



Progetto Interreg Parchi Verbano Ticino
Rapporto finale
Partner CNR-IRSA
giugno 2019 – dicembre 2022

a cura di: Angela Boggero¹

¹Consiglio Nazionale delle Ricerche-Istituto di Ricerca Sulle Acque (CNR-IRSA), Verbania (VB)

Verbania, Dicembre 2022



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

Boggero A. (ed). 2022. *Il Lago Maggiore, il fiume Ticino sublacuale e le aree naturali protette. Verifica e sperimentazione di scenari di gestione sostenibili e condivisi*. Rapporto finale 2019-2022. Partner CNR-IRSA: 95 pp.



Riassunto

Le acque del Lago Maggiore sono sempre state considerate una risorsa idrica molto importante per tutta la Pianura Padana dove assumono un ruolo rilevante per gli scopi potabili, idroelettrici, turistici, ma anche per lo sviluppo di pesca e acquacoltura e per i trasporti via acqua. Il lago, infatti, ha carattere transfrontaliero (condiviso tra Italia e Svizzera, Piemonte e Lombardia), ed è soggetto ad esigenze contrastanti fra i fruitori di monte e di valle, che rendono complessa e basilare una gestione adeguata delle sue acque.

I primi dibattiti sulla regolazione dei livelli del lago iniziano nel 1861, quando si pensò di convertire il lago in una diga per aumentare la disponibilità di acque irrigue e per mitigare le escursioni di livello del Fiume Ticino emissario. Infatti, le piene del fiume costituivano un problema per le popolazioni di valle, mentre grazie all'innalzamento dei livelli minimi riversati nel fiume si mitigavano gli effetti delle sue magre, contribuendo a rispettare gli interessi agricoli, idro-elettrici e industriali. In anni recenti, i sempre più frequenti eventi estremi hanno richiesto a volte l'estensione dell'innalzamento del livello del lago anche al periodo primaverile-estivo. Nel 2019, è stato quindi avviato il Programma INTERREG di Cooperazione Italia-Svizzera Progetto Parchi del Verbano Ticino per rispondere all'aumento della domanda idrica da parte degli stakeholder nei confronti dei gestori delle risorse idriche del Lago Maggiore.

Obiettivo specifico del progetto è lo sviluppo di strategie attuative comuni per la gestione condivisa e sostenibile delle acque, con particolare riferimento alle aree naturali protette (siti della Rete Natura 2000 in Italia e siti della Rete Smeraldo in Svizzera). Attraverso la promozione della conservazione di queste aree naturali protette, l'obiettivo del progetto è quello di migliorare il benessere umano, favorendo allo stesso tempo approcci innovativi allo sviluppo economico ed ambientale sostenibile dell'area. Tale Progetto prende in considerazione gli eventuali effetti sulla fauna bentonica (sia macrofauna che meio-fauna). Scopo specifico del lavoro era proporre da un lato un protocollo standard multidisciplinare integrato (con caratterizzazione degli aspetti idromorfologici e chimici abbinata ad approcci tassonomici e funzionali applicati a macro e meiofauna) per evidenziare gli eventuali aumenti di stress legati ai cambiamenti di livello su diversi aspetti ecologici della fauna bentonica e sui molluschi bivalvi in particolare. Per raggiungere questo scopo, è stata implementata e adattata al contesto italiano la versione originale del Lake Habitat Survey (LHS) per la valutazione dello stato idro-morfologico dell'intera conca lacustre, sono state considerate caratteristiche quali dimensioni corporee, biomassa e tipologie di stadi acquatici della macrofauna rappresentative delle condizioni di stress all'interfaccia acqua/sedimento, e della meiofauna rappresentativa dello stress all'interfaccia superficie/sub-superficie del sedimento.

WP2 - Comunicazione: l'idea progettuale, la sua applicazione, il suo stato di avanzamento e i risultati inerenti la zona litorale del Lago Maggiore e gli effetti sulla macro- e la meio-fauna nel loro complesso sono stati divulgati con giornate formative/informative presso scuole secondarie di primo e secondo grado delle città di Firenze e Verbania, presso i cittadini di Verbania in due giornate dedicate, presso l'Università di Firenze, durante un evento congiunto di due Progetti Interreg: Progetto SIMILE e Progetto Parchi Verbano Ticino, presso l'Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri del CNR e presso tutti gli operatori dei parchi coinvolti nel progetto anche solo a titolo volontario.

È stato pubblicato il protocollo di campionamento multidisciplinare integrato su rivista scientifica, così come le prime indagini e i risultati preliminari del progetto inerenti la meio-fauna e, in particolare, il taxon Copepoda, sono stati oggetto di due pubblicazioni scientifiche. Pubblicazioni divulgative del progetto sono state prodotte su due riviste locali (ossia del Verbano Cusio Ossola), mentre due



pubblicazioni divulgative sono state dedicate ad argomenti più generali, ossia gli invasi e il loro futuro, e la crisi idrica del 2022 con possibili prospettive di soluzioni naturali.

WP4 - Valutazione degli effetti delle variazioni dei livelli sul sistema lago attraverso nuovi indicatori: la valutazione degli effetti delle fluttuazioni di livello sulla **macro-fauna** è stata applicata ai soli Ditteri Chironomidi, principali rappresentanti della fascia litorale e sempre presenti in numero elevato. Per eseguire la valutazione, sono stati analizzati parametri come ricchezza e abbondanza, e parametri quali biomassa e lunghezza corporea. L'abbondanza (numero di individui) e la diversità (numero di taxa) di questa famiglia, risultano essere più elevate in presenza di livelli alti del lago, mentre tendono a diminuire quando il lago si presenta con livelli più bassi o medi, forse perché gli organismi mal si adattano a fluttuazioni di livello di tipo discontinuo o all'azione delle onde. Durante i periodi di minimo invaso e in presenza di periodi di asciutta, la comunità tende a cambiare, mostrando la dominanza di specie di piccole dimensioni (ad es. *Cladotanytarsus*) che sembrano adattarsi meglio alle bassi livelli del lago. Al contrario, in presenza di alti livelli del lago o in habitat permanentemente bagnati, sono presenti specie che raggiungono dimensioni maggiori. Anche le curve di crescita ribadiscono che a livelli più bassi del lago si trovano specie più piccole a crescita più veloce, mentre a livelli maggiori si trovano organismi che raggiungono dimensioni maggiori e a crescita più lenta. Queste variazioni dimensionali incidono sulla rete trofica e sui flussi di energia: infatti, in presenza di grandi individui, i predatori potranno catturare meno prede per ottenere lo stesso input energetico, ma questo dipende dal valore nutrizionale delle grandi prede rispetto a quello delle piccole prede.

L'analisi della **meio-fauna** evidenzia che le variazioni del livello idrico del lago rimodellano la composizione e la funzionalità della comunità litorale. I taxa che sono influenzati in modo negativo sono Copepodi, Ostracodi, Acari e Ditteri Chironomidi. Le abbondanze di tali taxa diminuiscono durante il periodo di livello più basso, quando il substrato è più disturbato dall'azione delle onde. I Nematodi e gli Oligocheti sono, invece, tra i taxa più resistenti e presentano maggiori abbondanze durante livelli bassi del lago, forse anche a causa della ridotta competizione. Inoltre, le analisi sullo psammon mettono in evidenza che tali taxa riescono a trovare rifugio durante i periodi di livello più basso infossandosi nei sedimenti. I Copepodi invece tendono, probabilmente, a spostarsi verso la zona pelagica per allontanarsi dalla zona di disturbo. Due specie di copepodi, *Paracyclops fimbriatus* e *Attheyella crassa* sembrano resistere meglio delle altre alle variazioni di livello, probabilmente perché hanno una dieta onnivora che consente loro di sfruttare una nicchia trofica più ampia.

Le condizioni idriche, tuttavia, non sono state tali, nei due anni di monitoraggio, da erodere completamente delle classi funzionali. Ciò suggerisce un'alterazione lieve/moderata della struttura e composizione delle comunità, ma non è da escludersi che eventuali esacerbazioni dei periodi di siccità possano rendere più severa l'alterazione delle comunità analizzate.

Per quanto riguarda i **Molluschi**, il popolamento del lago è dominato da specie invasive, mentre scarsi sono gli Unionidi, sia nativi che invasivi. Le variazioni spazio-temporali non mostrano alcuna tendenza correlabile alla gestione dei livelli, ma è evidente una tendenza al declino generale di tutte le popolazioni native. Le variazioni del livello del lago influiscono sul regime termico degli strati d'acqua influenzando sia la presenza di malattie parassitarie che la capacità riproduttiva dei bivalvi. Le riduzioni del livello inducono mortalità massive di molluschi rimasti all'asciutto esposti a temperature elevate, ma l'innalzamento dei livelli può abbassare le temperature a cui i bivalvi sono normalmente esposti limitandone la riproduzione. Alcune specie native risultano parassitate da Trematodi castratori che ne riducono il potenziale riproduttivo: l'abbassamento delle temperature indotto da livelli alti



sembra favorire *Unio elongatulus* in quanto sia la percentuale di femmine che la percentuale di individui non parassitati aumentano al decrescere della temperatura.

Gli esperimenti effettuati esponendo *Unio elongatulus* a incrementi di livello in assenza o con modesti movimenti delle acque non hanno sollecitato alcuna variazione rispetto alle frequenze valvometriche corrispondenti al comportamento “normale”, per tale ragione questa risposta non risulta un indicatore efficace. Le risposte alle variazioni rapide di temperatura hanno evidenziato che i bivalvi reagiscono solamente all’incremento delle temperature, mentre non mostrano alcuna risposta alle riduzioni di temperatura entro l’intervallo rappresentativo delle variazioni stagionali del Lago Maggiore, quindi anche questa risposta non produce informazioni utili alla valutazione degli impatti della gestione delle acque. Tuttavia, la gestione artificiale dei livelli amplia l’intervallo naturale delle fluttuazioni stagionali, producendo impatti legati all’alternanza di inondazione/essiccamento delle aree colonizzate dai bivalvi portandoli a spostarsi verso zone inondate dove restano intrappolati durante la riduzione del livello ed esponendoli a incrementi di temperatura e ad essiccamento. Per valutare i potenziali effetti di questo scenario, sono stati condotti esperimenti per stabilire livelli di tolleranza ad incrementi acuti e cronici di temperatura, ma i risultati sono ancora in fase di elaborazione.

Dal punto di vista **chimico**, la variabilità temporale del chimismo delle acque è limitata e si mantiene abbastanza stabile in una stessa stazione. Il fosforo presenta valori più elevati nella stazione di Magadino, mentre l’azoto nitrico mostra una maggior variabilità stagionale, probabilmente in relazione alle precipitazioni. Infine, si può osservare come i siti asciutti e bagnati di una medesima stazione (ad esclusione di Magadino) non presentano differenze evidenti né per quanto riguarda i soluti né per i nutrienti.

Dalle prime analisi sugli habitat presenti tramite analisi **idro-morfologiche**, con livelli di lago basso, si è notata una maggior presenza di specie vegetali e di zone ad elevata diversificazione di habitat (spiagge, rocce, canneti, cespugli, erbe alte, materiale grossolano depositato). Questi si riducono con l’aumento dei livelli, fino ad una riduzione drastica del numero di habitat utilizzabili dalle diverse biocenosi litorali, in caso di livelli molto alti come durante i periodi primaverili. Infatti, come già osservato in studi analoghi, la permanenza di livelli troppo alti nelle aree litorali porta ad una omogeneizzazione e banalizzazione degli habitat con conseguente perdita di biodiversità e di servizi ecosistemici.

WP5 - Valutazione degli effetti delle variazioni dei livelli sul sistema fiume attraverso nuovi indicatori: L’analisi del DNA ambientale prelevati nel bacino del Lago Maggiore per la verifica della presenza di popolazioni residue di *Microcondylaea bonellii* ha dato un unico risultato positivo nei pressi del ponte della ferrovia a Pavia, ma, non è stato possibile valutarne l’abbondanza e lo stato di conservazione in quanto non è stata trovata. La sua presenza è comunque sufficiente per il suo inserimento nella scheda di rischio IUCN modificandone lo stato da “Vulnerabile” a “In pericolo critico”. È importante considerare che, anche tutte le altre specie native italiane di bivalvi d’acqua dolce saranno incluse in categorie di rischio molto elevato e poiché molte di esse sono presenti nel bacino del lago, è importante che vengano pianificate ed implementate azioni di conservazione per prevenire/contrastare il rischio di estinzione correlato ad una gestione dei livelli non adeguata al mantenimento di habitat idonei alla sopravvivenza e all’automantenimento delle popolazioni.





Premessa

Le acque dolci costituiscono risorse di importanza fondamentale che forniscono servizi ecosistemici utili all'uomo. I benefici includono l'approvvigionamento idrico (agricoltura, allevamento e industria, produzione di energia idroelettrica), risorse alimentari come pesca e acquacoltura, navigazione e trasporti per via d'acqua. Le acque dolci contribuiscono anche all'economia locale attraverso il turismo e le attività ricreative, sfruttando valori estetici e paesaggistici. Sfortunatamente, il degrado della qualità dell'acqua nelle sue varie forme (inquinamento, acidificazione, prelievo idrico, introduzione di specie aliene, ecc.) è un problema sempre più diffuso. Fra di essi, le fluttuazioni del livello dell'acqua indotte dall'uomo sono diventate una delle pressioni idromorfologiche che minacciano gravemente l'integrità ecologica degli ecosistemi e influenzano notevolmente la rete trofica e la struttura delle comunità litorali. In generale, i cambiamenti del livello di un lago naturale o di un invaso possono verificarsi come conseguenza di cambiamenti climatici, di attività tettonica, di erosione all'emissario o di attività umane. Il livello dell'acqua di un sistema lacustre, in assenza di attività tettonica, erosione allo sbocco o influenza umana, rappresenta uno stato di equilibrio tra: (a) input (deflusso del bacino e afflusso di acque sotterranee) e (b) output (evaporazione e infiltrazioni nel sottosuolo), e le azioni indotte dall'uomo attraverso l'aumento o la diminuzione del flusso naturale delle acque in uscita da un lago, possono portare ad un disequilibrio fra queste due fasi. In questo specifico studio, abbiamo considerato il Lago Maggiore come caso particolare in quanto rappresenta la principale risorsa idrica internazionale della Regione Insubrica, caratterizzata sia dalla presenza di Aree Protette, Siti Natura 2000 italiani e siti appartenenti alla Rete Smeraldo svizzera che da siti antropizzati e urbanizzati. Obiettivo generale del progetto Interreg Parchi Verbano Ticino, lanciato nel 2019 per un periodo di tre anni, era quello di trovare una visione di intenti comune nella gestione delle acque fluvio-lacustri, volta alla tutela degli ecosistemi litorali e spondali e di tutte le attività economiche e sociali che si sono e si potranno sviluppare intorno ad esso.

Obiettivo specifico del progetto per il partner CNR-IRSA, era quello di verificare gli impatti di diverse modalità di regolazione dei livelli del lago sulle biocenosi rivierasche all'interno di aree protette. Il progetto mirava quindi a dimostrare il rapporto tra strutture di gestione e politiche dell'acqua e ad esaminare meccanismi di gestione in grado di superare le frammentazioni politiche per migliorare la qualità degli ecosistemi acquatici. Tra gli organismi studiati si sono considerati i macroinvertebrati, i molluschi con analisi di dettaglio, e la meiofauna.

I macroinvertebrati sono stati utilizzati come bioindicatori utili a rilevare impatti antropici attraverso l'analisi degli eventuali effetti su distribuzione, diversità e abbondanza di taxa con cicli di sviluppo relativamente lunghi. Al contrario, l'uso della meiofauna come strumento di biomonitoraggio è rimasto in gran parte inesplorato sino ad oggi nonostante servano, insieme ai macroinvertebrati, da collegamento tra i livelli trofici primari e superiori contribuendo al flusso di energia all'interno di un ecosistema.

Si riportano di seguito tutti i WP e tutte le azioni in cui il CNR-IRSA è coinvolto con esplicitazione delle attività svolte al loro interno sia da parte della sola responsabile d'Istituto che da parte di tutti gli altri collaboratori del progetto.



WP1 Coordinamento e gestione

1.2 Scambio informativo interno e confronto partenariale

La responsabile di progetto ha partecipato a diverse riunioni del comitato di pilotaggio (22/03/2019, 10/10/2019, 25/01/2021, 15/07/2021, 26/02/2022, 06/12/2022) indette dal capofila, per discutere a seconda delle occasioni di temi quali: la partenza del progetto, la costituzione del comitato di pilotaggio stesso, l'avanzamento lavori, problematiche inerenti il contingentamento causa covid 19, il raggiungimento del target di progetto relativo al budget, le criticità emerse relative al campionamento e a lavori di risistemazione di un laboratorio, la proroga del progetto in seguito all'emergenza covid, le attività di rendicontazione finali.

Ha inoltre indetto riunioni interne al CNR (26/02/2020, 07/09/2020, 15/12/2020, 03/02/2021, 07/07/2021, 11/11/2021, 05/08/2022, 16/12/2022) per discutere delle metodiche di campionamento applicate sia per macro che per meio-fauna, delle metodiche di analisi dei campioni da effettuare in laboratorio, dell'organizzazione delle uscite di campagna in periodo di emergenza, della suddivisione del budget fra collaboratori interni, delle spese già affrontate e di quelle da prevedere in futuro, della produzione di materiale informativo e di pubblicazioni, delle analisi statistiche relative a diversi ambiti (chimico, idro-morfologico, biologico, etc). A tali riunioni hanno partecipato i collaboratori nella quasi totalità delle persone. Altre brevi riunioni si sono svolte fra due/tre collaboratori per discutere di attività specifiche.

Infine, il CNR-IRSA ha partecipato a 11 rendicontazioni, tutte approvate.



