindi che il gruppo italiano avrebbe focalizzato le sue attività principalmente sull'ottimizzazione di protocolli disponibili per la *detection* di gamberi invasivi per le tre specie presenti nel lago (*F. limosus*, *P. leniusculus*, *P. clarkii*), anche in relazione ai diversi stadi di sviluppo (uova, giovani e adulti).

I gamberi sono stati campionati e esemplari delle diverse specie sono attualmente conservate presso l'Istituto IRSA di Verbania. Stiamo provvedendo all'estrazione di DNA dagli esemplari per avere controlli positivi da utilizzare per la messa a punto dei saggi di qPCR (Fig. 2.3.1).

Nelle riunioni di coordinamento con SUPSI è stata rilevata l'esigenza di sviluppare metodiche attualmente non disponibili per la *detection* di *Pectinatella magnifica*, un briozoo invasivo che è stato recentemente rinvenuto sulle sponde svizzere del lago Maggiore. Per questo motivo durante il primo anno è stata fatta una ricerca bibliografica per comprendere quali sequenze depositate siano disponibili per le specie di briozoi di acqua dolce autoctone e alloctone (Tab. 2.3.1). Questo per sviluppare una metodica efficace che discrimini le specie native dal briozoo invasivo. In relazione alle specie autoctone di cui non sono ancora disponibili sequenze, sono stati contattati diversi esperti internazionali che collaborano con il nostro istituto e sono attualmente in corso le pratiche legislative per il trasferimento dei campioni.

2.3.3 Conclusioni

Il progetto prevede quindi nella prossima annualità lo sviluppo e la validazione di primers amplificanti regioni differenti sugli estratti di DNA dagli organismi di interesse che consentano, poi, la messa a punto di saggi di qPCR sensibili e specifici per le specie target. Inoltre, verranno applicate e testate le metodiche sviluppate in studi di campo.

Ringraziamenti

Gli autori sono grati alla Fondazione Bolle di Magadino, ed in particolare al Dr. Nicola Patocchi e Davide Sargenti, per il supporto nelle attività di campionamento. Si ringrazia inoltre Stefano Beatrizzotti per la gentile concessione delle fotografie subacquee.

Bibliografia

- Balounová Z., Pechoušková E., Rajchard J., Joza V., Šinko J. 2013. World-wide distribution of the Bryozoan *Pectinatella magnifica* (Leidy 1851). *European Journal of Environmental Sciences* 3, 96–100.
- Beghi A., Gariboldi L., Boggero A., Riccardi N., Genoni P. 2019. SPecie Alloctone invasive nel bacino del Lago Maggiore (SPAM). Programma triennale 2016-2018. Rapporto finale. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere, 164 pp.
- Boggero A., Croci C., Zanaboni A., Zaupa S., Paganelli D., Garzoli L., Bras T., Busiello A., Orrù A., Beatrizzutti S., Kamburska L. 2023. New records of the spinycheek crayfish *Faxonius limosus* (Rafinesque, 1817): expansion in subalpine lakes in north-western Italy. *Biological Invasion Record* 12, 445–456.
- Garzoli L., Mammola S., Ciampittiello M., Boggero A. 2020. Alien Crayfish Species in the Deep Subalpine Lake Maggiore (NW-Italy), with a Focus on the Biometry and Habitat Preferences of the Spiny-Cheek Crayfish. *Water* 12, 1391.

- Giere O., 2008. Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments. Springer Science & Business Media.
- Kraepelin K. 1887. Die deutschen Süßwasser Bryozoen. Eine Monographie. Abh. Naturwissenschaftlicher Verein in Hamburg 10, 1–168.
- Mazzoni D., Gherardi F., Ferrarini P. 2004. Guida al riconoscimento dei gamberi d'acqua dolce. Seconda edizione. Greentime SpA, Bologna, 34 pp.
- Notteghem P. 2009. Évolution de la distribution de la Pectinatelle, *Pectinatella magnifica* (Leidy, 1851), Bryzoaire d'eau douce, en France et en Europe. Revue Scientifique Bourgogne-Nature 9/10, 188–197.
- Pennak R.W. 1989. Fresh-water invertebrates of the United States, 3rd ed. John Wiley & Sons, New York.
- Rees, H. C., Maddison, B. C., Middleditch, D. J., Patmore, J. R., & Gough, K. C. (2014). The detection of aquatic animal species using environmental DNA—a review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology* 51(5), 1450–1459.
- Schenekar, T. (2023). The current state of eDNA research in freshwater ecosystems: Are we shifting from the developmental phase to standard application in biomonitoring?. *Hydrobiologia* 850(6), 1263–1282.
- Souty-Grosset C., Holdich D.M., Noël P.Y., Reynolds J.D., Haffner P. (eds). 2006. Atlas of Crayfish in Europe. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, Patrimoines Naturels 64, 187 pp.
- Wood T.S. 2010. Bryozoans. In: Thorp J.H., Covich A.P. (eds), *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Academic Press, London, United Kingdom: 437–454.