WP2. Attività di divulgazione

2.3 Organizzazione di giornate formative

- 12/06-09/07/2019 Verbania - Presentazione del Progetto Interreg Parchi Verbanico Ticino a scuole del VCO e illustrazione delle tecniche di campionamento e smistamento di macrofauna invertebrata – presentazione orale
- 09-13/09/2019 Firenze - Presentazione del Progetto Interreg Parchi Verbanico Ticino a scuole della città e illustrazione delle tecniche di smistamento di meiofauna
- 10/10/2019 Cameri (NO) – Kick off meeting Progetto Interreg Parchi Verbanico Ticino – presentazione orale
- 04/12/2019 Verbania – Evento congiunto all’interno della giornata di presentazione del *Progetto SIMILE: Tecnologia e innovazione per i laghi dell’area insubrica* per favorire l’integrazione fra progetti Interreg I-CH - presentazione orale
- 01-15/02/2021 Firenze – Tirocinio curricolare per uno studente dell’Università degli Studi di Firenze (corso di laurea magistrale in Biotecnologie la gestione ambientale e l’agricoltura sostenibile) con presentazione del progetto Interreg PTV e metodiche pratiche di analisi dei tratti di risposta e di effetto della meiofauna bentonica litorale del Lago Maggiore.
- 23/03-10/04/2021 Firenze – Tirocinio curricolare per uno studente dell’Università degli Studi di Firenze (corso di laurea in Scienze naturali, presso la Scuola di Scienze matematiche, Fisiche e Naturali) con presentazione del progetto Interreg PTV e metodiche pratiche di analisi dei tratti di risposta e di effetto della meiofauna bentonica litorale del Lago Maggiore.
- 26/05/2021 Firenze – Journal day organizzato da CNR-IRET e dedicato alle attività Interreg PVT su meiofauna – presentazione orale
- 10/01-09/03/2022 Firenze – Tirocinio curricolare per uno studente dell’Università degli Studi di Firenze (corso di laurea in Scienze Faunistiche, presso la Scuola di Agraria) con presentazione del progetto Interreg PTV e metodiche pratiche di analisi dei tratti di risposta e di effetto della meiofauna bentonica litorale del Lago Maggiore.
- 22/03/2022 Verbania – Giornata Mondiale dell’Acqua: *Un progetto a sostegno della biodiversità bentonica litorale influenzata dalla gestione dei livelli delle acque lacustri* – poster
- 24/04/2022 Verbania - Giornata Mondiale della Terra con presentazione al pubblico generico del progetto Interreg PTV e delle attività che si sono svolte sui litorali
- 13/06-09/09/2022 Verbania - Stage formativo per uno studente dell’Università degli Studi di Milano Bicocca con presentazione del progetto Interreg PTV, attività di campo e di laboratorio relative ad analisi della fauna bentonica litorale del Lago Maggiore.
- 01/08/2022-15/02/2023 Verbania - Stage professionalizzante per un libero professionista con presentazione del progetto Interreg PTV, attività di laboratorio e analisi statistiche relative alla fauna bentonica litorale del Lago Maggiore.



- 08-09/09/2022 Firenze - Seconda Conferenza dell'Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri del CNR: *Effetti delle variazioni di livello del Lago Maggiore sulla meiofauna della zona litorale* – poster.
- 28-29/11/2022 Verbania - Presentazione del Progetto Interreg Parchi Verbano Ticino e dei suoi principali risultati a scuole del VCO.

2.4 Partecipazione a Congressi nazionali e internazionali

30/06-02/07/2021 – XXV Congresso Associazione Italiana Oceanografia e Limnologia

- Boggero A., Kamburska L., Zaupa S., Paganelli D., Rogora M., Ciampittiello M., Cifoni M., Di Lorenzo T. 2021. *Synoptic research on the potential impacts of water management strategy on Lake Maggiore ecosystem (NW, Italy): the Interreg project PVT* – poster
- Kamburska L., Zaupa S., Paganelli D., Boggero A. 2021. *Size structure and body mass of Chironomid larvae under different water level management in the temperate deep subalpine Lake Maggiore (NW Italy)* - poster
- Cifoni M., Boggero A., Galassi D.M.P., Rogora M., Ciampittiello M., Fiasca B., Di Lorenzo T. 2021. *Assessing the effects of water level variations on the copepod assemblages of the littoral zone of Lake Maggiore* – presentazione orale

25-30/07/2021 - 12th Symposium for European Freshwater Sciences

- Kamburska L., Zaupa S., Ciampittiello M., Paganelli D., Rogora M., Boggero A. 2021. *Size structure and body mass of Chironomid larvae in the regulated subalpine Lake Maggiore (NW Italy)* - poster

08-12/09/2021 – International Congress Water Resources and Wetlands

- Paganelli D., Kamburska L., Zaupa S., Rogora M., Ciampittiello M., Cifoni M., Di Lorenzo T., Boggero A. 2021. *Testing the effects of water level management on the littoral fauna of a deep and large temperate lake (Lake Maggiore, NW Italy) used as a case study* – poster

27/06-01/07/2022 – XXVI Congresso Associazione Italiana Oceanografia e Limnologia

- Boggero A., Zaupa S., Paganelli D., Rogora M., Ciampittiello M., Kamburska L. 2022. *The INTERREG project Parchi Ticino-Verbania: effects of water management on macroinvertebrates along the coasts of Lake Maggiore* - poster

01/08-05/08/2022 – World Congress of Malacology (WCM 2022)

- Modesto V, Riccardi N, Aldridge D, Ćmiel A, Dołęga J, Dziadowiec R, Halabowski D, Kaźmierczak S, Ozgo M, Radocaj T, Sharma V, Taskinen J, Urbanska M, Łabęcka A. 2022. *Native mussels between parasites and invaders under the pressure of water resource management: the case study of Lake Maggiore* – presentazione orale

25-28/10/2022 – International Malacology Symposium



- Riccardi N, Modesto V, Aldridge D, Ćmiel A, Dołęga J, Dziadowiec R, Halabowski D, Kaźmierczak S, Ozgo M, Radocaj T, Sharma V, Taskinen J, Urbanska M, Łabęcka A. 2022. *Influence of water level fluctuations and thermal regime on FM native populations: the case study of Lake Maggiore* – presentazione orale

2.5 Produzione di materiale informativo

Il CNR ha pubblicato sinora:

- una news relativa al progetto PVT su **Notiziario dei metodi Analitici & IRSA news** dal titolo: *Il progetto Parchi Verbano Ticino: verifica e sperimentazione di scenari e gestione sostenibili e condivisi*
- manoscritti divulgativi su:
 1. **Le Rive** dal titolo: *Il Lago Maggiore e la diga della Miorina: un futuro insieme è davvero possibile?*
 2. **Nimbus** dal titolo: *Lago Maggiore: il futuro della gestione dei livelli*
 3. **Il Giornale dell'Ingegnere** dal titolo: *Gli invasivi: ieri, oggi, domani*
 4. **Il Piemonte delle autonomie** dal titolo: *Un nuovo paradigma di gestione della risorsa idrica in un contesto di cambiamento climatico*
- il Protocollo di campionamento per macro- e meio-fauna bentonica
- il Protocollo di laboratorio per analisi di invertebrati macrobentonici
- il Protocollo di laboratorio per analisi della meiofauna bentonica
- Pubblicazioni scientifiche:
 1. Cifoni M., Boggero A., Galassi D.M.P., di Lorenzo T. 2021. *An overview of studies on meiofaunal traits of the littoral zone of lakes*. **Water**, 13, 473. DOI 10.3390/w13040473
 2. Cifoni M., Boggero A., Rogora M., Ciampittiello M., Martínez A., Galassi D.M.P., Fiasca B., Di Lorenzo T. 2022. *Effects of human-induced water level fluctuations on copepod assemblages of the littoral zone of Lake Maggiore*. **Hydrobiologia**, 849: 3545–3564. DOI 10.1007/s10750-022-04960-3
 3. Boggero A., Kamburska L., Cifoni M., Zaupa S., Paganelli D., Ciampittiello M., Rogora M., Di Lorenzo T. 2022. *Sampling and laboratory protocols to study the effects of water level management on the littoral invertebrate fauna in deep and large temperate lakes*. In: Boggero A., Rogora M., Quadroni S. (eds), *Effects of water level management on lake littorals and downstream river areas*, **Journal of Limnology**, 81: 2073. DOI 10.4081/jlimnol.2022.2073

Il CNR-IRSA sta inoltre seguendo le attività editoriali legate allo Special Issue del **Journal of Limnology** dedicato al tema *Effects of water level management on lake littorals and downstream rivers areas* la cui scadenza di partecipazione è fine Marzo 2023.



WP4. Valutazione degli effetti delle variazioni dei livelli sul sistema lago attraverso nuovi indicatori

Kamburska L.¹, Ciampittiello M., Cifoni M.², Di Lorenzo T.², Paganelli D.¹, Rogora M., Zaupa S.¹, Boggero A.¹

¹CNR-IRSA Verbania

²CNR-IRET Firenze

4.3 Individuazione ed applicazione di indicatori dello stato di qualità dei litorali lacustri

All'interno del Progetto Interreg ParchiVerbanoTicino il CNR-IRSA è impegnato in attività relative alla (i) individuazione ed applicazione di indicatori dello stato di qualità dei litorali lacustri; (ii) identificazione di nuovi indicatori degli effetti della gestione dei livelli su habitat di interesse comunitario tipici dei litorali lacustri; (iii) identificazione di nuovi indicatori degli effetti della gestione dei livelli sul sistema fiume; (iv) raccolta ed elaborazione di dati idrologici, idro-morfologici e idrochimici. Per lo studio della meio-fauna, il CNR-IRSA si avvale delle competenze presenti nell'Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri (CNR-IRET).

Il partner CNR ha messo a punto una strategia di campionamento comune e in sincrono per le attività da svolgersi sulla fauna macro- e meio-bentonica, riportata nel seguito.

4.3.1 Protocollo di campionamento per macro- e meio-fauna bentonica

La scelta delle stazioni di campionamento (Fig. 1) è caduta su aree parco (Svizzera: Bolle di Magadino, Italia; Riserva naturale di Fondotoce - Piemonte; Riserva naturale della Bruschera - Lombardia), tutte situate lungo le sponde del lago.

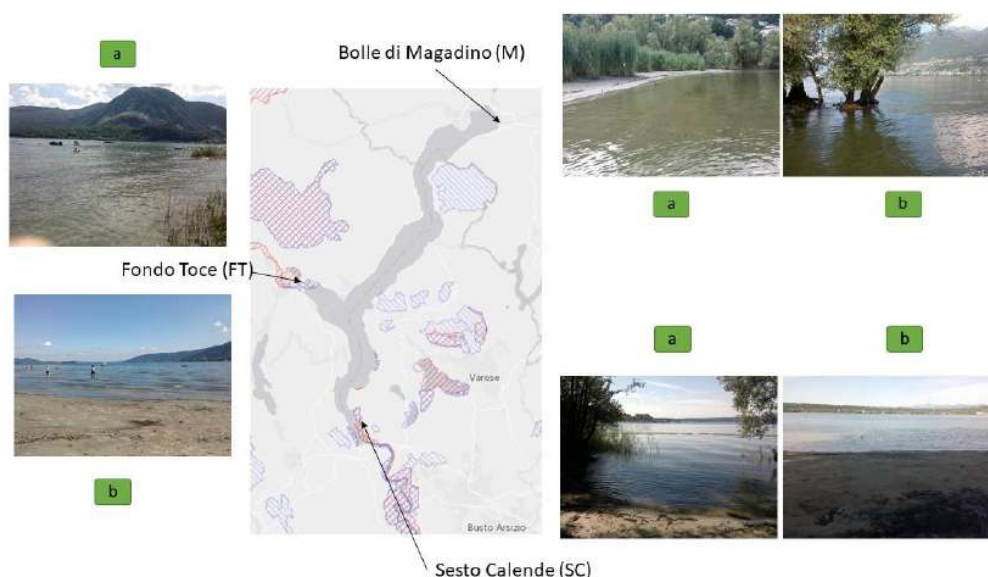


Fig. 1 - Siti di campionamento in zone a protezione speciale (per dettagli vedi testo).

La scelta si è basata sul loro significato come ecosistemi modello per definire i possibili impatti sulla qualità degli habitat e delle comunità biologiche. Inoltre, le stazioni di campionamento sono



distribuite nella parte settentrionale, centrale e meridionale del lago, in quanto soggette a variazioni di livello diverse nel periodo di regolazione (da marzo a settembre) della diga della Miorina. In ogni stazione, il monitoraggio dello stato ecologico è stato condotto sia in habitat soggetti ad asciutte, durante il periodo di minimo invaso (“a” in Fig. 1), che in habitat permanentemente bagnati (“b” in Fig. 1).

I periodi scelti per i diversi campionamenti vengono stabiliti seguendo gli andamenti dei livelli del lago letti all'idrometro posto presso il CNR-IRSA (Verbania Pallanza, Piemonte). Vengono anche registrati i livelli del lago giornalieri e archiviati per le successive analisi statistiche. Il campionamento viene condotto durante il periodo di gestione del livello dell'acqua della diga della Miorina (marzo - settembre), seguendo un protocollo standardizzato che consente il confronto tra le tre stazioni distribuite lungo le sponde, tra habitat (asciutti e bagnati) e tra siti a diversa distanza da riva.

Gli effetti delle fluttuazioni di livello vengono quindi studiati analizzando otto principali parametri:

1) di tipo tassonomico, quali la ricchezza, la densità e l'abbondanza di ciascun rango di taxon (sia per macro che per meio-fauna);

2) di tipo funzionale, quali la biomassa e la lunghezza corporea (per la macrofauna queste vengono valutate solamente per i ditteri chironomidi, principali rappresentanti della fascia litorale) e la strategia alimentare, la forma corporea (solo per la meiofauna) e la struttura in età e genere sessuale (per il taxon Crustacea Copepoda).

La macrofauna è utilizzata come *proxy* per le condizioni di stress dell'interfaccia acqua-sedimento e la meio-fauna come *proxy* per quelle dell'interfaccia sedimento superficiale - sedimento sub-superficiale. In ogni sito di campionamento e in ogni habitat, si prelevano tre campioni replicati lungo transetti distribuiti dalla riva ad una profondità massima di 1,2 m.

Il campione di sedimento per l'analisi della meiofauna viene raccolto tramite retino immanicato (apertura quadrata: 25 × 25 cm) dotato di rete a maglie di 60 µm e di bottiglia finale (Fig. 2) per intrappolare gli organismi raccolti (Malard *et al.*, 2002). Il campione viene raccolto disturbando con i piedi un'area pari a 625 cm² del substrato del litorale, fino alla profondità di circa 7 cm, dove possibile, per un tempo pari a 30 secondi (Ausden, 1997). Il sedimento e gli animali portati in sospensione vengono raccolti trascinando il retino sull'area disturbata, ponendosi in direzione opposta a quella delle onde. Il retino deve essere chiuso sott'acqua prima di essere riportato in superficie in modo da evitare di filtrare la colonna d'acqua e raccogliere, così, organismi planctonici. I campioni raccolti tramite questa metodica sono da considerarsi semi-quantitativi a causa della limitata precisione relativa alla profondità di campionamento. In laboratorio, i campioni vengono omogenati e smistati. Allo scopo di standardizzare i campioni, essi vengono smistati allo stereomicroscopio (12×), fino alla raccolta di un numero massimo di 150 microinvertebrati. Il numero degli individui del campione standard è stato determinato in base a delle analisi preliminari effettuate nel Maggio 2019.

In modo analogo e in aree strettamente limitrofe si è raccolto in modo semi-quantitativo il campione di sedimento per l'analisi della macrofauna utilizzando un retino immanicato (24 × 24 cm) dotato di rete a maglie di 250 µm e di bottiglia con maglia delle stesse dimensioni per intrappolare gli organismi raccolti (Boggero *et al.*, 2011) (Fig. 2). La raccolta che coinvolge i primi 5 cm di sedimento per 1 minuto copre un'area di 576 cm² (Frost *et al.*, 1971). Per assicurare che anche gli individui più mobili che tentano di sfuggire alla cattura vengano raccolti, la rete viene passata più volte in acqua subito al di sopra dell'area campionata.



Fig. 2 - Sinistra: retino immanicato per raccolta di campioni di macrofauna, termometro da campo, bottiglia e imbuto utili al trattamento del campione in campo; destra: retino immanicato per raccolta di campioni di meiofauna.

In ogni sito (Bolle di Magadino, Fondo Toce, Sesto Calende), ad ogni occasione di campionamento (luglio, agosto e settembre), si misura la temperatura dell'acqua tramite termometro da campo e si prelevano un campione d'acqua, mediante bottiglia di polietilene dedicata da 1 L per le successive analisi chimiche di laboratorio, e 3 replicati biologici. Sui campioni d'acqua vengono determinate le seguenti variabili: pH, conducibilità, alcalinità (metodi potenziometrici), fosforo reattivo e totale, azoto ammoniacale, azoto totale, silicati (in spettrofotometria), solfati, nitrati e cloruri (in cromatografia ionica). Tutte le analisi vengono eseguite il prima possibile e comunque entro pochi giorni dal campionamento presso il laboratorio di idrochimica del CNR-IRSA di Verbania con metodi standard per le acque superficiali (APAT IRSA-CNR, 2003), regolarmente utilizzati nel monitoraggio del Lago Maggiore. Il laboratorio adotta regolari controlli di qualità, sia interni che esterni. Ulteriori dettagli sui metodi analitici ed i controlli adottati sono disponibili al sito web <https://www.idrolab.irsa.cnr.it/>

Per quanto riguarda i campioni biologici, in ogni sito di campionamento e in ogni habitat, sono state effettuate tre repliche spaziali lungo un transetto trasversale fino a una profondità massima di 1,2 m. I 3 replicati si prelevano a distanza fissa dalla riva (sia negli habitat bagnati che negli habitat asciutti) per avere la sicurezza di raccogliere il campione sempre nel medesimo punto, soggetto a diversi livelli dell'acqua a seconda delle condizioni meteo-climatiche locali e agli influssi del disgelo. Contemporaneamente, si misura l'altezza dell'acqua. Le distanze dei tre replicati da riva variano fra 3-5, 10, e 20-25 m, prendendo come riferimento un oggetto fisso (pianta, tronco, altro) della riva stessa (Fig. 3).

I campioni biologici una volta prelevati, sono fissati con etanolo all'80% e imbottigliati fino alle successive analisi di laboratorio (smistamento, identificazione fino al livello più fine possibile, fotografia al microscopio o stereoscopio e misure corporee di lunghezza, larghezza e peso, conteggio degli individui, stima della biomassa).



Interreg

Fondo europeo di sviluppo regionale

ITALIA SVIZZERA - ITALIE SUISSE - ITALIEN SCHWEIZ

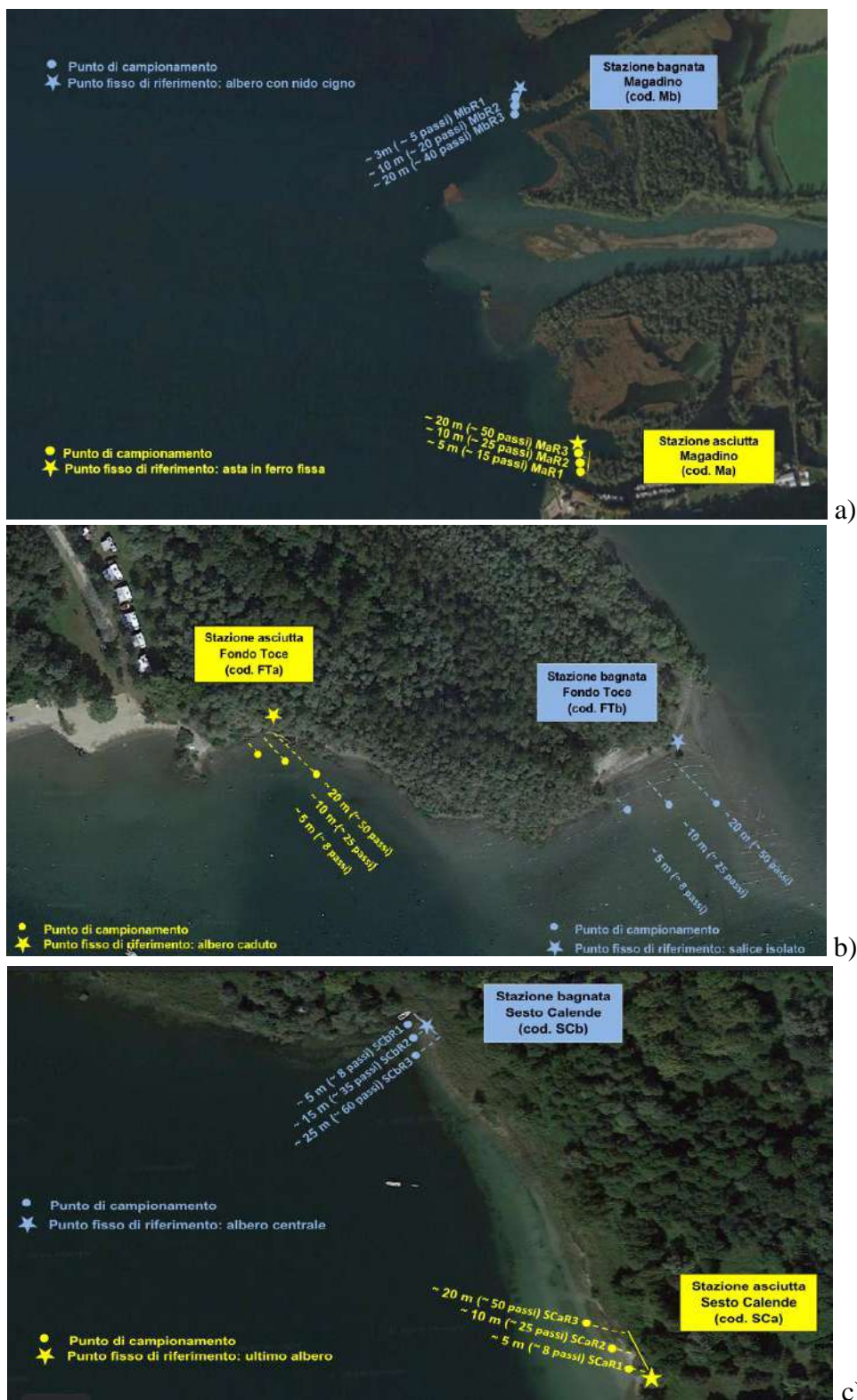


Fig. 3 - Siti di campionamento a) Bolle di Magadino; b) Fondo Toce; c) Sesto Calende - località Bruscheria, con i punti di campionamento e riferimento e la posizione dei tre replicati.



4.3.2 Raccolta dati idro-morfologici

I dati utilizzati per le analisi idrologiche sono i dati di livello giornalieri misurati all'idrometro di Verbania Pallanza, situato presso la darsena del CNR-Istituto di Ricerca Sulle Acque. I valori di livello presi come riferimento per le analisi sono quelli medi, massimi e minimi giornalieri registrati dal 1951 al 2018. Si è quindi proceduto con la ricostruzione di un anno “tipico medio” caratterizzato dalla media dei valori medi giornalieri calcolata per il periodo 1951-2018; di un anno “tipico massimo” caratterizzato dal massimo giornaliero preso tra i massimi giornalieri ricavati per il periodo 1951-2018 e di un anno “tipico minimo” caratterizzato dal minimo giornaliero preso tra i minimi giornalieri ricavati per il periodo 1951-2018. Poiché i campionamenti del Progetto Interreg Parchi Verbano Ticino sono avvenuti da agosto 2019 a luglio 2021, l'anno “tipico” è stato fatto partire dal 1° agosto 2019 al 31 dicembre 2019 con l'aggiunta di un anno intero, intermedio tra le due date di inizio e fine, 1° gennaio 2020 al 31 dicembre 2020, per coprire i due anni di campionamento del progetto. Si sono quindi graficati i tre anni “tipici”: quello medio, quello massimo, quello minimo, i dati di livello medio giornaliero per il periodo 1° agosto 2019 - 31 luglio 2021 e i punti di campionamento attraverso l'inserimento della data e del livello del lago rilevato in quei giorni.

Per quanto riguarda la raccolta dei dati idromorfologici si è applicato il metodo Lake Habitat Survey (LHS, Rowan *et al.*, 2006) rivisto e completamente adattato alla realtà dei laghi italiani. Nella versione rivista sono stati aggiunte alcune pressioni presenti, come ad esempio imbarcaderi, palificate, spiagge attrezzate etc. e alcuni habitat come alberi sommersi e diverse specie invasive vegetali. Si è comunque mantenuta la struttura di base e la filosofia della raccolta delle informazioni prevista dal metodo originario. Il perimetro del Lago Maggiore è stato suddiviso in 40 *hab-plots*, o punti di osservazione, equidistanti tra loro, ai quali sono stati aggiunti 4 punti di osservazione supplementari relativi alle aree oggetto di campionamento del progetto, per un totale di 44 punti di osservazione. Durante tali applicazioni si sono raccolte informazioni di diverso tipo come ad esempio: le caratteristiche della zona riparia (presenza e tipo di vegetazione, presenza di artificializzazioni), le caratteristiche della sponda, della zona litorale (presenza di vegetazione e/o di materiale artificiale), la presenza di spiagge e le loro caratteristiche, le attività umane (aree residenziali, commerciali, attività ricreative, darsene, imbarcaderi etc.), la presenza di habitat (boschi di latifoglie, arbusti e cespugli, canneti, roccia). Tra un *hab-plot* e l'altro, si sono raccolte anche informazioni inerenti la presenza di attività umane (aree residenziali, attività ricreative, dragaggio, campeggi), infrastrutture (banchine, imbarcaderi, strade, ferrovie, opere di ingegneria classica, scarichi/prelievi) e habitat sia ripari che acquatici. Tutte le informazioni raccolte in campo utilizzando l'apposita scheda sono state poi inserite in un database dedicato (Boggero *et al.*, 2022).

Inoltre, si è modificato il database utilizzato per il calcolo dei due indici sintetici: il Lake Habitat Modification Score (LHMS), ovvero l'indice di valutazione delle pressioni e delle alterazioni morfologiche e il Lake Habitat Quality Assessment (LHQA), ovvero l'indice di valutazione della qualità degli habitat. Il nuovo database è stato convertito dal formato Access al formato Excel, più facile da gestire e grazie al quale, oltre ai due indici sintetici è stato possibile ricavare singole informazioni per l'intero lago e per i singoli *hab-plot* inerenti: le alterazioni e gli usi intensivi della zona costiera, le pressioni interne al lago, le alterazioni del regime idrologico, il regime dei sedimenti, la presenza di specie invasive vegetali, la presenza e la tipologia di habitat ripari, della zona di costa e della zona litorale e del lago. Le informazioni raccolte sono state quindi utilizzate sia per la definizione



delle alterazioni morfologiche e della qualità degli habitat locali sia dell'intero lago che dei punti specifici oggetto di studio del progetto.

In particolare, l'applicazione dell'LHS è stata effettuata in concomitanza con un livello del lago sotto la media, tra 192,72 m s.l.m e 193,30 m s.l.m. per poter osservare e valutare al meglio la presenza di habitat particolarmente importanti per le biocenosi rivierasche. Sono state inoltre scattate più di 1200 foto della zona litorale e per tutto il perimetro del lago, a testimonianza della presenza di pressioni e di habitat di particolare interesse nonché della presenza di numerosissime spiagge e di aree a canneto.






RISULTATI

WP4. Valutazione degli effetti delle variazioni dei livelli sul sistema lago attraverso nuovi indicatori

4.3 Individuazione ed applicazione di indicatori dello stato di qualità dei litorali lacustri

Nel corso del 2019-2021 il CNR ha svolto e chiuso le seguenti attività secondo il *Protocollo di campionamento per macro- e meiofauna bentonica* (Boggero *et al.*, 2022):

Tab. 1 – Siti di campionamento e loro coordinate geografiche (gradi dms), anni e mesi di prelievo dei campioni, codici dei singoli replicati e numero di campioni raccolti per le singole analisi (macrofauna-chironomide, meiofauna-copepode, idrochimica-goccia d'acqua). X: campione non prelevato per sito in secca o livello acqua troppo alto.

Nome sito	Coordinate sito	2019		2020			2021			
		Agosto	Settembre	Luglio	Agosto	Settembre	Luglio			
Sesto Calende asciutta	45° 45' 13.04" N 08° 35' 28.91" E	08-SCa-R1	09-SCa-R1	07-SCa-R1	08-SCa-R1	09-SCa-R1	07-SCa-R1	6	6	6
		08-SCa-R2	09-SCa-R2	07-SCa-R2	08-SCa-R2	09-SCa-R2	07-SCa-R2	6	6	
		08-SCa-R3	09-SCa-R3	07-SCa-R3	08-SCa-R3	09-SCa-R3	07-SCa-R3	6	6	
Sesto Calende bagnata	45° 45' 05.83" N 08° 35' 35.47" E	08-SCb-R1	09-SCb-R1	07-SCb-R1	x	09-SCb-R1	07-SCb-R1	5	5	6
		08-SCb-R2	09-SCb-R2	07-SCb-R2	08-SCb-R2	09-SCb-R2	07-SCb-R2	6	6	
		08-SCb-R3	09-SCb-R3	07-SCb-R3	08-SCb-R3	09-SCb-R3	07-SCb-R3	6	6	
Magadino asciutta	46° 09' 01.60" N 08° 51' 25.46" E	08-Ma-R1	09-Ma-R1	07-Ma-R1	x	09-Ma-R1	07-Ma-R1	5	5	6
		08-Ma-R2	09-Ma-R2	07-Ma-R2	08-Ma-R2	09-Ma-R2	07-Ma-R2	6	6	
		08-Ma-R3	09-Ma-R3	07-Ma-R3	08-Ma-R3	09-Ma-R3	x	5	5	
Magadino bagnata	46° 09' 36.47" N 08° 51' 16.12" E	08-Mb-R1	09-Mb-R1	07-Mb-R1	08-Mb-R1	09-Mb-R1	07-Mb-R1	6	6	6
		08-Mb-R2	09-Mb-R2	07-Mb-R2	08-Mb-R2	09-Mb-R2	07-Mb-R2	6	6	
		08-Mb-R3	09-Mb-R3	07-Mb-R3	08-Mb-R3	09-Mb-R3	x	5	5	
Fondo Toce asciutta	45° 56' 10.63" N 08° 29' 26.96" E	08-FTa-R1	09-FTa-R1	07-FTa-R1	08-FTa-R1	09-FTa-R1	07-FTa-R1	6	6	6
		08-FTa-R2	09-FTa-R2	07-FTa-R2	08-FTa-R2	09-FTa-R2	07-FTa-R2	6	6	
		08-FTa-R3	09-FTa-R3	x	08-FTa-R3	09-FTa-R3	x	4	4	
Fondo Toce bagnata	45° 56' 07.08" N 08° 29' 34.69" E	08-FTb-R1	09-FTb-R1	07-FTb-R1	08-FTb-R1	09-FTb-R1	07-FTb-R1	6	6	6
		08-FTb-R2	09-FTb-R2	07-FTb-R2	08-FTb-R2	09-FTb-R2	07-FTb-R2	6	6	
		08-FTb-R3	09-FTb-R3	x	08-FTb-R3	09-FTb-R3	x	4	4	
								100	100	36

Macrofauna

Sono stati raccolti 100 campioni biologici, otto in meno rispetto alle aspettative, a causa delle condizioni locali del livello delle acque: in alcune occasioni infatti, il livello era troppo basso e la stazione era in asciutta, in altre era troppo alto e non era possibile raggiungere la stazione più distante da riva. I campioni biologici sono stati analizzati secondo il **Protocollo per analisi di invertebrati macrobentonici**. Tutti i 100 campioni raccolti sono stati smistati e suddivisi nei principali gruppi faunistici, così come sono stati misurati (lunghezza, peso secco e peso umido) e identificati morfologicamente i Ditteri chironomidi, gli oligocheti e la rimanente fauna. Sugli oligocheti non si è proceduto con le analisi biometriche in quanto si presentavano spesso spezzati.

4.3.1 Approccio tassonomico a livello di comunità

Per valutare gli effetti delle fluttuazioni di livello sulla fauna macroinvertebrata si sono analizzati dapprima parametri di tipo tassonomico, quali la ricchezza, la densità e l'abbondanza di ciascun taxon.



Le analisi tassonomiche sono state eseguite su 11713 individui e mostrano che la comunità macrobentonica è costituita da 13 taxa: Chironomidi, Oligocheti, Ceratopogonidi, Coleotteri, Efemerotteri, Eterotteri, Odonati, Tricotteri, Bivalvi, Gasteropodi, Anfipodi, Platelminti e Irudinei (Tab. 3).

Tab. 3 - Numero di individui campionati per ciascun sito e per ciascun taxon. Ordine di importanza numerica.

Taxa	Magadino	Fondo Toce	Sesto Calende	Totale
Chironomidi	3777	3228	408	7413
Oligocheti	1198	339	735	2272
Ceratopogonidi	122	279	377	778
Bivalvi	501	120	83	704
Gasteropodi	106	1	6	113
Efemerotteri	1	35	15	51
Tricotteri	4	45	1	50
Eterotteri	270	17	23	310
Coleotteri	10	0	3	13
Odonati	0	0	4	4
Anfipodi	0	3	0	3
Platelminti	0	0	1	1
Irudinei	1	0	0	1
				11713

Il taxon più abbondante è costituito dai Ditteri chironomidi, che rappresentano circa il 63% dell'intera popolazione, seguito da oligocheti (19%), Ditteri ceratopogonidi (7%) e Molluschi bivalvi (6%). Il resto della fauna raccolta presenta abbondanze relative molto basse, essendo stati raccolti un numero esiguo di individui per ciascun taxon (Fig. 4).

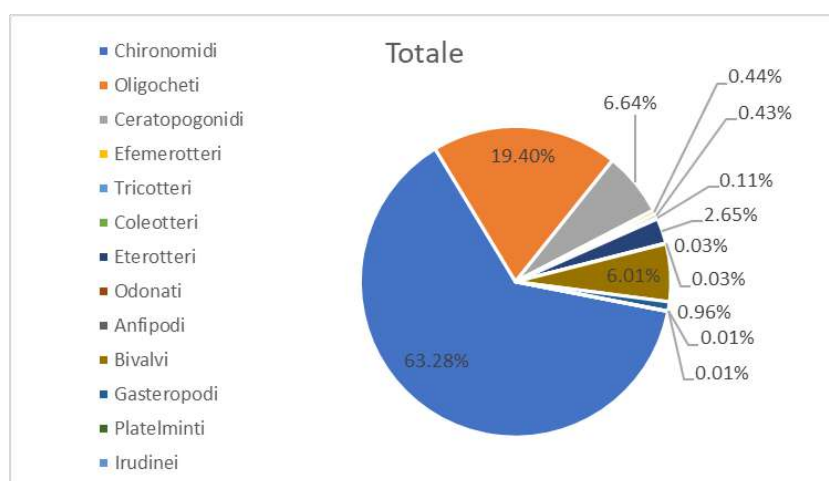


Fig. 4 - Abbondanza relativa dei taxa campionati.

Andando ad analizzare nello specifico i singoli siti (Fig. 5), si nota che Magadino e Fondo Toce presentano una struttura di comunità simile, con i chironomidi che prevalgono sul resto della fauna (rispettivamente 63 e 79%), seguiti da oligocheti (20 e 8%).