CONCLUSIONI

I risultati raccolti nel 2022 nell'ambito delle ricerche sul Lago Maggiore relative ad ambienti litorali e temi emergenti, realizzati dall'Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA) del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) sede di Verbania su mandato della CIP AIS, in collaborazione con altri enti, si sono focalizzate su tre temi principali: l'effetto delle microplastiche nella rete trofica del lago, lo studio degli organismi delle zone litorali, e la ricognizione della qualità delle zone litorali del Lago Maggiore.

Lo studio delle microplastiche si è focalizzato sul monitoraggio della presenza e delle caratteristiche delle plastiche galleggianti sulla superficie e di quelle ingerite dai coregoni, determinando il livello di esposizione degli organismi acquatici ed individuando i meccanismi che ne influenzano l'ingresso nella catena alimentare.

Il progetto di monitoraggio della fauna bentonica ed interstiziale litorale ha permesso di mappare alcune specie invasive come tre specie di gamberi e una di briozoo, seguendone l'espansione. In aggiunta, sono stati messi a punto metodi per l'utilizzo di DNA ambientale per il monitoraggio delle specie invasive. Il progetto si è anche focalizzato sulla fauna interstiziale, raccogliendo i campioni ed iniziando la determinazione delle specie trovate.

ALLEGATI

Metodi di campionamento e di analisi

1. CAPITOLO 1: PRESENZA E DISTRIBUZIONE DELLE PLASTICHE E LORO TRASFERIMENTO NELLA CATENA TROFICA DEL LAGO MAGGIORE

Campionamento delle matrici

Il campionamento delle plastiche galleggianti sulla superficie è avvenuto, nei giorni elencati in tabella 1.1.1, con l'utilizzo di un retino di tipo "Manta" con imboccatura di 60 cm di larghezza e 25 cm di altezza ((Nr.10.800, da Scubla Srl), equipaggiato con flussimetro (Mod. 2030R6, Scubla Srl) e con una rete con porosità da 100 μm , in modo da permettere la quantificazione anche delle microplastiche più piccole, come suggerito in molte linee guida (Razeghi et al., 2021). Per ottenere un valore rappresentativo della presenza delle plastiche, inquinante puntiforme che nella sua distribuzione segue dinamiche molto varie legate alla morfologia del bacino, alle correnti e ai venti prevalenti, si è scelto di effettuare un unico transetto da costa a costa nella zona centrale del lago Maggiore. La rete è stata quindi calata in acqua subito fuori dalla costa dell'abitato di Ghiffa e recuperata nelle acque immediatamente antistanti l'abitato di Caldè (comune di Castelveccana). La rete è stata trainata alla velocità di 3 nodi (circa 5,5 km/h) a circa 30 m di distanza dalla poppa della barca, tramite l'utilizzo di un argano a motore con cavo in acciaio. Al termine del campionamento, la rete è stata lavata con acqua di lago per consentire la raccolta del materiale filtrato dal retino Manta all'interno di bottiglie di vetro con tappo metallico. I campioni sono stati, quindi, conservati a 4 °C in attesa delle analisi di quantificazione e caratterizzazione del materiale plastico rinvenuto.

Nelle medesime giornate si è campionata la colonna d'acqua da 0 a 50 metri nella stazione di campionamento di Ghiffa. Per raccogliere i campioni su cui analizzare la presenza di microplastiche si è utilizzato un retino da plancton con maglia da 80 μm , con 3 retinate successive per ottenere un campione in triplicato. La rete è stata attentamente lavata con acqua di lago avendo l'accortezza di lavarla dal lato esterno del retino per evitare contaminazioni, ed il materiale raccolto è stato conservato a 4°C in barattoli di vetro. Per raccogliere i campioni su cui quantificare la presenza delle prede naturali del coregone, lo zooplankton, si è effettuata una retinata da 0 a 50 m di profondità con retino da 450 μm . Questi campioni sono stati conservati sotto alcool etilico in vasi di vetro.