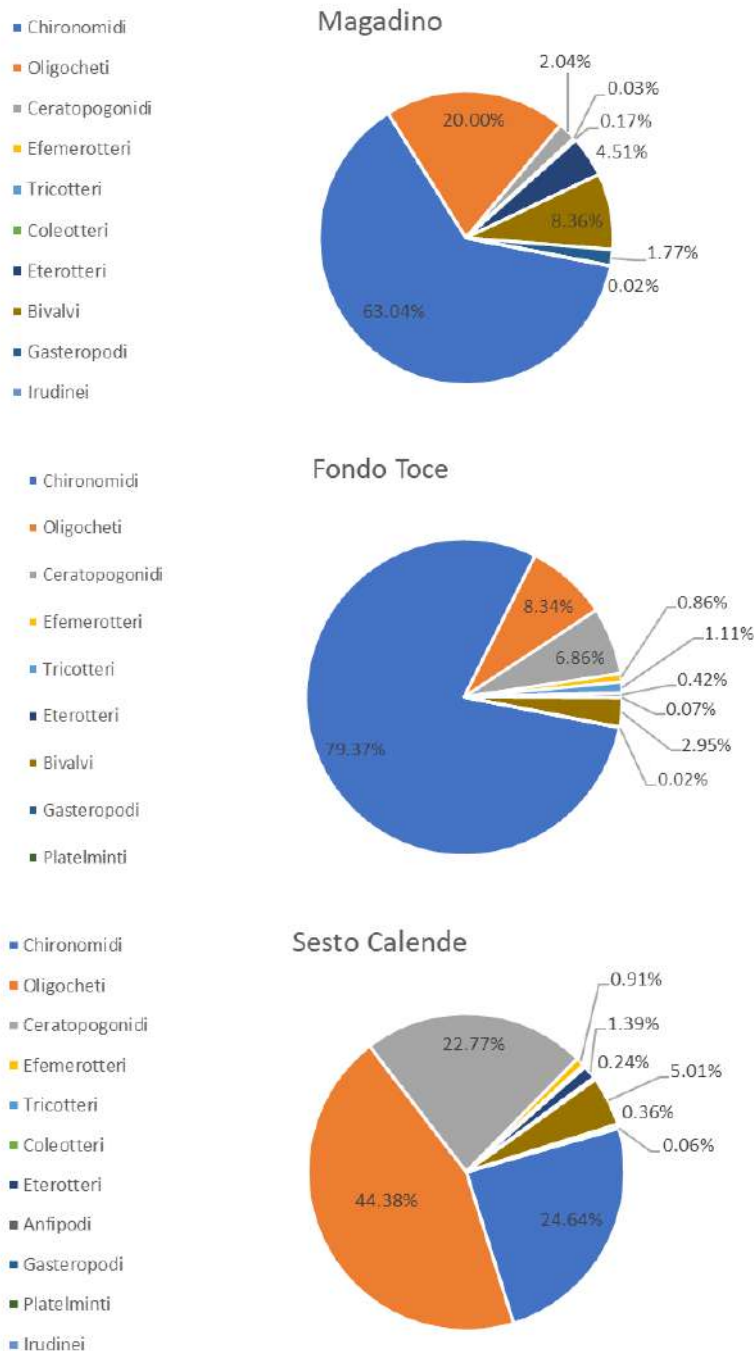


Fig. 5 - Abbondanze relative dei taxa campionati nei tre siti di campionamento.

Sesto Calende invece, mostra una comunità diversa, con gli oligocheti che predominano (44%) e percentuali simili di chironomidi e ceratopogonidi (25 e 23%), secondi in importanza rispetto agli oligocheti.

Le entità tassonomiche comuni a tutte le stazioni sono: Ceratopogonidi, Chironomidi, Efemerotteri, Eterotteri, Tricotteri, Oligocheti, Molluschi Bivalvi e Gasteropodi.

Una differenza tra i siti campionati si nota andando ad analizzare i gruppi meno rappresentativi. Gruppi esclusivi delle stazioni sono: Irudinei a Magadino; Anfipodi a Fondo Toce, e infine Odonati a



Sesto Calende (Tab.4). Coleotteri e Platelminti sono presenti in due stazioni, nello specifico a Sesto Calende e Magadino. Va detto comunque che questi taxa (11 a Magadino, 12 a Fondo Toce e solo 7 a Sesto Calende) sono presenti con pochi o un solo individuo, quindi la loro presenza non va ad incidere in maniera significativa sulla diversità della comunità dei diversi siti.

Si è quindi proceduto all'identificazione degli organismi al più basso livello tassonomico possibile (genere e/o specie), utilizzando chiavi dicotomiche specifiche per ogni gruppo (AA.VV., 1977-1985; Andersen *et al.*, 2016; Wiederholm, 1983; Timm, 2009) (Tab. 4).

Tab. 4 – Presenza/assenza dei taxa campionati ed identificati nei siti di campionamento, ad esclusione di chironomidi e oligocheti (presentati nelle Tabelle 5 e 6). Juv: juveniles, indet.: indeterminato.

Ordine	Taxa	Magadino	Fondo Toce	Sesto Calende
Anfipodi	<i>Echinogammarus</i> spp.		x	
Bivalvi	<i>Corbicula fluminea</i> (Müller, 1774)	x	x	x
	<i>Pisidium</i> sp.	x	x	
	<i>Unio elongatulus</i> Pfeiffer, 1825		x	
Coleotteri	<i>Oulimius</i> sp.	x		
Ditteri	Ceratopogonidi	x	x	x
Efemerotteri	<i>Caenis</i> spp.	x	x	x
	<i>Baetis</i> spp.		x	
Eterotteri	<i>Micronecta poweri</i> (Douglas & Scott, 1869)	x	x	x
	Heteroptera juv.		x	
Gasteropodi	<i>Bithynia tentaculata</i> (Linnaeus, 1758)	x	x	x
	<i>Physa fontinalis</i> (Linnaeus, 1758)	x		
	<i>Gyraulus laevis</i> (Alder, 1838)	x		
	<i>Valvata piscinalis</i> (Müller, 1774)	x		
Irudinei	<i>Erpobdella</i> sp.	x		
Odonati	Coenagrionidae (juv)			x
Platelminti				x
Tricotteri	<i>Mystacides azurea</i> (Linnaeus, 1761)		x	
	Trichoptera indet.		x	
Totale		11	12	7

Per gli Oligocheti, sono stati allestiti preparati microscopici, che sono stati esaminati con l'utilizzo di un microscopio ottico (Zeiss Axiolab 100 ×). Tutti gli esemplari appartenenti a questo gruppo, raccolti nei tre anni di campionamento sono già stati identificati (Timm, 2009). In totale, sono stati raccolti 2272 individui, così suddivisi nelle 3 stazioni: Magadino 1198, Fondotoce 339 e Sesto Calende 735 individui. Inoltre, le stazioni presentano la stessa diversità, con 15 entità tassonomiche ciascuna (Tab. 5). In totale sono stati trovati 22 taxa.

Le specie comuni a tutti i siti sono 8. Nelle stazioni di Magadino e Sesto Calende, i tubificidi immaturi senza chete aeree (TIM no hc) sono stati ripartiti tra gli individui maturi (Boggero *et al.*, 2020). Nella stazione di Fondo Toce e per i tubificidi immaturi con chete aeree (TIM hc), questo non è stato possibile, in quanto non sono stati trovati individui maturi riconducibili a tali caratteristiche.



Le specie esclusive di singole stazioni sono invece: *Pothamotrix moldaviensis* e *Vejdovskyella intermedia* per Magadino, *Pristina longiseta* e *Vejdovskyella comata* per Fondo Toce, *Limnodrilus profundicola*, *Branchiura sowerbyi* ed *Eiseniella tetraedra* per la stazione di Sento Calende (Fig. 6).

Tab. 5 - Elenco dei taxa di Oligocheti identificati nei tre siti di campionamento.

Taxa	Magadino	Fondo Toce	Sesto Calende
TIM hc	+	+	+
<i>Psammoryctides barbatus</i> (Grube, 1860)	+	+	+
<i>Tubifex ignotus</i> (Štolc, 1886)	+	+	+
<i>Potamotrix moldaviensis</i> Vejdovský & Mrázek, 1903	+	-	-
TIM no hc	+	+	+
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> Claparède, 1862	+	-	+
<i>Limnodrilus profundicola</i> (Verrill, 1871)	-	-	+
<i>Nais communis</i> Pignet, 1906	+	+	+
<i>Nais pseudobtusa</i> Pignet, 1906	+	+	+
<i>Nais barbata</i> Müller, 1774	+	+	-
<i>Dero obtusa</i> d'Udekem, 1855	-	+	+
<i>Pristina equiseta</i> Bourne, 1891	+	-	+
<i>Pristina longiseta</i> Ehrenberg, 1828	-	+	-
<i>Uncinaiis uncinata</i> (Ørsted, 1842)	+	+	+
<i>Vejdovskyella comata</i> (Vejdovský, 1883)	-	+	-
<i>Vejdovskyella intermedia</i> (Bretscher, 1896)	+	-	-
<i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	-
<i>Branchiura sowerbyi</i> Beddard, 1892	-	-	+
Enchytraeidae	+	+	+
<i>Eiseniella tetraedra</i> (Savigny, 1826)	-	-	+
Lumbricidae	-	+	+
Lumbriculidae	+	+	-
Totale	15	15	15

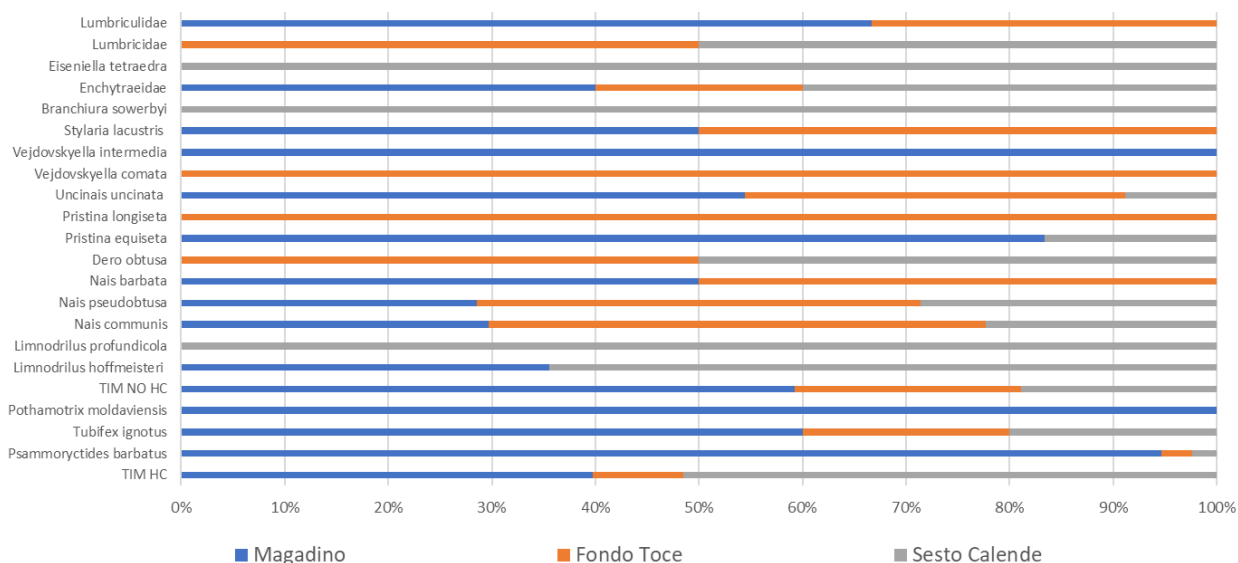


Fig. 6 - Suddivisione percentuale di ogni taxon di oligocheti nei 3 siti.

Per quanto riguarda i chironomidi (Wiederholm, 1983), sono stati identificati 7413 individui appartenenti a 31 entità tassonomiche (generi e specie).

Il sito con il numero maggiore di chironomidi è Magadino, con 3777 esemplari, seguito da Fondo Toce (3228) e Sesto Calende con soli 408 individui. La comunità di Fondo Toce risulta essere la più diversa con 27 entità tassonomiche, rispetto a Magadino che ne presenta 19 e Sesto Calende con 16 (Tab. 6). La specie più abbondante in tutte e tre le stazioni è *Cladotanytarsus* spp. presente con 4549 individui. Altre specie importanti dal punto di vista numerico sono *Stictochironomus pictulus* (1491) *Cryptochironomus* sp. (347).

I taxa comuni a tutte e tre le stazioni sono: *Cryptochironomus* sp., *Microchironomus tener*, *Stictochironomus pictulus*, *Demicryptochironomus vulneratus*, *Cladotanytarsus* sp., *Polypedilum scalenum*, *Polypedilum nubeculosum*, *Polypedilum bicrenatum*, *Psectrocladius sordidelius*, *Procladius* sp., *Ablabesmyia longystila* e *Orthocladius* sp.

I taxa esclusivi per le singole stazioni sono: *Einfeldia* sp. e *Micropsectra* sp. per la stazione di Magadino; *Odontomesa fulva*, *Paracladopelma camptolabis*, *Heterotrissocladius marcidus*, *Paralauterborniella nigrohalteralis*, *Thienemannimyia* gr., *Heleniella* sp., *Parametriocnemus* sp., *Phaenopsectra* sp., ed *Eukieferiella* sp. per Fondo Toce, e infine *Nanocladius* sp. per quella di Sesto Calende (Fig. 7).



Tab. 6 - Elenco dei taxa di Chironomidi identificati nei tre siti di campionamento.

Sottofamiglia	Taxa	Magadino	Fondo Toce	Sesto Calende	
Chironominae	<i>Chironomus gr. thummi</i> (Kieffer, 1911)	+	+	-	
	<i>Cryptochironomus</i> sp.	+	+	+	
	<i>Microchironomus tener</i> (Kieffer, 1918)	+	+	+	
	<i>Polypedilum scalaenum</i> (Schrank, 1803)	-	+	+	
	<i>Polypedilum nubeculosu</i> (Meigen, 1804)	+	+	+	
	<i>Polypedilum bicrenatum</i> Kieffer, 1921	+	+	+	
	<i>Stictochironomus pictulus</i> (Meigen, 1830)	+	+	+	
	<i>Paracladopelma camptolabis</i> (Kieffer, 1913)	-	+	-	
	<i>Paralauterborniella nigrohalteralis</i> Malloch, 1915	-	+	-	
	<i>Demicryptochironomus vulneratus</i> Zetterstedt, 1838	+	+	+	
	<i>Dicrotendipes nervosus</i> (Staegher, 1839)	-	+	+	
	<i>Phaenopsectra</i> sp.	-	+	-	
	<i>Einfeldia</i> sp.	+	-	-	
	<i>Micropsectra</i> sp.	+	-	-	
	<i>Paratanytarsus</i> sp.	+	+	-	
	<i>Cladotanytarsus</i> sp.	+	+	+	
	<i>Tanytarsus</i> sp.	+	-	+	
	Orthocladinae	<i>Psectrocladius sordidellus</i> (Zetterstedt, 1838)	+	+	+
		<i>Heleniella</i> sp.	-	+	-
<i>Parametriocnemus</i> sp.		-	+	-	
<i>Eukiefferiella</i> sp.		-	+	-	
<i>Nanocladius</i> sp.		-	-	+	
<i>Heterotrissocladius marcidus</i> (Walker, 1856)		-	+	-	
<i>Orthocladus</i> sp.		+	+	+	
<i>Cricotopus</i> sp.		+	+	-	
Tanypodinae	<i>Ablabesmia longistyla</i> Fittkau, 1962	+	+	+	
	<i>Procladius</i> sp.	+	+	+	
	<i>Thienemannimyia</i> gr.	-	+	-	
Prodiamesinae	<i>Prodiamesa olivacea</i> (Meigen, 1818)	-	+	+	
	<i>Monodiamesa bathyphila</i> (Kieffer, 1918)	+	+	-	
	<i>Odontomesa fulva</i> (Kieffer, 1919)	-	+	-	
Totale		19	27	16	

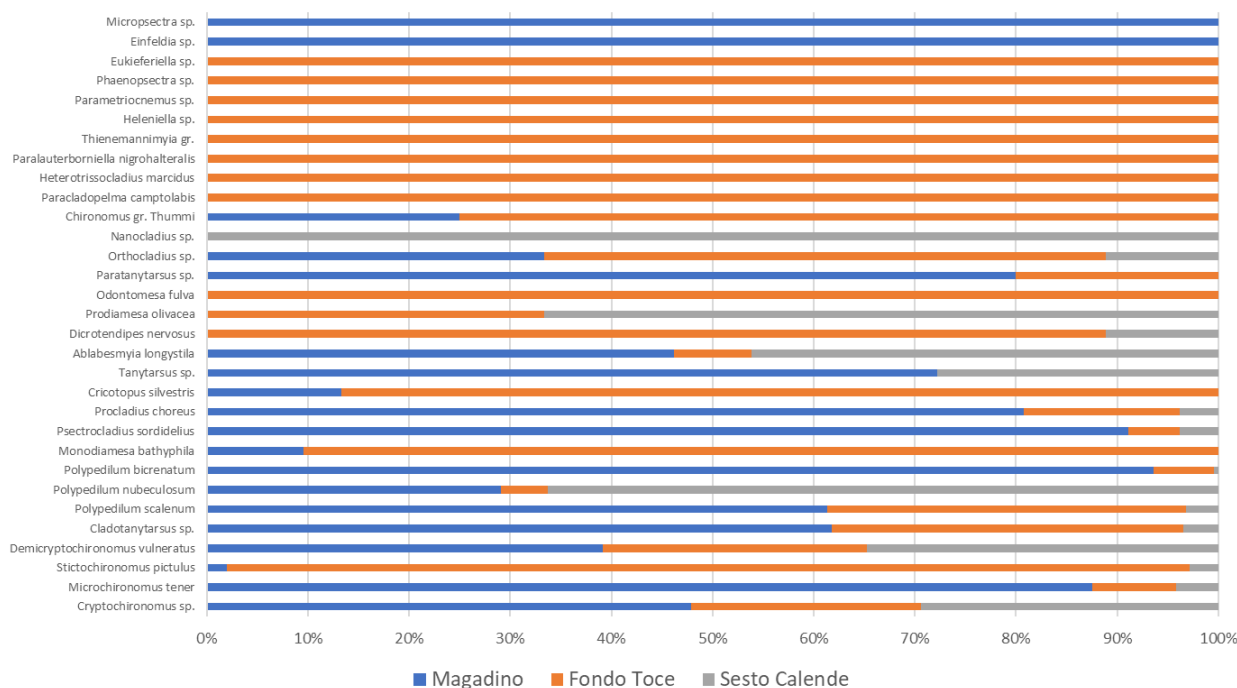


Fig. 7 - Suddivisione percentuale di ogni taxon di chironomidi per i 3 siti.

4.3.2 *Approccio funzionale a livello di comunità*

Per valutare gli effetti delle fluttuazioni di livello sulla fauna macroinvertebrata si sono analizzati parametri di diversità della comunità, come ricchezza e abbondanza, e parametri di tipo funzionale, quali biomassa e lunghezza corporea. Queste analisi vengono condotte solamente sui Ditteri chironomidi, principali rappresentanti della fascia litorale e sempre presenti in numero elevato. Su 7413 chironomidi identificati, 1197 individui sono risultati idonei per la misurazione dei tratti morfologici lineari, del peso umido e del peso secco. Questi esemplari sono stati scelti in quanto integri, non danneggiati e con dimensioni tali da poter essere misurati. In particolare, su tutti i 1197 individui sono stati misurati i tratti morfologici lineari, mentre solamente su 768 esemplari è stato determinato il peso secco e su 129 esemplari il peso umido. I dati raccolti sono stati elaborati per sito (Tab. 7) e per specie (Tab. 8) per determinare le relazioni allometriche lunghezza-peso (secco, umido) specie-specifiche e per sottofamiglie.

Tab. 7 – Numero di chironomidi esaminati per tratti morfologici, peso umido e peso secco per sito.

Sito	Lunghezza			Peso	
	capo (HL)	corpo (BL)	Totale (TL)	Umido (WW)	Secco (DW)
Magadino	352	352	352	297	20
Fondo Toce	562	562	562	274	109
Sesto Calende	283	283	283	197	-
Totale	1197	1197	1197	768	129



Tab. 8 – Numero di chironomidi esaminati per tratti morfologici, peso umido e peso secco per specie (* taxa dominanti).

Taxa	Lunghezza			Peso	
	capo (HL)	corpo (BL)	Totale (TL)	Secco (DW)	Umido (WW)
<i>Ablabesmyia longistyla</i>	5	5	5	3	0
<i>Chironomus gr. thummi</i>	3	3	3	1	0
<i>Cladotanytarsus</i> sp.*	301	301	301	175	1
<i>Cricotopus</i> sp.	11	11	11	10	1
<i>Cryptochironomus</i> sp.*	206	206	206	168	7
<i>Demicryptochironomus vulneratus</i>	22	22	22	14	3
<i>Dicrotendipes nervosus</i>	3	3	3	3	1
<i>Einfeldia</i> sp.	2	2	2	0	0
<i>Heleniella</i> sp.	1	1	1	0	0
<i>Heterotrissocladius marcidus</i>	1	1	1	0	0
<i>Microchironomus tener</i>	4	4	4	2	0
<i>Monodiamesa bathyphila</i>	19	19	19	14	6
<i>Nanocladius</i> sp.	6	6	6	0	0
<i>Odontomesa fulva</i>	1	1	1	0	0
<i>Orthocladina</i> sp.	2	2	2	0	0
<i>Paracladopelma camptolabis</i>	9	9	9	1	0
<i>Paralauterborniella nigrohalteralis</i>	2	2	2	2	0
<i>Parametriocnemus</i> sp.	1	1	1	0	0
<i>Paratanytarsus</i> sp.	2	2	2	1	0
<i>Polypedilum bicrenatum</i> *	54	54	54	44	17
<i>Polypedilum nubeculosum</i> *	58	58	58	50	1
<i>Polypedilum scalenum</i>	3	3	3	3	0
<i>Procladius</i> sp.	8	8	8	8	1
<i>Prodiamesa olivacea</i>	2	2	2	2	0
<i>Psectrocladius sordidelius</i> *	56	56	56	42	0
<i>Stictochironomus pictulus</i> *	405	405	405	223	91
<i>Tanytarsus</i> sp.	9	9	9	2	0
<i>Thienemannimyia</i> gr.	1	1	1	0	0
Totale individui misurati	1197	1197	1197	768	129

Per quanto riguarda la lunghezza, le Prodiamesine presentano in media il valore maggiore rispetto alle altre 3 sottofamiglie (Fig. 8). Invece, Chironomine, Ortocladine e Tanypodine mostrano lunghezza media molto simile, anche se la prima mostra una distribuzione di lunghezze molto più ampia, con specie molto grandi ed altre molto piccole (Kamburska *et al.*, 2023). Va comunque detto che le Chironomine presentano anche il maggior numero di specie e individui. Per il peso l'andamento è molto simile, anche se in questo caso il range maggiore si trova nelle Prodiamesine.

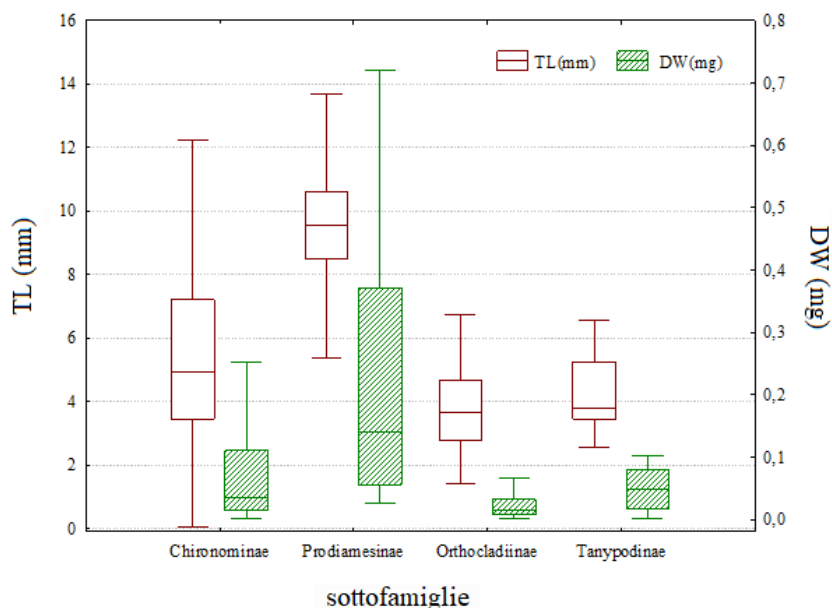


Fig. 8 - Boxplot di lunghezza e peso delle 4 sottofamiglie di chironomidi trovate nel lago, con mediana e intervalli di confidenza. Lunghezza totale TL (mm), peso secco DW (mg).

Il modello di regressione lineare (intercetta 0.00007 ± 0.006) conferma la correlazione del peso secco dal peso umido ($R = 0,93$, $R^2 = 0,86$) (Fig. 9). Il rapporto medio DW/WW è 0,175 che significa che il peso secco dei chironomidi (DW, mg) è in media circa il 17,5% (± 10) del peso umido (WW, mg). Il peso secco può essere calcolato come $DW = 17,5\% WW$. La stima proposta da noi è molto vicina ad alcune relazioni già pubblicate (19 %, Iwakuma *et al.*, 1984).

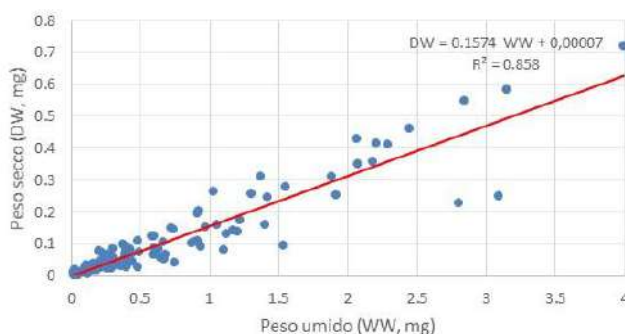
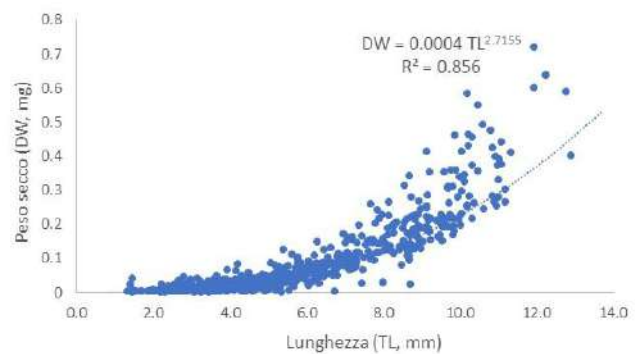
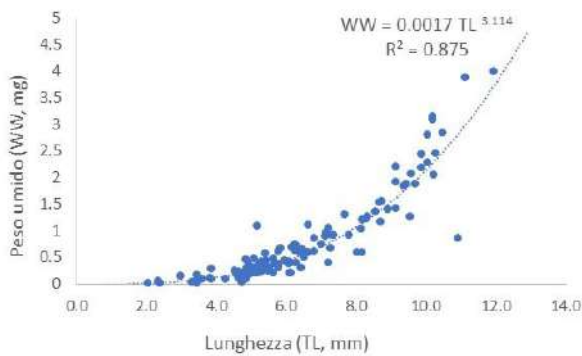


Fig. 9 - Relazione peso secco/peso umido nei chironomidi. In rosso: retta di regressione ($n = 115$, $R = 0,93$).

La biomassa dei chironomidi viene stimata dalle relazioni allometriche tra lunghezza totale (TL) e peso secco (DW) e tra lunghezza totale (TL) e peso umido (WW). Il peso umido dei chironomidi cresce con una potenza di circa 3,11 della loro lunghezza (Fig. 10a), mentre il peso secco cresce con una potenza di 2,7 della loro lunghezza (Fig. 10b).



a)

b)

Fig. 10 - Relazioni: a) lunghezza-peso umido, e b) lunghezza-peso secco dei Chironomidi.

Il modello di potenza:

$$WW = 0,0017 \times TL^{3,11} \text{ (Fig. 10a)}$$

viene trasformato in un modello lineare usando il logaritmo naturale

$$\ln WW = -6,337 + 3,11 \times \ln TL$$

dove:

-6,337 intercetta

3,11 pendenza (*slope*)

(vedi **Protocollo per analisi di invertebrati macrobentonici**)

L'intercetta e la pendenza consentono di caratterizzare il tipo di accrescimento dei chironomidi e di stimare la loro biomassa. Sono stati analizzati gli intervalli di confidenza della retta di regressione e calcolati i valori previsti dal modello. Il modello di regressione è comune per i chironomidi e può essere applicato per calcolare sia il peso umido che il peso secco, nel caso di lunghezza degli individui nota.

La stessa procedura è stata applicata alla relazione:

$$DW = 0,0004 \times TL^{2,72} \text{ (Fig. 10b)}$$

trasformandola in una relazione di tipo lineare

$$\ln DW = -7,82 + 2,72 \times \ln TL$$

dove:

-7,82 intercetta

2,72 pendenza (o *slope*)

Un'indagine statistica dettagliata riguarda le relazioni allometriche a livello di specie (Kamburska *et al.*, 2023). Presentiamo a titolo di esempio la relazione peso secco-lunghezza totale dei quattro taxa di chironomidi più comuni in estate nel Lago Maggiore (Fig. 11).

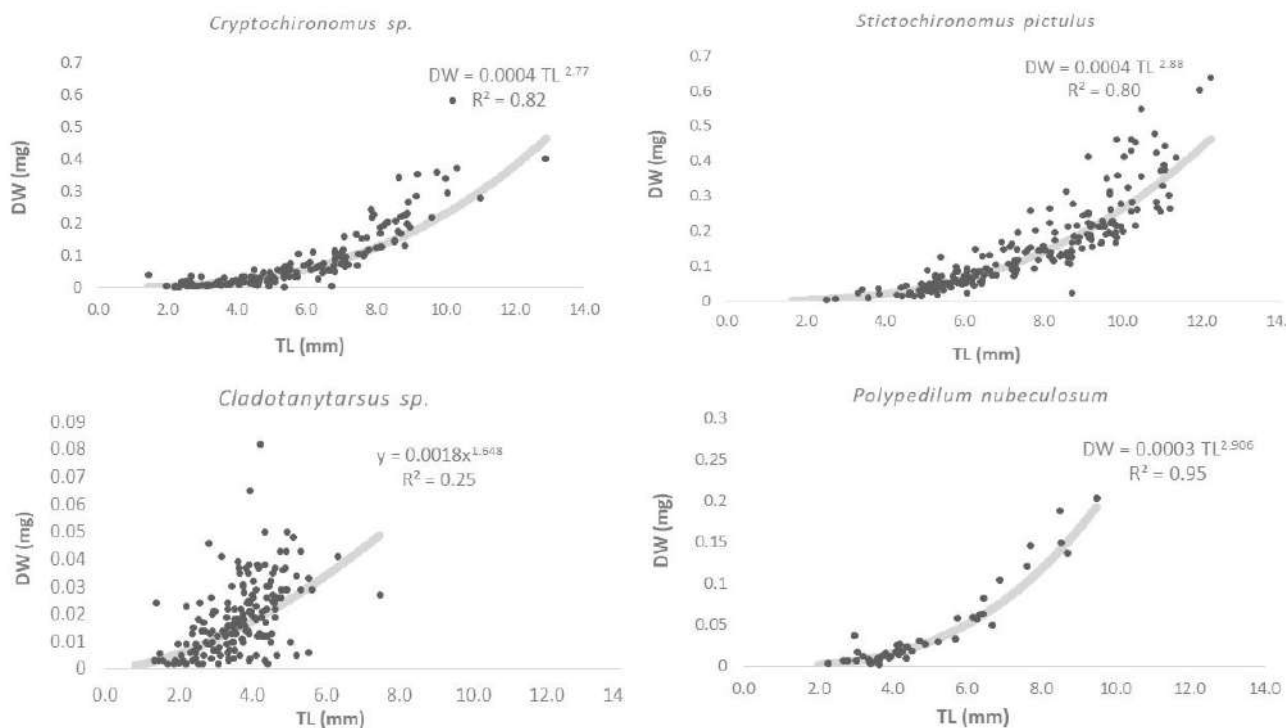


Fig. 11 - Modello di regressione di potenza peso secco DW (mg) - lunghezza totale TL (mm) di quattro specie di chironomidi (vedi Tabella 8 per numero di individui misurati per specie).

4.3.3 Analisi della comunità di chironomidi rispetto al livello del lago

I campionamenti sono stati eseguiti in periodi che presentano diversi livelli: in Tabella 9 e Figura 12 sono riportate le date di campionamento e i relativi livelli, che sono stati sintetizzati come alto (A), medio (M) e basso (B).

Tab. 9 - Date di campionamento e livelli del lago

Agosto 2019	193,44	Medio
Settembre 2019	193,33	Basso
Luglio 2020	193,91	Alto
Agosto 2020	193,15	Basso
Settembre 2020	193,57	Medio
Luglio 2021	194,12	Alto

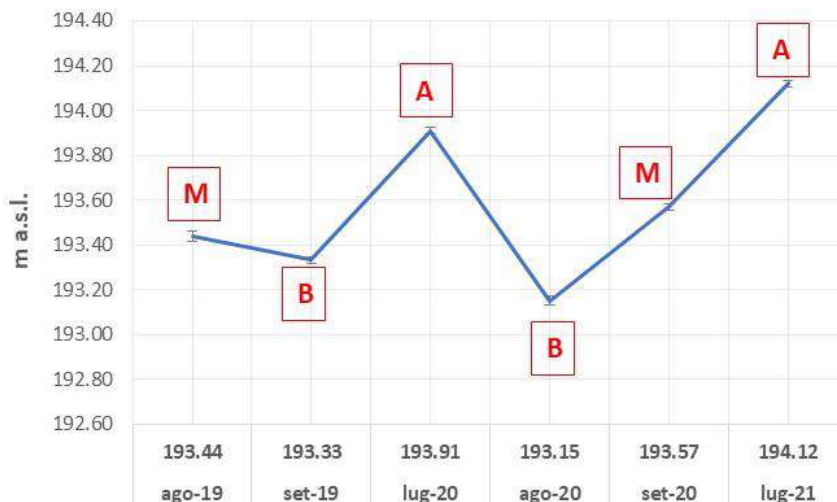


Fig. 12 - Date di campionamento e relativi livelli del lago sintetizzati come basso (B), medio (M) e alto (A) per il periodo di studio.

Per quanto riguarda l'abbondanza relativa delle 4 sottofamiglie di Chironomidi, si nota che tutte e 4 sono presenti in tutte e tre le tipologie di livello e che le Chironomine prevalgono sulle altre. I livelli basso e medio presentano abbondanze abbastanza simili, con le Chironomine pari al 97% e 98% rispettivamente, seguite da Ortocladine (2,1% e 1,1%), Tanypodine (0,6% e 0,3%) e Prodiamesine (1,3% e 0,3%). Nel livello alto si distingue l'abbondanza relativa più elevata delle Ortocladine (7,8%) che aumenta rispetto alle altre a discapito delle Chironomine (91%) (Fig. 13).