Nei giorni immediatamente successivi al campionamento dell'acqua si sono commissionate pescate con reti per la cattura di almeno 15 individui di coregone, ad opera della Cooperativa Pescatori Professionali del Lago Maggiore. I pesci, una volta liberati dalle reti, sono stati messi in ghiaccio e trasportati in laboratorio. Qui sono stati pesati e misurati nella lunghezza. Un campione di scaglie è stato prelevato per analizzarne l'età ed un campione di pinna adiposa è stato prelevato per un'eventuale valutazione genetica. L'intero tratto gastrointestinale, dalla gola all'ano è stato rimosso con cura, pesato e riposto in involti di alluminio a -20°C in attesa di essere analizzato. Le procedure di dissezione sono avvenute sotto cappa a flusso laminare per evitare contaminazioni ambientali e l'operatore ha indossato guanti in lattice naturale e camice in cotone. Tra un campione e il successivo le superfici e gli strumenti di lavoro sono stati opportunamente lavati con acqua deionizzata (filtrata di fresco per eliminare ogni possibile presenza di microplastiche).

Processamento dei campioni di acque superficiali

Tutti i campioni, riferiti alle 12 mensilità di campionamento nel Lago Maggiore, sono stati processati mediante l'utilizzo di setacci di acciaio certificati dall'International Organization for Standardization (ISO 3310-1:2000). In particolare, il contenuto delle bottiglie di vetro è stato filtrato su un setaccio di 63 μm posto al di sotto di un altro setaccio con maglia di 5 mm, in modo da aumentare l'efficienza di setacciamento ed evitare l'impaccamento delle maglie. Il materiale grossolano, costituito da macro-detriti organici e minerali, che si è depositato sul setaccio da 5 mm è stato successivamente lavato con una soluzione ipersalina di cloruro di sodio (NaCl , densità 1,2 g/cm^3), in modo da recuperare eventuali particelle plastiche adese alla superficie di foglie e piccoli rami catturati dal Manta-Net. Il campione filtrato su entrambe i setacci è stato così reinserito in contenitori di vetro con 0,5 mL della soluzione ipersalina sopra menzionata. I campioni sono stati, quindi, lasciati a decantare overnight in camera fredda alla temperatura di 4 °C al fine di garantire una maggiore separazione delle plastiche campionate dalla sostanza organica presente nel mezzo, sfruttando il gradiente di densità della soluzione ipersalina da 1,2 g/cm^3 (Binelli et al., 2022; Magni et al., 2019, 2021, 2022).

Caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche contenute nell'acqua superficiale

I campioni raccolti per ciascuna mensilità sono stati destinati alla caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche in essi presenti, effettuata mediante uno spettrofotometro infrarosso in trasformata di Fourier accoppiato a microscopio ottico ($\mu\text{FT-IR}$).

In particolare, il surnatante di ciascun campione è stato filtrato tramite pompa da vuoto a membrana, connessa ad apparato Büchner, su filtri in nitrato di cellulosa con porosità di 8 μm (SartoriusTM 50 mm). I filtri ottenuti sono stati lavati con acqua ultrapura in modo da rimuovere ogni traccia di NaCl derivante dalla soluzione ipersalina. In seguito, i filtri sono stati trattati con una soluzione di acqua ossigenata (H_2O_2) al 15% v/v, addizionata goccia a goccia per non allontanare le eventuali particelle plastiche, in modo da rimuovere le tracce di materiale organico. Tale operazione è stata ripetuta per 3 giorni per garantire un'efficiente digestione del materiale presente sui filtri. Durante tutte queste attività, l'operatore ha sempre indossato guanti e camice in cotone e i filtri sono stati mantenuti sotto cappa a flusso laminare al fine di ridurre la potenziale contaminazione dei campioni da microfibre. Inoltre, per ogni campione, un filtro pulito è stato mantenuto all'aria durante le fasi di analisi per monitorare l'eventuale inquinamento atmosferico da microfibre del laboratorio (eventuali contaminazioni sono state sottratte dal risultato finale di quantificazione).

Successivamente, i filtri sono stati osservati attraverso uno stereomicroscopio in modo da effettuare un visual sorting, ovvero una separazione delle potenziali particelle e fibre di sospetta natura sintetica dal resto del materiale inevitabilmente ancora presente sul filtro. Per ciascun filtro di ciascuna mensilità di campionamento si sono quindi trasferiti i potenziali detriti plastici su un secondo filtro pulito di nitrato di cellulosa con porosità pari a 8 μm , facilitando così la successiva analisi al $\mu\text{FT-IR}$.

La caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche è stata effettuata mediante l'utilizzo di un $\mu\text{FT-IR}$ modello Spotlight 200i equipaggiato con Spectrum Two (PerkinElmer), grazie al quale sono state indagate forma (frammenti, film, fibre e pellet), colore, dimensione e composizione chimica dei potenziali detriti plastici presenti nei campioni. In dettaglio, sono state sfruttate radiazioni infrarosse (IR) per ottenere gli

spettri caratteristici del materiale di ogni particella analizzata. Gli spettri sono stati acquisiti in riflettanza totale attenuata (ATR) con 32 scansioni, lunghezze d'onda comprese tra 600 e 4.000 cm^{-1} e una risoluzione di 4 cm^{-1} . Gli spettri ottenuti sono stati poi analizzati utilizzando il Software Spectrum 10 e comparati con degli spettri standard presenti nella libreria strumentale (PerkinElmer). Il grado di somiglianza tra il campione misurato e lo spettro di riferimento è stato ritenuto sufficientemente attendibile solamente dopo l'analisi visiva dei picchi da parte dell'operatore e un matching score $\geq 0,70$ (Magni et al., 2019, 2021, 2022). Tutte le plastiche quantificate sono state quindi misurate tramite il Software ImageJ e classificate come micro-, meso- o macroplastiche secondo la classificazione proposta da Harmann et al. (2019) che, legandosi alle convenzionali unità di misura dimensionali adottate dal sistema internazionale (SI), classifica le microplastiche all'interno della scala $1 - < 1000 \mu\text{m}$. Seguendo lo stesso criterio, le mesoplastiche sono definite da dimensioni tra $1 - < 10 \text{ mm}$ e le macroplastiche da dimensioni di 1 cm o superiori.

Caratterizzazione quali-quantitativa delle plastiche contenute nella colonna d'acqua e nei pesci

I campioni raccolti dalla colonna d'acqua sono stati filtrati su setaccio di acciaio con porosità 50 μm (certificato ISO 3310-1:2000), quindi travasati in becher puliti con H_2O_2 al 15 % (v/v) e lasciati a 40 °C 72 h per digerire il materiale organico presente. Al termine dell'incubazione, i campioni sono stati nuovamente filtrati su setaccio, accuratamente lavati con H_2O deionizzata filtrata e travasati in becher puliti con soluzione satura di KI. La scelta di utilizzare una soluzione satura di KI ($\rho = 1,6 \text{ g/cm}^3$) anziché la più comunemente utilizzata soluzione satura di NaCl deriva dalla volontà di accertarsi che anche le plastiche più pesanti (come PET e PVC), che possono essere presenti nella colonna d'acqua durante il loro processo di affondamento o di risospensione dal fondo, vengano efficacemente isolate. I campioni sono quindi lasciati a decantare per almeno 24 h e il surnatante è filtrato su filtri in nitrato di cellulosa con porosità 8 μm per mezzo di filtratori in vetro e pompe a vuoto.

I tratti gastrointestinali conservati a -20 °C vengono lasciati scongelare brevemente a temperatura ambiente sotto cappa a flusso laminare e quindi trasferiti in becher puliti. Qui vengono sminuzzati con forbici da dissezione pulite e incubati con KOH 10% (w/v) per 48-72 ore a 40 °C per la digestione dei tessuti e del contenuto organico dello stomaco. Al termine della digestione i campioni vengono filtrati su filtri in nitrato di cellulosa con porosità 8 μm per mezzo di filtratori in vetro e pompe a vuoto. Il filtro viene successivamente ulteriormente pulito dalla sostanza organica residua tramite l'incubazione con pochi millilitri di H_2O_2 15% (v/v) lasciati asciugare in stufa a 40° (aggiunti goccia a goccia fino alla saturazione del materiale). Il protocollo è un adattamento di quello già utilizzato per l'identificazione di microplastiche ingerite dal pesce persico (Galafassi et al., 2021) e le modifiche apportate sono principalmente mirate ad eliminare ogni possibile perdita di microplastiche.