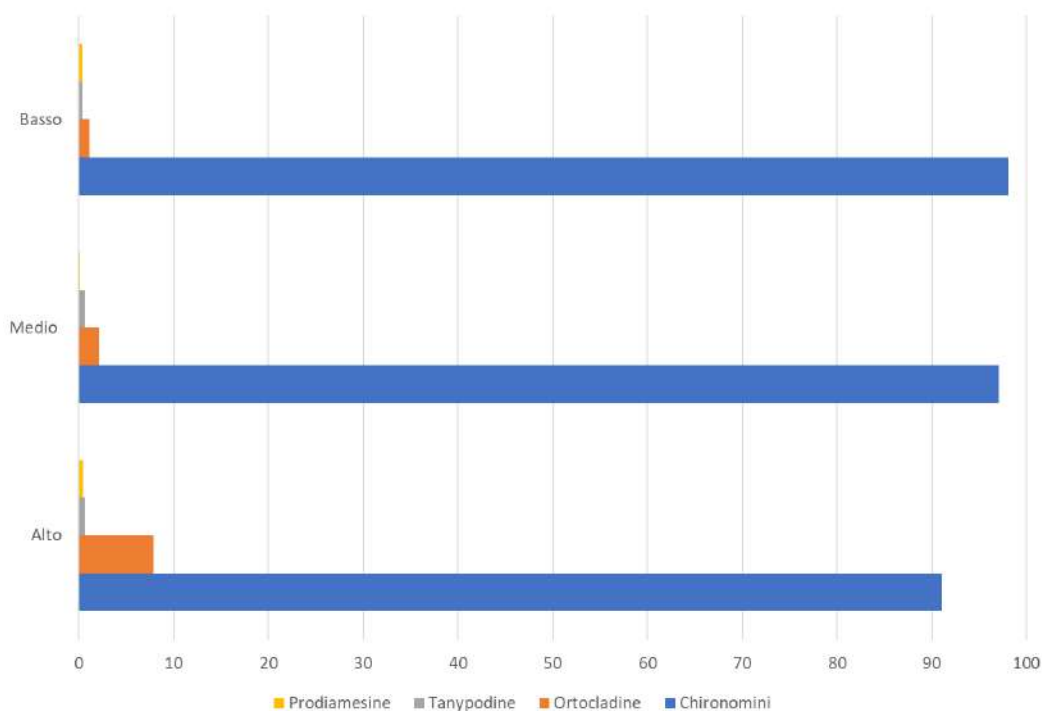


Fig. 13 - Abbondanza relativa delle 4 sottofamiglie di chironomidi rispetto al livello del lago.



Analizzando la comunità a chironomidi, si nota che il numero di taxa tende a salire andando dal livello basso al livello alto. Il numero totale di entità tassonomiche è pari a 20, 21 e 27 rispettivamente per livello basso, medio e alto. Per quanto riguarda il numero di individui, il livello alto presenta il valore maggiore (3864), seguito dal livello basso (3244) e dal medio (1502) (Fig. 14). Questi valori mostrano che il livello alto presenta la maggior ricchezza e diversità, mentre la minor abbondanza presente a livello medio potrebbe essere data dalla difficoltà nell'adattamento a fluttuazioni di livello di tipo discontinuo.

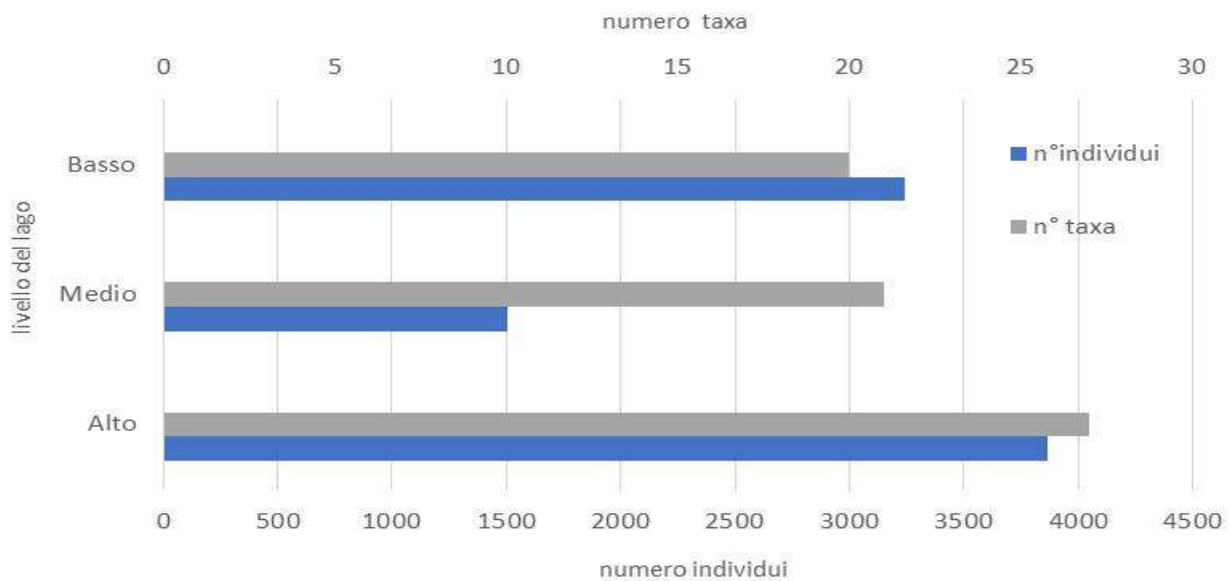


Fig. 14 - Numero di individui e di taxa di chironomidi presenti a diversi livelli del lago.

L'analisi ANOVA a due vie (Fig. 15), che considera il livello del lago (alto, medio, basso) e il tipo di habitat nelle stazioni di campionamento (asciutto, bagnato) da un lato e la lunghezza dei chironomidi dall'altro, mostra che gli individui presenti nel livello alto e medio presentano dimensioni maggiori rispetto a quelli misurati nel livello basso. Infatti, in quest'ultimo livello dominano specie di piccole dimensioni, come *Cladotanytarsus* sp. (Fig. 11), facendo sì che la specie risulti ben adattabile a condizioni estreme di bassi livelli e dominante nella struttura di comunità dei chironomidi (Fig. 16). Questo tratto funzionale di *Cladotanytarsus* può dare utili indicazioni sull'effetto del livello del lago come risposta funzionale e quindi può essere considerato un indicatore valido. Nonostante questo, durante il periodo di minimo invaso (livello basso) e nell'habitat permanentemente bagnato, le dimensioni risultano comunque maggiori rispetto all'habitat soggetto ad asciutte. Le abbondanze relative dei taxa di maggiori dimensioni come *Stictochironomus pictulus* e *Criptochironomus* sp. (Fig. 11) presentano andamento variabile rispetto ai diversi livelli del lago (Fig. 16) suggerendo un impatto delle fluttuazioni di livello sulla composizione e molto probabilmente sulla funzionalità della comunità dei chironomidi della zona litorale del Lago Maggiore

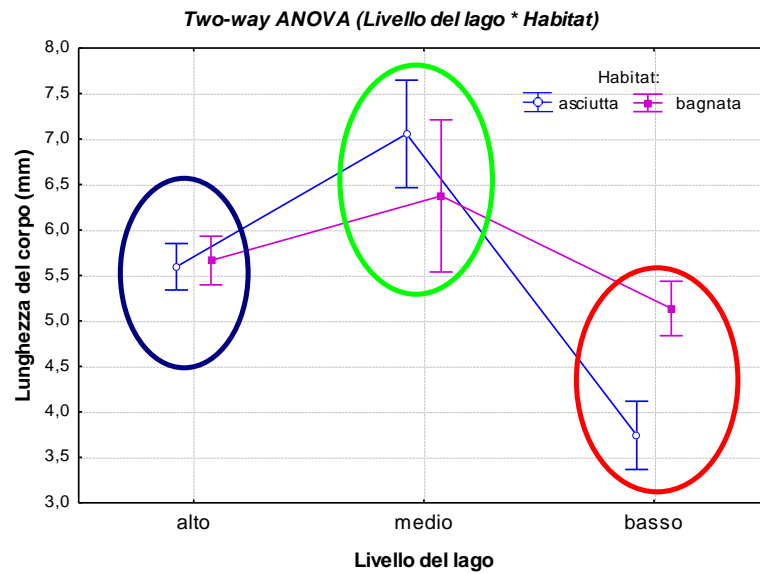


Fig. 15 - Analisi della varianza (ANOVA) a due vie (livello del lago e tipo del habitat: asciutto e bagnato) in relazione alla lunghezza del corpo dei chironomidi. ($p=0,00001$); barre: intervallo di confidenza allo 0,95.

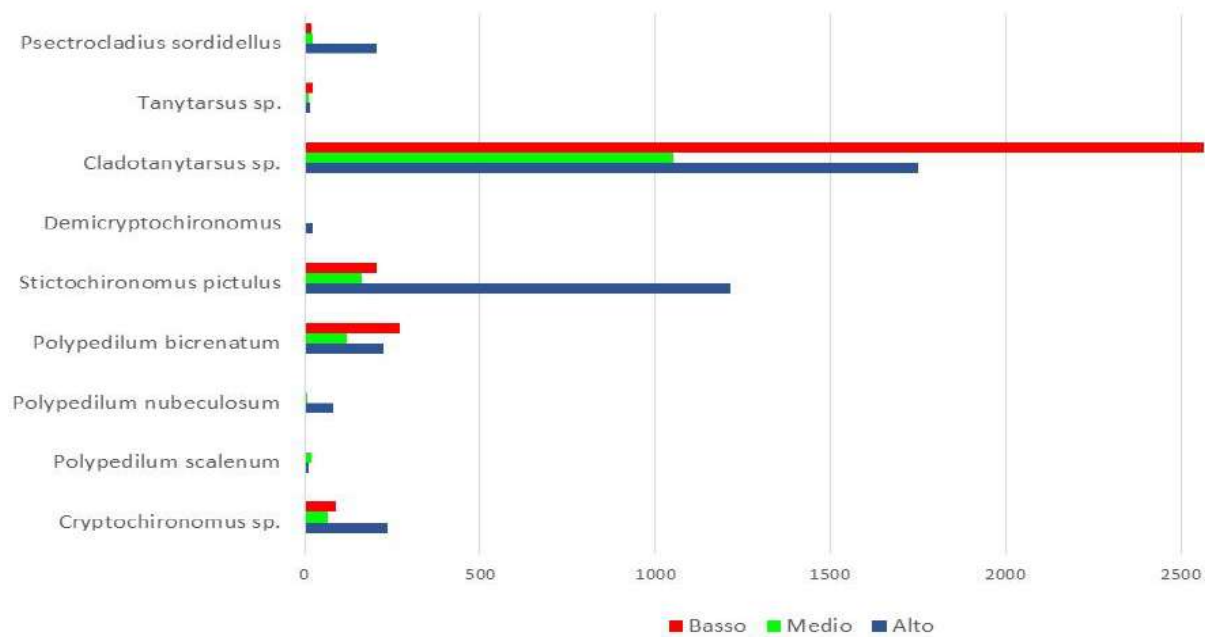


Fig. 16 - Abbondanza dei taxa chironomidi più abbondanti suddivisa nei diversi livelli del lago.

Analizzando i tratti funzionali come peso secco e lunghezza del corpo in relazione ai livelli del lago, la curva di crescita mostra che a bassi livelli si trovano organismi più piccoli, e quindi specie più piccole, che però presentano crescita più veloce con pendenza della curva più ripida, ovvero aumentando rapidamente la lunghezza aumentano anche più velocemente di peso rispetto alla situazione degli altri livelli (Fig. 17). Al livello medio invece corrispondono organismi che raggiungono dimensioni maggiori e che all'aumento della lunghezza aumentano di peso più lentamente rispetto agli altri livelli.

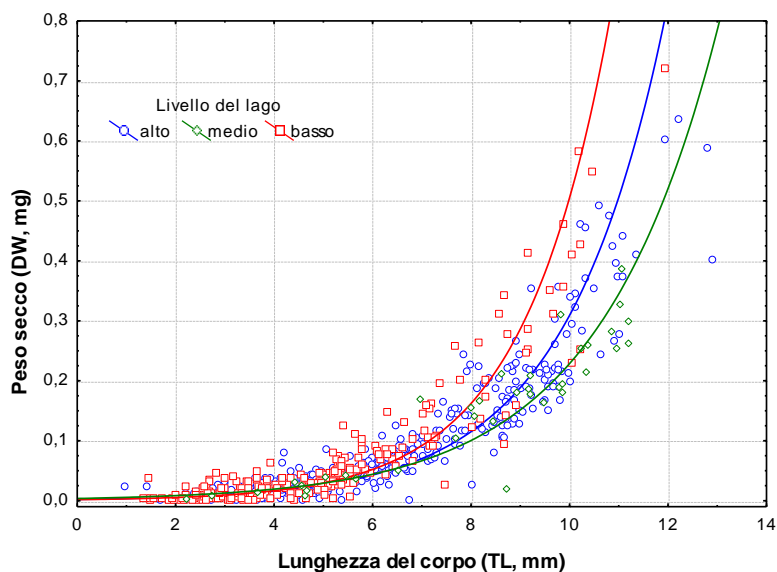


Fig. 17 - Relazioni lunghezza totale – peso secco nei chironomidi suddivise nei diversi livelli del lago.

4.3.4 Conclusioni inerenti la macrofauna

- Lo spettro dimensionale degli organismi risulta essere ampio e variabile, con le Prodiamesine con taglie maggiori rispetto alle altre sottofamiglie. Le Chironomine risultano essere la sottofamiglia con *range* dimensionale più vasto, con ampia presenza di specie di varie lunghezze e peso.
- Diversità e abbondanza (numero di taxa e di individui) di chironomidi nella zona litorale risultano più alte quando il livello del lago si presenta maggiore di 193,90 m s.l.m., ossia nei campionamenti di luglio 2020 e luglio 2021.
- La presenza di specie di piccole dimensioni può essere indicativa di una risposta funzionale ad un basso livello del lago. Questi organismi sembrano essere meglio adattati a condizioni di bassi livelli e più elevate temperature, rispetto alle specie più grandi, in quanto sono meno visibili dai predatori.
- La presenza di specie di grandi dimensioni con livello alto del lago può essere il risultato di condizioni dell'ambiente favorevoli verso specie di grandi dimensioni e sfavorevoli per specie di piccole dimensioni, portando a una diminuzione della diversità funzionale legata alla taglia.
- Tutto quanto sopra, nell'ambito di questo studio, porta ad una alterazione della rete trofica perché in presenza di prede di piccole dimensioni tutti i predatori, per raggiungere la stessa efficienza energetica, dovranno nutrirsi di maggiori quantità di prede.

Meiofauna

Nella Figura 18 abbiamo schematizzato gli approcci necessari per individuare gli indicatori meiofaunistici.

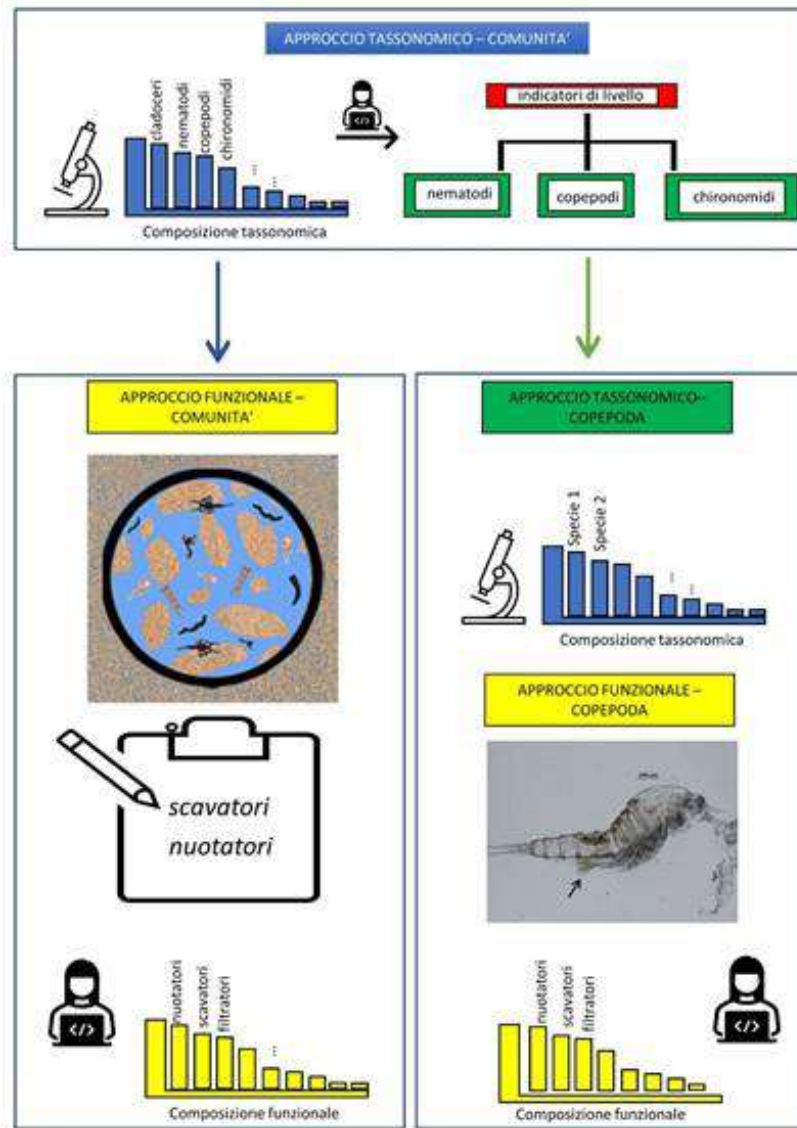


Fig. 18 - Schematizzazione degli approcci tassonomici e funzionali utilizzati per individuare gli indicatori meiofaunistici.

Il riquadro orizzontale in alto rappresenta la schematizzazione dell'*approccio tassonomico a livello di comunità*. Si tratta di una serie di metodi e attività di laboratorio che consentono di individuare alcuni taxa meiofaunistici (es. nematodi, copepodi, etc.) quali indicatori di variazione del livello idrico del lago. Le attività consistono in: i) smistamento dei campioni allo stereomicroscopio; ii) identificazioni degli organismi a livello di classe/ordine; iii) analisi statistiche.

Il riquadro verticale a sinistra rappresenta invece l'*approccio funzionale a livello di comunità* che consente di individuare indicatori funzionali di livello idrico. I tratti funzionali sono caratteristiche

misurabili di un individuo o taxon che impattano sulla sua *fitness* in termini di sviluppo, riproduzione, fisiologia, movimento, comportamento etc. I tratti funzionali sono, dunque, strumenti che descrivono cosa fa un determinato individuo all'interno della comunità in cui vive, ovvero quale è il suo ruolo funzionale. I tratti funzionali hanno vari livelli e ogni individuo meiofaunistico può afferire ad uno o più livelli dello stesso tratto funzionale. Il movimento, ad esempio, è un tratto funzionale che descrive come un organismo si muove nel suo ambiente. Il tratto possiede diverse categorie; ad esempio, alcuni animali sono nuotatori, altri sono scavatori. Le attività dell'approccio funzionale a livello di comunità consistono in: i) individuazione dei ruoli funzionali di ogni organismo raccolto; ii) analisi statistiche.

Il secondo riquadro verticale a destra rappresenta entrambi gli approcci che, tuttavia, vengono focalizzati su un taxon specifico. In questo studio, è stato selezionato il taxon Copepoda per tre motivi: 1) i copepodi rappresentano uno dei gruppi dominanti nella struttura di comunità meiofaunistica della zona litorale del Lago Maggiore; 2) le competenze tassonomiche dei ricercatori del CNR consentono di applicare entrambi gli approcci (tassonomico e funzionale) a livello di specie; 3) il dimorfismo sessuale (differenze morfologiche del maschio e della femmina) è evidente e ben riconoscibile nei copepodi, così come la distinzione tra individui giovanili (copepoditi e nauplii) e adulti (Fig. 19). Inoltre, i copepodi portano le uova in uno o due sacchi ventrali esterni, ben riconoscibili (Fig. 19). Tali caratteristiche rendono il gruppo dei copepodi idoneo per l'analisi dei *life history traits* (le caratteristiche del ciclo vitale) anche da personale tecnico che non ha specifiche competenze tassonomiche. Le attività consistono in: i) identificazione a livello di specie dei copepodi raccolti; ii) individuazione dei tratti funzionali di ogni individuo; iii) analisi statistiche.

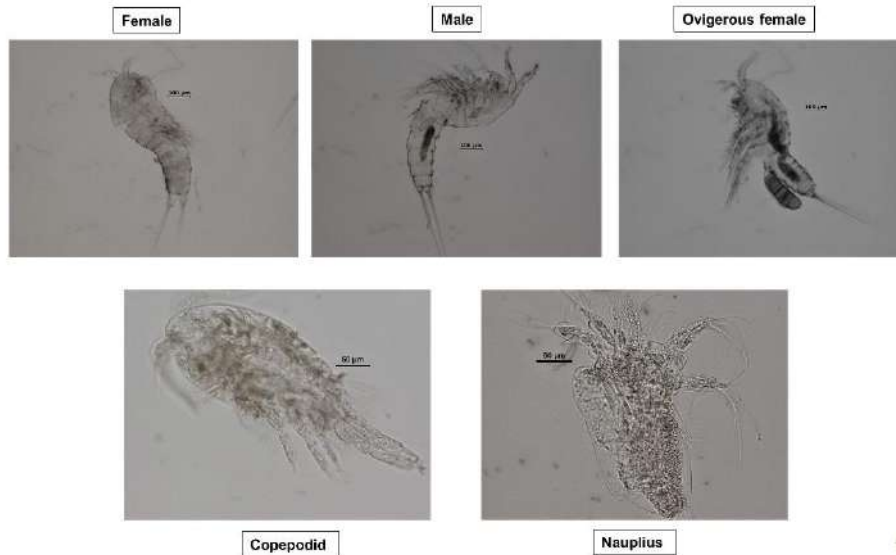


Fig. 19 – *Life history traits* dei crostacei copepodi. Le differenze morfologiche tra la femmina (*female*) e il maschio (*male*) sono facilmente riconoscibili (si noti la struttura genicolata e contorta delle antennule del maschio). Le femmine ovigere (*ovigerous female*) portano le uova esternamente, in uno o due sacchi ventrali, a seconda del genere. Gli stadi giovanili, copepoditi e nauplii, sono ben distinguibili dallo stadio adulto.

4.3.1 Approccio tassonomico a livello di comunità

Al fine di individuare gli eventuali effetti delle variazioni di livello idrico del Lago Maggiore nel periodo estivo 2019-2021 sulla composizione tassonomica della meiofauna, abbiamo condotto delle



analisi delle varianze permutazionali multivariate (cioè considerando tutti i taxa contemporaneamente), e univariate (cioè analizzando ogni taxon singolarmente), eventualmente seguiti da *t*-test permutazionali *post-hoc*. Abbiamo utilizzato i valori medi dei tre replicati spaziali, in modo da poter utilizzare la stessa matrice di dati biologici (matrice a 38 righe) sia per le analisi di varianza che per quelle di correlazione con i parametri chimico-fisici. Per entrambe le analisi, abbiamo scelto una statistica permutazionale poiché i metodi permutazionali non hanno l'assunto di rispettare la normalità della distribuzione dei dati e non richiedono la correzione dei valori di significatività dei test *post-hoc*. Abbiamo (log+1)-trasformato la matrice dei dati biologici (matrice delle abbondanze). Abbiamo effettuato un'analisi della varianza permutazionale (PERMANOVA; Anderson, 2001) sulla base delle distanze di Bray-Curtis. Prima della PERMANOVA, abbiamo verificato la omogeneità delle varianze tra gruppi con la routine PERMSIP che è un analogo del Levene test (Anderson, 2001). Entrambe le analisi sono integrate nel software PRIMER v. 6 (Clarke and Gorley, 2005). Abbiamo utilizzato una PERMANOVA a tre vie, considerando tre fattori fissi, ovvero: 1) il livello idrico; 2) la stazione di campionamento; 3) la tipologia di habitat. Il fattore "livello idrico" ha tre livelli: basso (Settembre 2019 e Agosto 2020), medio (Agosto 2019 e Settembre 2020) e alto (Luglio 2020 e 2021). Il fattore "stazioni di campionamento" ha tre livelli: Bolle di Magadino, Fondo Toce e Angera – Sesto Calende. Infine, il fattore "tipologia di habitat" ha due livelli: sito che tende ad essere asciutto nel periodo di basso livello idrico e sito permanentemente bagnato. Il livello di significatività è stato posto pari a 0.05 sia per le analisi di varianza che per i test *post-hoc* poiché le analisi permutazionali non ne richiedono la correzione in caso di confronti multipli. Abbiamo illustrato i risultati delle PERMANOVA ricorrendo ad un plot dell'analisi delle coordinate principali (anche tale analisi è integrata nel software PRIMER) quando l'abbiamo ritenuto necessario per aumentare la loro comprensibilità. Infine, abbiamo esplorato dei modelli multivariati lineari per analizzare le potenziali correlazioni tra le abbondanze meiofaunistiche e le variabili chimico-fisiche di cui alla Tabella 12 del presente elaborato. I modelli sono stati sviluppati con la routine DistLM di PRIMER.

Per effettuare le analisi di cui sopra, sono stati raccolti 100 campioni meiofaunistici (Tab. 1), 8 in meno di quelli previsti. Nello specifico, non è stato possibile prelevare i seguenti campioni a causa degli impedimenti tecnici indicati tra parentesi: 2020_07FTa3, 2020_07FTb3 (siti non guadabili, ossia livello troppo alto), 2020_08BMa1, 2020_08FTb1, 2021_07Ma3, 2021_07Mb3, 2021_07FTa3, 2021_07FTb3 (siti completamente asciutti). Tutti i campioni raccolti sono stati smistati in laboratorio allo stereomicroscopio fino al numero standard di 150 microinvertebrati (per i metodi si veda **Protocollo per analisi della meiofauna bentonica**). Trentotto campioni su 100 hanno presentato abbondanze inferiori ai 150 individui e sono stati smistati completamente. La totalità dei campioni di Settembre 2020 (18 campioni) ha presentato abbondanze inferiori a 150 individui.

Complessivamente, sono stati raccolti ed esaminati 13560 individui afferenti a 13 taxa: Rotifera, Tardigrada, Nematoda, Oligochaeta, Mollusca Bivalvia, Crustacea (Cladocera, Copepoda, Ostracoda), Insecta (Ephemeroptera, Plecoptera, Diptera Chironomidae, Collembola) e Acari. Il taxon più abbondante è risultato quello dei Chidoridae (Cladocera 27%; 3707 individui), seguito da Copepoda (22%; 3042 individui), Nematoda (20%; 2630 individui), Diptera Chironomidae (10%; 1379 individui), Oligochaeta (7%; 988 individui), Ostracoda (6%; 766 individui), Tardigrada (4%; 415 individui), Rotifera (2%; 295 individui), Acari (1%; 139 individui), Mollusca Bivalvia (1%; 131 individui), Collembola (0.3%; 40 individui), Ephemeroptera (0.1%; 17 individui) e Plecoptera (0,1%; 11 individui).



I risultati dell'analisi multivariata ci dicono che, complessivamente, la composizione tassonomica dell'intera comunità meiofaunistica varia significativamente solo in funzione del fattore "livello idrico" (Pseudo- $F_{2,18}$: 4,09, p-value: 0,001) e non risente dei fattori "stazioni di campionamento" e "tipologia di habitat" o delle eventuali varie interazioni tra i tre fattori. Nello specifico, i valori medi di abbondanza variano significativamente tra l'alto e il basso livello idrico (t: 2,49, p-value: 0,003) e tra l'alto e il medio (t: 2,13, p-value: 0,007), ma non tra il basso e il medio livello (t: 0,88, p-value: 0,596). Infatti, quattro dei 13 taxa meiofaunistici raccolti (copepodi, ostracodi, acari e chironomidi) hanno mostrato abbondanze più elevate durante i periodi di alto livello idrico, cioè a Luglio 2020 e Luglio 2021 (Figg. 20, 21). Al contrario, gli oligocheti, i rotiferi, i tardigradi e i nematodi sono risultati più abbondanti durante i periodi di medio e basso livello idrico (Figg. 20, 21). I restanti taxa hanno contribuito in percentuale molto bassa al modello descritto.

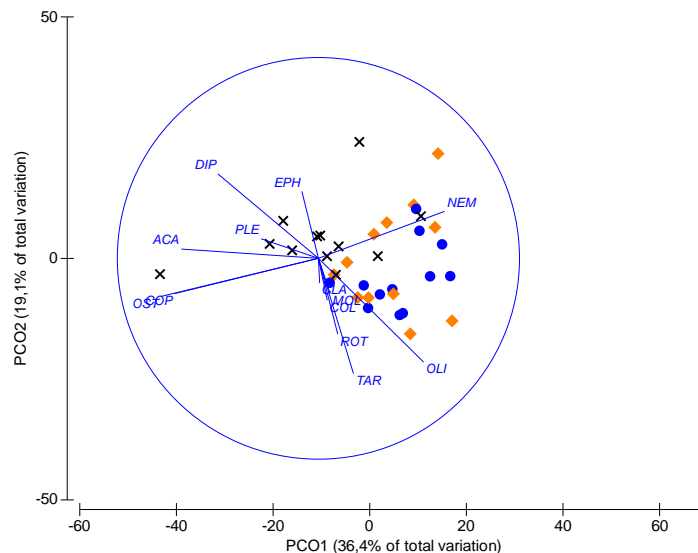


Fig. 20 - Plot delle coordinate principali riportante le abbondanze medie dei taxa meiofaunistici nei periodi di alto (croci), medio (rombi) e basso (pallini) livello idrico del Lago Maggiore dei mesi estivi 2019-2021. I due assi del plot sono una combinazione lineare dei vettori di abbondanza mostrati nel grande cerchio blu, dove la lunghezza dei vettori è proporzionale alle abbondanze dei singoli taxa. ACA (Acari), CLA (Cladocera Chidoridae), COL (Collembola), COP (Copepoda), DIP (Diptera Chironomidae), EPH (Ephemeroptera), MOL (Mollusca Bivalvia), NEM (Nematoda), OLI (Oligochaeta), OST (Ostracoda); PLE (Plecoptera), ROT (Rotifera), TAR (Tardigrada).

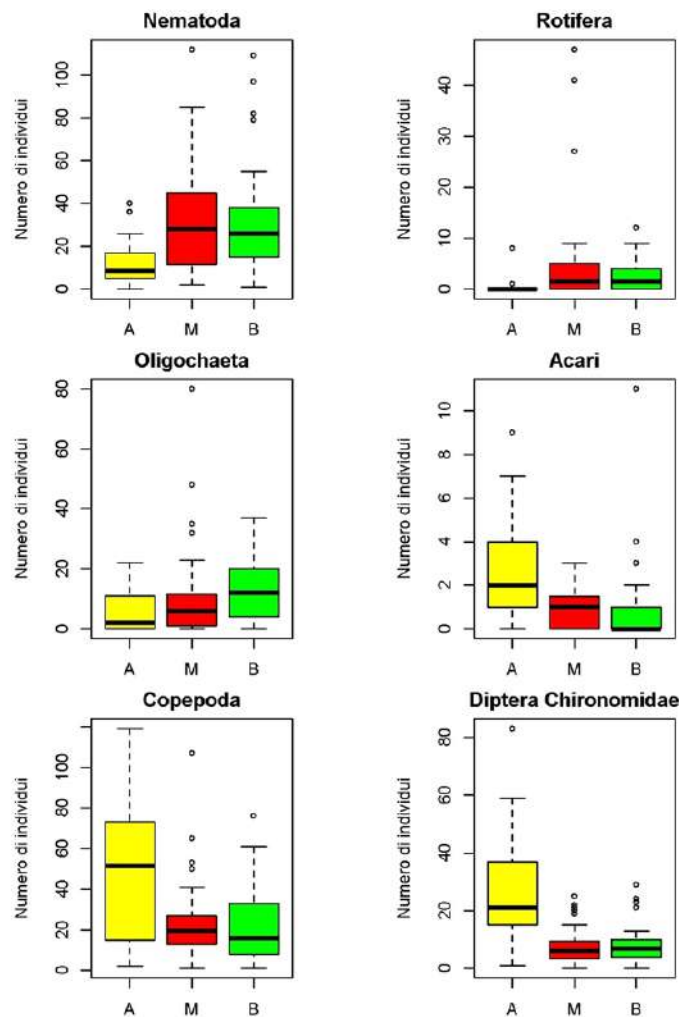


Fig. 21 - Boxplot rappresentanti le abbondanze di nematodi, rotiferi, oligocheti, acari, copepodi e chironomidi nei periodi di alto (A), medio (M) e basso (B) livello idrico registrati nei mesi estivi 2019-2021.

A livello univariato, i rotiferi risentono significativamente delle variazioni di livello idrico (Pseudo- $F_{2,18}=14,19$, p -value=0,001), ma anche dell'interazione dei fattori relativi alla tipologia di habitat e delle stazioni di campionamento (Pseudo- $F_{2,18}=4,81$, p -value=0,020), con abbondanze significativamente più elevate nella stazione di Bolle di Magadino. Sempre a livello univariato, i tardigradi sembrano non risentire delle variazioni di livello, ma solo delle stazioni di campionamento (Pseudo- $F_{2,18}=4,63$, p -value=0,025), essendo anch'essi più abbondanti a Bolle di Magadino. In nematodi, invece, confermano a livello univariato il pattern già osservato nelle analisi multivariate, variando le proprie abbondanze in funzione del livello idrico (Pseudo- $F_{2,18}=4,22$, p -value=0,023). Anche le abbondanze degli oligocheti variano significativamente in funzione dei livelli idrici (Pseudo- $F_{2,18}=3,79$, p -value=0,039) e i test *post-hoc* indicano che gli oligocheti sono significativamente più abbondanti nei periodi di basso livello rispetto a quelli di alto livello, come per i nematodi (Fig. 21), e non risentono degli effetti delle stazioni di campionamento o della tipologia degli habitat. Anche le abbondanze degli acari variano significativamente solo in funzione delle variazioni di livello (Pseudo- $F_{2,18}=5,18$, p -value=0,012) e non degli altri due fattori e sono significativamente più abbondanti nei periodi di alto livello idrico registrato nei mesi di Luglio 2020 e 2021. I molluschi bivalvi, gli ostracodi,



i copepodi, i cladoceri chidoridi, gli efemerotteri, i plecoteri e i collemboli non hanno mostrato variazioni significative in funzione dei livelli idrici, né delle stazioni di campionamento o dei due diversi tipi di habitat, a livello univariato. Infine, i ditteri chironomidi hanno presentato variazioni significative sia in funzione del livello idrico (Pseudo- $F_{2,18}=11,81$, p -value=0,002) che, sebbene in misura minore, delle stazioni di campionamento (Pseudo- $F_{2,18}=5,83$, p -value=0,013); essi sono risultati significativamente più abbondanti nei periodi di alto livello idrico (Fig. 21).

Complessivamente, le variabili chimico-fisiche analizzate e riportate nella Tabella 11 (pH, conducibilità elettrica, alcalinità, nitrati, nitriti, fosforo reattivo, fosforo totale e silice), spiegano solo il 23% delle variabilità e distribuzione delle abbondanze dei taxa meiofaunistici.