I filtri, scrupolosamente conservati in piastre Petri di vetro, sono osservati allo stereomicroscopio e le particelle dalle caratteristiche simili alle plastiche vengono trasferiti su filtri in nitrocellulosa puliti e rinchiusi in due vetrini portaoggetto. La caratterizzazione morfo-dimensionale delle plastiche isolate è stata fatta tramite fotocamera montata sullo stereomicroscopio e il suo software in dotazione. La caratterizzazione chimica è stata fatta tramite IRAffinity-1S (Shimadzu) dotato di un ATR in diamante. L'intervallo spettrale acquisito è 600 - 4000 cm^{-1} e la risoluzione

spettrale utilizzata è di 4.0 cm^{-1} . L'identificazione è stata fatta tramite ricerca nelle librerie di spettri con materiali standard in dotazione allo strumento e arricchite di spettri di microplastiche isolate dall'ambiente. La corretta assegnazione è stata verificata particella per particella da un operatore dopo attenta analisi dello spettro e match con similarità inferiori al 70% non sono comunque state considerate valide.

Prevenzione della contaminazione

Per minimizzare il rischio di contaminazioni tutto il materiale utilizzato in laboratorio è in vetro o acciaio, gli operatori hanno indossato camici in cotone e, se necessario, guanti in lattice naturale. Tutte le superfici e gli oggetti sono stati scrupolosamente lavati con acqua deionizzata filtrata subito prima dell'uso. I setacci sono stati puliti con cicli di sonicazione di 2-3 min dopo ogni utilizzo e nuovamente abbondantemente lavati con acqua deionizzata filtrata prima dell'utilizzo successivo. Le soluzioni utilizzate (H_2O_2 al 15% e KI saturo) sono state filtrate prima dell'uso. Quotidianamente, bianchi di processo sono stati effettuati per verificare la presenza di contaminazione e le eventuali plastiche trovate su questi filtri sono state sottratte dai conteggi di plastiche dalle caratteristiche simili trovate nei campioni processati in quella giornata. Tutte le operazioni sono state svolte sotto cappa a flusso laminare, eccetto l'osservazione dei campioni allo stereomicroscopio, step per il quale sono stati allestiti ulteriori controlli appostiti.

Bibliografia

- Binelli, A., Della Torre, C., Nigro, L., Riccardi, N., Magni, S. 2022. A realistic approach for the assessment of plastic contamination and its ecotoxicological consequences: A case study in the metropolitan city of Milan (N. Italy). *Science of the Total Environment*, 806: 150574.
- Galafassi, S., Sighicelli, M., Pusceddu, A., Bettinetti, R., Cau, A., Temperini, M. E., Gillibert, R., Ortolani, M., Pietrelli, L., Zaupa, S., Volta, P. 2021. Microplastic pollution in perch (*Perca fluviatilis*, Linnaeus 1758) from Italian south-alpine lakes. *Environmental Pollution*, 288, 117782.
- Magni, S., Binelli, A., Pittura, L., Avio, C.G., Della Torre, C., Parenti, C.C., Gorbi, S., Regoli, F., 2019. The fate of microplastics in an Italian wastewater treatment plant. *Science of the Total Environment* 652: 602-610.
- Magni, S., Nigro, L., Della Torre, C., Binelli, A. 2021. Characterization of plastics and their ecotoxicological effects in the Lambro River (N. Italy). *Journal of Hazardous Materials*, 412: 125204.
- Magni, S., Della Torre, C., Nigro, L., Binelli, A. 2022. Can COVID-19 pandemic change plastic contamination? The case study of seven watercourses in the metropolitan city of Milan (N. Italy). *Science of the Total Environment*, 831: 154923.

2. CAPITOLO 2: PROGETTO PILOTA PER IL MONITORAGGIO DI FAUNA MACROINVERTEBRATA E FAUNA INTERSTIZIALE BENTONICA ANCHE INVASIVA NEL LAGO MAGGIORE TRAMITE APPROCCI MORFO-MOLECOLARI

2.1 PRESENZA E DISTRIBUZIONE DI FAUNA MACROINVERTEBRATA INVASIVA: METODI DI CAMPIONAMENTO E ANALISI

Campionamento

Nel 2022 si è provveduto a richiedere i permessi di pesca a scopo scientifico al Commissariato italiano per la Convenzione italo-svizzera sulla Pesca, all'Ente di Gestione delle Aree Protette del Ticino e del Lago Maggiore, al Parco Lombardo del Ticino e alla Fondazione Bolle di Magadino. Il campionamento per la verifica della presenza e il monitoraggio della distribuzione di specie di macroinvertebrati invasivi è stata effettuata tramite nasse ad inganno (Figura A2.1). Si tratta di una tecnica che presenta innumerevoli vantaggi: permette la cattura contemporanea di individui giovani e adulti, la loro facile estrazione per la presenza di una cerniera, l'innesco può avvenire dall'esterno per la presenza di una tasca porta-esca, l'ancoraggio è facilitato poiché può avvenire a qualsiasi substrato tramite filo di nylon.

I siti di campionamento sono stati caratterizzati dal punto di vista ambientale descrivendone le principali peculiarità compilando una scheda di campo utile ai fini delle successive analisi statistiche. La metodologia dettagliata è disponibile in Beghi et al. 2019 e Garzoli et al. 2020.

Tutti e i 25 siti selezionati sono stati considerati idonei alla colonizzazione da parte dei gamberi dopo ispezione, in quanto presentavano arbusti, radici esposte e macrofite sommerse. Tutti i siti sono facilmente raggiungibili da riva.

Tutti gli individui di gambero raccolti sono stati trasferiti in laboratorio in contenitori di plastica e congelati per lo svolgimento delle successive analisi morfometriche.



Figura A2.1 Nassa ad inganno caratterizzata da due ingressi ad imbuto, chiusura a molla, tasca porta-esca, cerniera per la fuoriuscita degli organismi, filo di nylon per attacco. Dimensioni da aperta = 30x60 cm, dimensioni da chiusa: 30x2,5 cm, diametro: 14,5 cm, dimensioni maglie: 1x1 cm..

Metodi di laboratorio

L'attività di laboratorio svolta sui gamberi è consistita nella valutazione di:

- Sesso (M ♂, F ♀),
- TL - Lunghezza Totale (espressa in cm) – distanza tra punta del rostro e margine terminale del telson,
- CCL - Lunghezza cefalo torace (cm) ossia della parte rostro-cervicale del carapace,
- CW - ampiezza del torace (cm) ossia larghezza del carapace,
- CheW S - dissimmetria chele Sx (g) ossia peso della chela sinistra,
- CheW D - dissimmetria chele Dx (g) ossia peso della chela destra,
- TW - peso totale (g) dell'individuo

Uno schema esemplificativo delle misure effettuate è visibile in figura A2.2.

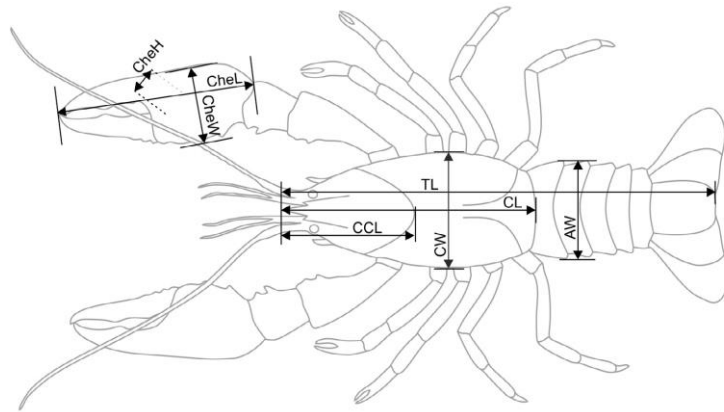


Figura A2.2 Misurazioni effettuate sugli esemplari catturati di gambero invasivo: TL= lunghezza totale del corpo, CL = lunghezza cefalo-torace, CW = ampiezza torace, CheW = Peso delle chele (destra e sinistra, separatamente), TW = Peso dell'individuo (Vlach & Valdmanová, 2015 modificata).

Queste misure sono state prese su ogni individuo riscontrato nelle stazioni indagate, per raccogliere i primi dati morfometrici relativi alle diverse specie (come indicato in Vlach & Valdmanová 2015). Ogni individuo di ogni specie è stato pesato con bilancia digitale e misurato con un calibro con la precisione di 0,1 mm. I dati misurati sono stati ulteriormente analizzati nelle loro forme relative come rapporti: rapporto tra lunghezza e ampiezza del carapace e tra peso della chela sinistra rispetto alla destra (in %).

2.2 PRESENZA E DISTRIBUZIONE DI FAUNA INTERSTIZIALE BENTONICA

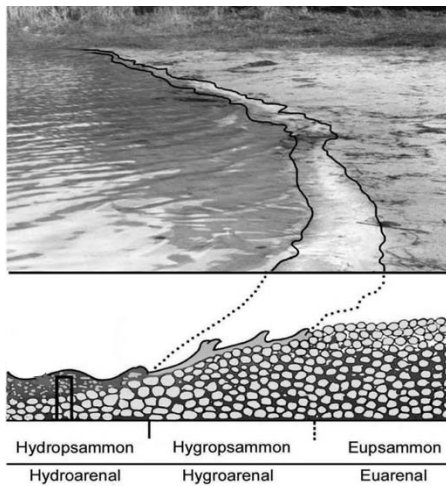


Figura A.2.2. In alto, linee di divisione delle tre zone del psammolitorale lacustre. In basso, schema delle tre zone dello psammolitorale lacustre, con relativa schematizzazione delle caratteristiche dei sedimenti. Figura modificata da Ejsmont-Karabin (2008).

Campionamento

Wiszniewski (1934 b; 1937) ha suddiviso il litorale sabbioso dei laghi in tre tipologie di habitat (*hydro-*, *hygro-* ed *euarenal*) e il relativo assemblaggio biologico in tre categorie (*hydro-*, *hygro-* ed *eupsammon*). L'*hydroarenal* è lo strato di sabbia permanentemente sommerso; l'*hygroarenal* è lo strato di sabbia costantemente bagnato dalle onde ma mai del tutto sommerso; l'*euarenal* è lo strato di sabbia permanentemente emerso, non lambito dalle onde (Fig. A.2.2). L'*hydroarenal* è sempre bagnato e saturo, l'*hygroarenal* è completamente saturo di acqua capillare mentre l'*euarenal* è solo parzialmente saturo di acqua capillare. L'*hydroarenal* è l'habitat meno esposto a variazioni ambientali mentre l'*euarenal* è soggetto a forti variazioni giornaliere di temperatura e di umidità.

È stato effettuato un campionamento quantitativo, usando una siringa con bordi taglienti e diametro di 5 cm per prelevare una carota di sabbia di 3 cm dall'*euarenal* e dall'*hygroarenal*. La lunghezza della carota è stata dettata dalla tipologia di campionamento dei microinvertebrati effettuato durante il progetto Interreg PVT, che è consistito nel turbare con i piedi 3/5 cm di substrato dell'*hydroarenal*, il sedimento portato in sospensione è stato prelevato e filtrato con una rete con maglie di 60 µm. La sabbia delle carote (59 cm³) prelevate sono state mescolate brevemente ma energicamente sul campo con acqua di rubinetto. Il surnatante è stato filtrato sul campo utilizzando una rete con maglie di 60 µm e fissato in una soluzione alcolica al 70%.

Bibliografia

- Beghi A., Gariboldi L., Boggero A., Riccardi N., Genoni P. 2019. SPecie Alloctone invasive nel bacino del Lago Maggiore (SPAM). Programma triennale 2016-2018. Rapporto finale. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere, 164 pp.
- Ejsmont-Karabin, J. (2008). Vertical microzonation of psammon rotifers (Rotifera) in the psammolittoral habitat of an eutrophic lake. *Pol. J. Ecol*, 56(2), 351-357.
- Garzoli L., Mammola S., Ciampittiello M., Boggero A. 2020. Alien Crayfish Species in the Deep Subalpine Lake Maggiore (NW-Italy), with a Focus on the Biometry and Habitat Preferences of the Spiny-Cheek Crayfish. *Water* 12: 1391.
- Vlach P., Valdmanová L. 2015. Morphometry of the stone crayfish (*Austropotamobius torrentium*) in the Czech Republic: allometry and sexual dimorphism. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 416: 16p12.

- Wiszniewski J., 1934. Les rotifères psammiques. In Annales musei zoologici Polonici. nakł. Państwowego Muzeum Zoologicznego.
- Wiszniewski J., 1937. Differenziazione ecologica dei rotiferi nello psammon d'acqua dolce. In Annales Musei Zoologici Polonici (Vol. 13, N. 1, pp. 1-13). nakł. Państwowego Muzeum Zoologicznego.

Unità di misura

PARAMETRI FISICI	SIMBOLO	UNITÀ DI MISURA
Temperatura atmosferica	T_a	[°C]
Temperatura dell'acqua	T_w	[°C]
Precipitazioni	P	[mm]
Giorni piovosi		n° giorni > 0,9 mm
Portata	Q	[m ³ s ⁻¹]
Altezza idrometrica	H	[m s.l.m.]
Trasparenza	-	[m]
Velocità vento		[m s ⁻¹]
Direzione vento		° o settore
Contenuto di calore	H_{tot} (H_{mix} ; H_{hypo})	[MJ m ⁻²]
Stabilità termica	S_t	[J m ⁻³]
Flussi di calore	-	[cal cm ⁻² d ⁻¹]

PARAMETRI CHIMICI	SIMBOLO	UNITÀ DI MISURA
Ossigeno disciolto	O_2	[mg O ₂ L ⁻¹]
Fosforo totale	PT	[μg P L ⁻¹]
Fosforo reattivo	PR	[μg P L ⁻¹]
Azoto ammoniacale	N-NH ₄	[μg N L ⁻¹]
Azoto nitrico	N-NO ₃	[μg N L ⁻¹]
Azoto inorganico	Nin.	[μg N L ⁻¹]
Azoto organico	Norg	[μg N L ⁻¹]
Azoto totale	NT	[μg N L ⁻¹]
Apporti areali	-	[mg m ⁻² a ⁻¹]
Carichi	-	[t a ⁻¹]
Conducibilità elettrica specifica	-	[μS cm ⁻¹] (a 20°C)
Concentrazione idrogenionica	pH	[u]
Alcalinità totale	-	[meq L ⁻¹]
Silicati reattivi	SiO ₂	[mg Si L ⁻¹]

PARAMETRI BIOLOGICI	SIMBOLO	UNITÀ DI MISURA
Clorofilla- <i>a</i>	chl- <i>a</i>	[μg L ⁻¹]
Biomassa fitoplancton	-	[mm ³ m ⁻³]
Biomassa zooplancton	-	[mm ³ m ⁻³]
Densità zooplancton	-	[ind m ⁻³]
Carbonio organico totale	TOC	[mg L ⁻¹]
Particelle esopolimeriche trasparenti	TEP	[μg C L ⁻¹]
Picocianobatteri	Pcy	[cell ml ⁻¹]

ELENCO DEGLI AUTORI E COLLABORATORI

RESPONSABILE SCIENTIFICO DELLA RICERCA

Diego Fontaneto
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza
diego.fontaneto@cnr.it
<https://publications.cnr.it/authors/diego.fontaneto>

ELENCO DEGLI AUTORI IN ORDINE ALFABETICO

Andrea Binelli, Angela Boggero, Marzia Ciampittiello, Tiziana Di Lorenzo, Silvia Galafassi, Laura Garzoli, Lyudmila Kamburska, Stefano Magni, Jordi Renè Mor, Raffaella Sabatino, Riccardo Sbarberi, Agostina Tabilio Di Camillo, Silvia Zaupa

INDIRIZZO DI RIFERIMENTO DEGLI AUTORI

Andrea Binelli
Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Bioscienze, Via Celoria 26, 20133
Milano
andrea.binelli@unimi.it
<https://www.unimi.it/it/ugov/person/andrea-binelli>

Angela Boggero
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza
angela.boggero@cnr.it
<https://publications.cnr.it/authors/angela.boggero>

Tiziana Di Lorenzo
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri
(IRET), Via Madonna del Piano 10, 50019 Sesto Fiorentino
tiziana.dilorenzo@cnr.it
<https://publications.cnr.it/authors/tiziana.dilorenzo>

Silvia Galafassi
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza
silvia.galafassi@cnr.it
<https://publications.cnr.it/authors/silvia.galafassi>

Laura Garzoli
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza

laura.garzoli@cnr.it
<https://publications.cnr.it/authors/laura.garzoli>

Lyudmila Kamburska
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza
lyudmila.kamburska@irsa.cnr.it
<https://publications.cnr.it/authors/lyudmilatorova.kamburska>

Stefano Magni
Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Bioscienze, Via Celoria 26, 20133
Milano
stefano.magni@unimi.it
<https://www.unimi.it/it/ugov/person/stefano-magni>

Jordi Renè Mor
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza
jordi.mor@irsa.cnr.it
<http://www.meg.irsa.cnr.it/index.php/people/post-doc-and-research-ass/jordi-rene-mor>

Raffaella Sabatino
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza
raffaella.sabatino@irsa.cnr.it
<http://www.meg.irsa.cnr.it/index.php/people/post-doc-and-research-ass/raffaella-sabatino>

Riccardo Sbarberi
Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Bioscienze, Via Celoria 26, 20133
Milano

Agostina Tabilio Di Camillo
Università degli Studi dell'Aquila

Silvia Zaupa
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto di Ricerca Sulle Acque (IRSA),
Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza
silvia.zaupa@irsa.cnr.it