4.3.2 Approccio funzionale a livello di comunità

A differenza dei tratti funzionali dei macroinvertebrati, quelli della meiofauna di acqua dolce sono ancora poco indagati. Si è quindi effettuata una revisione degli studi inerenti questo argomento, focalizzandoci sulla meiofauna della zona litorale dei laghi (Cifoni *et al.*, 2021). A tale scopo, abbiamo selezionato una serie di parole chiave associate a tratti funzionali di effetto e di risposta. Un tratto funzionale di effetto descrive come un organismo interagisce con il suo ambiente. Il tratto “movimento” può essere considerato un tratto di effetto perché descrive come un organismo si muove (quindi interagisce) nel suo ambiente. I tratti di effetto solitamente sottintendono anche un servizio ecosistemico. I *burrowers* (organismi che si muovono scavando dei tunnel nel sedimento), ad esempio, migliorano la struttura del substrato, favoriscono l’ossigenazione e prevengono il *clogging*, ovvero l’ostruzione degli spazi interstiziali.

I tratti di risposta, invece, descrivono gli effetti morfologici, fisiologici e comportamentali che i cambiamenti ambientali, di natura antropica o meno, hanno sugli organismi. Il tratto “mobilità” (tratto che descrive la velocità di movimento di un organismo), ad esempio, è un tratto di risposta. La velocità di un organismo, infatti, può variare al variare della temperatura.

I risultati della nostra ricerca bibliografica hanno mostrato che, tranne per i tratti legati alla dieta e alle abitudini alimentari, i ruoli funzionali della meiofauna della zona litorale dei laghi sono ancora pressoché sconosciuti. Il motivo di questa scarsa conoscenza è imputabile a molti motivi che vanno dalle elevate competenze tassonomiche richieste alle difficoltà intrinseche di osservare il comportamento e misurare i processi fisiologici di animali che non si vedono ad occhio nudo. I risultati della revisione sono stati pubblicati sulla rivista *Water* (Cifoni *et al.*, 2021 - si veda il WP2) e rappresentano il punto di partenza per selezionare un numero minimo di tratti funzionali, sia di effetto che di risposta, che ci consentano di indagare gli effetti delle variazioni di livello sulla funzionalità della comunità meiobentonica e gli eventuali servizi ecosistemici persi o ridotti (Tab. 9).

Il primo tratto funzionale della Tabella 9 (lunghezza massima degli individui) è stato misurato a livello di individuo per i copepodi e a livello di classi dimensionali per i restanti taxa. Relativamente agli altri taxa meiofaunistici, abbiamo adottato la seguente metodologia: per ogni campione e per ogni taxon, abbiamo misurato l’individuo più piccolo e quello più grande al fine di individuare il range dimensionale del taxon e, successivamente, abbiamo stimato le percentuali di animali afferenti alle 5 classi dimensionali riportate in Tabella 10. Abbiamo adottato tale metodologia per l’oggettiva infattibilità nel misurare gli oltre 13000 individui meiofaunistici raccolti. Tuttavia, tale tratto rappresenta un elemento funzionale molto importante che, in futuro, andrebbe indagato a livello



individuale. La dimensione della meiofauna, infatti, fornisce indicazioni sulla micro-struttura dell'ambiente in cui risiedono le specie ed è un potente indicatore di variazioni strutturali. L'utilizzo di uno Zooscan (strumento utilizzato per la misurazione ed identificazione del plancton marino - lo strumento scannerizza un campione di acqua producendo un'immagine della microfauna), opportunamente settato sulla meiofauna d'acqua dolce, potrebbe essere una metodologia potenzialmente utile per velocizzare la misurazione dei microinvertebrati.

Tab. 9 - Tratti funzionali selezionati per l'individuazione di indicatori funzionali meiofaunistici delle variazioni di livello di lago. I tratti (in grassetto) presentano varie modalità.

Lunghezza massima (solo per i copepodi)	Dieta
≤ 0,25 mm	Sedimento fine + microorganismi
0,26–0,50 mm	Detrito fine (< 1 mm)
0,51–1,00 mm	Piante morte (> 1 mm)
1,01–2,00 mm	Microfite vive
> 2,00 mm	Macrofite vive
Forma del corpo	Animali morti (> 1 mm)
Affusolata	Microinvertebrati vivi
Appiattita	
Cilindrica (+ geometrica)	Strategie di alimentazione
Sferica	Mangiatore di deposito
Locomozione e interazione con il substrato	Trituratore
Nuotatore	Raschiatore
Movimento strisciante	Filtratore
Scavatore (epibentonico)	Perforatore (di piante o animali)
Interstiziale (endobentonico)	Predatore
Attaccato al substrato (in modo temporaneo o permanente)	Parassita

Gli individui di ogni taxon meiofaunistico sono stati attribuiti (in termini percentuali) ai cinque tratti funzionali riportati in Tabella 10. Analogamente a quanto fatto per l'approccio tassonomico, i valori percentuali relativi ai tratti funzionali sono stati analizzati mediante PERMANOVA a tre fattori, eventualmente seguita da test *post-hoc*. Analogamente a quanto fatto per le abbondanze, le percentuali dei tratti funzionali sono stati analizzati con modelli lineari utilizzando come predittori le variabili chimico-fisiche in Tabella 11.

I risultati non ci hanno permesso di osservare variazioni significative relative ai tratti di locomozione e strategie di alimentazione della comunità della zona litorale del Lago Maggiore nei periodi estivi del 2019-2021. Il tratto funzionale relativo alla dieta, invece, è variato significativamente in funzione della tipologia di habitat e della interazione tra tipologia di habitat e stazioni di campionamento, ma non ha risentito delle variazioni di livello idrico. Diversamente, i rimanenti due taxa funzionali, quelli relativi alla dimensione e alla forma corporea, hanno mostrato variazioni significative, in termini percentuali, in funzione del solo fattore livello idrico (rispettivamente: Pseudo- $F_{2,27}=3,84$, $p\text{-value}=,001$; Pseudo- $F_{2,27}=3,55$, $p\text{-value}=0,012$). In dettaglio, le differenze sono risultate statisticamente significative tra i periodi alto e basso, alto e medio, ma non basso e medio. Gli individui con una taglia compresa tra i 260 μm e 1 mm sono risultati più abbondanti nel periodo di alto livello idrico. Tali individui avevano una forma prevalentemente cilindrica, mentre gli individui con una



forma appiattita o affusolata sono risultati più abbondanti nei periodi di basso e medio livello. Infine, le abbondanze degli organismi sferici sembrano non essere influenzati dalle variazioni di livello idrico.

Analogamente a quanto osservato per la composizione tassonomica della comunità meiofaunistica, la variazione e distribuzione dei tratti funzionali sono solo debolmente correlate al chimismo dell'acqua che spiega meno del 25% dei modelli lineari sia nel caso della taglia corporea che della forma.

4.3.3 Approccio tassonomico a livello del taxon Copepoda

Al fine di indagare in dettaglio gli effetti delle variazioni di livello idrico de Lago Maggiore sulla struttura di comunità a copepodi bentonici della zona litorale del lago, abbiamo condotto delle analisi delle varianze permutazionali multivariate (cioè considerando tutte le specie di copepodi contemporaneamente), e univariate (cioè analizzando ogni specie singolarmente), eventualmente seguiti da *t*-test permutazionali *post-hoc*. Abbiamo utilizzato i valori medi di abbondanza dei tre replicati spaziali, in modo da poter utilizzare la stessa matrice delle abbondanze specifiche (matrice a 38 righe) sia per le analisi di varianza che per quelle di correlazione con i parametri chimico-fisici. Abbiamo trasformato in $(\log+1)$ la matrice delle abbondanze. Abbiamo effettuato un'analisi della varianza permutazionale e sviluppato dei modelli di correlazione lineare sulla base delle distanze di Bray-Curtis, utilizzando lo stesso protocollo applicato per le analisi della composizione tassonomica della meiofauna, a cui si rimanda per ulteriori dettagli metodologici.

I risultati delle analisi mostrano che i copepodi sono tra i primi tre gruppi dominanti il meiobenthos della zona litorale. Tutti i campioni raccolti sono stati identificati a livello di specie. Complessivamente, sono stati identificati 2259 copepodi agli stadi di copepoditi e adulti. Abbiamo identificato 13 specie. Sette specie sono afferenti all'ordine Cyclopoida: *Acanthocyclops robustus robustus* (Sars G.O., 1863), *Paracyclops fimbriatus fimbriatus* (Fischer, 1853), *Eucyclops (Macrurocyclops) macrurus* (Sars G.O., 1863), *Eucyclops serrulatus serrulatus* (Fischer, 1851), *Mesocyclops leuckarti leuckarti* (Claus, 1857), *Macrocyclus albidus albidus* (Jurine, 1820), *Eucyclops cf. lilljeborgi* (Sars G.O., 1918). Sei specie sono afferenti all'ordine Harpacticoida: *Bryocamptus echinocamptus echinatus* (Mrázek, 1893), *Attheyella (Attheyella) crassa* Chappuis, 1929, *Bryocamptus (Bryocamptus) minutus* (Claus, 1863), *Nitokra hibernica hibernica* (Brady, 1880), *Bryocamptus (Echinocamptus) hoferi* (Van Douwe, 1908) ed *Epactophanes richardi richardi* Mrázek, 1893.

L'analisi multivariata ci dice che la composizione complessiva della comunità a copepodi della zona litorale del Lago Maggiore nei periodi estivi 2019-2021 varia significativamente in funzione di due soli fattori: il livello idrico (Pseudo- $F_{2,18}=2,44$, p -value=0,017) e la stazione di campionamento (Pseudo- $F_{2,18}=2,57$, p -value=0,009). La tipologia di habitat sembra non avere un'influenza significativa su tale taxon. I test *post-hoc* hanno evidenziato che il numero di specie di copepodi e la ripartizione delle abbondanze variano significativamente solo tra i periodi di medio e alto livello idrico e tra le stazioni di Bolle di Magadino e Fondo Toce. In particolare, la maggior parte delle specie (ad esclusione di *E. macrurus*), presentano le abbondanze significativamente più elevate nei periodi di alto livello, rispetto a quelli medi, e nella stazione di Bolle di Magadino rispetto a quella di Fondo Toce. Il chimismo spiega solo il 23% di tale variabilità.



Le analisi condotte a livello della singola specie hanno fornito maggiori dettagli. In particolare, i risultati ci dicono che due specie, *Paracyclops fimbriatus* e *Attheyella crassa*, sono gli indicatori più rilevanti. Abbiamo osservato che *P. fimbriatus* varia significativamente le proprie abbondanze solo in funzione delle variazioni di livello (Pseudo- $F_{2,18}=4,59$, $p\text{-value}=0,023$). Tale specie presenta abbondanze paragonabili nei periodi di medio e basso livello e abbondanze significativamente più alte nel periodo di alto livello (Fig. 22). Il chimismo delle acque spiega il 33% della variabilità associata a *P. fimbriatus*. Anche *A. crassa* risente delle variazioni di livello idrico (Pseudo- $F_{2,18}=9,86$, $p\text{-value}=0,001$) ma, a differenza di *P. fimbriatus*, risente anche delle stazioni di campionamento (Pseudo- $F_{2,18}=3,95$, $p\text{-value}=0,025$). In particolare, *A. crassa* presenta abbondanze elevate nel periodo di alto livello, ma esse sono paragonabili a quelle del basso livello e significativamente più alte di quelle del medio livello (Fig. 22). Il chimismo delle acque spiega meno del 3% della variabilità associata ad *A. crassa*.

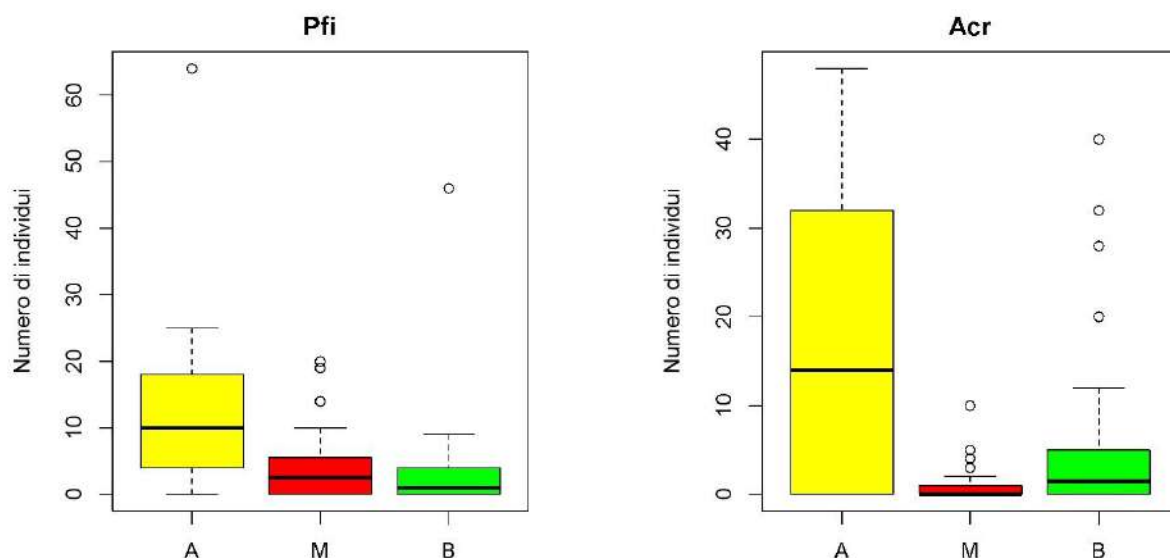


Fig. 22 - Boxplot rappresentanti le abbondanze delle specie *Paracyclops fimbriatus* (Pfi) e *Attheyella crassa* (Acr) nei periodi di alto (A), medio (M) e basso (B) livello idrico.

4.3.4 Approccio funzionale a livello del taxon Copepoda

Analogamente a quanto sopra evidenziato per la meiofauna, i ruoli funzionali dei copepodi di acqua dolce, soprattutto degli ambienti lacustri, sono poco indagati. Nei mesi passati abbiamo effettuato una revisione degli studi inerenti questo argomento, focalizzandoci sui copepodi della zona litorale dei laghi. I risultati della revisione ci hanno consentito di eleggere cinque tratti funzionali per indagare gli effetti delle variazioni di livello sulla funzionalità della struttura di comunità a copepodi (Tab. 11). I tratti funzionali selezionati sono di tipo morfologico (*body size and biomass*), fisiologico (*diet and feeding habits*), inerenti lo sviluppo (*life history*) e il comportamento (*locomotion and substrate relation*).

Nel 2021, abbiamo condotto delle analisi preliminari sui dati derivanti da tre campionamenti (Agosto e Settembre 2019 e Luglio 2020) e un subset di 11 specie.



Tab. 10. Tratti funzionali del taxon Copepoda.

Tratto funzionale	Modalità	Definizione
Dieta	Detrito	Aggregato di materiale organico con dimensioni < 1mm come, ad esempio, piante o animali in decomposizione.
	Microfite vive	Alghe unicellulari, comunemente rinvenute nei corpi idrici superficiali, che vivono nella colonna d'acqua ma anche nei sedimenti. Possono presentarsi in forma di singola cellula o come aggregati, in gruppi o catene. La loro dimensione dipende dalla specie ma può variare da pochi micron a qualche centinaio.
	Onnivoria	Gli organismi onnivori sono capaci di ottenere nutrimento sia dagli animali che dalle piante.
	Invertebrati vivi	Riferito alla predazione di invertebrati.
Strategie di alimentazione	Mangiatori di deposito	Ingeriscono le particelle organiche (detrito e microorganismi) associate al sedimento. In molti casi, possono ingerire il sedimento stesso, digerire la parte organica e microbica, ed eliminare come scoria il sedimento inorganico.
	Opportunisti	Organismi che possono cambiare la strategia di alimentazione a piacimento, in funzione del tipo di cibo che incontrano.
	Raschiatori	Organismi che raschiano le alghe e/o i microorganismi attaccati al substrato inorganico.
	Predatori	Organismi che si nutrono predando altri animali.
	Pascolatori	Organismi che si nutrono di alghe e/o fitoplancton e/o piante. Possono ingerire le alghe intere oppure pascolare sulle piante.
Stadio di sviluppo	Femmine ovigere	Femmine recanti sacche ovigere.
	Adulti	Stadio riproduttivo dei copepodi (maschi e femmine).
	Copepoditi	Stadio giovanile dei copepodi successivo a quello naupliare.
	Nauplii	Stadio naupliare (stadio di sviluppo iniziale).
Locomozione	Nuotatori	Organismi che nuotano negli spazi interstiziali tra i granuli di sedimento e/o sul sedimento stesso remando con gli arti ambulacrali.
	Scavatori	Organismi che abitano nel sedimento fine (argilla e silt o sabbia fine) e si muovono facendosi strada tra i granuli, spesso lasciando dei buchi al loro passaggio. Possono farsi strada spingendo il sedimento o ingerendolo. Hanno spesso un corpo robusto adatto allo scopo.

I risultati sono stati pubblicati sulla rivista *Hydrobiologia* (Cifoni *et al.*, 2022). In breve, le analisi funzionali hanno evidenziato che le fluttuazioni del livello idrico del Lago Maggiore, nel periodo considerato dallo studio, avevano avuto un'influenza significativa su alcune modalità funzionali dei tratti inerenti lo sviluppo (variazione del numero di femmine ovigere) e la fisiologia (variazione del numero di individui opportunisti, onnivori e mangiatori di deposito) di questi organismi. Tuttavia, nessun tratto funzionale è risultato severamente impattato. I risultati dello studio preliminare avevano suggerito che alcuni servizi ecosistemici resi dai copepodi della zona litorale erano ottimali durante il periodo di alto livello e tendevano a diminuire lievemente durante i periodi di basso livello idrico. Tuttavia, nessun tratto funzionale era stato completamente “eroso”, cioè era scomparso a seguito di un innalzamento o abbassamento del livello idrico.

In seguito, abbiamo analizzato i dati funzionali relativi all'intero periodo di campionamento. Analogamente a quanto fatto in precedenza in merito alla funzionalità della meiofauna, abbiamo misurato le dimensioni corporee (lunghezza e larghezza) di ogni individuo e abbiamo calcolato la relativa biomassa (per maggiori dettagli metodologici, si veda il protocollo in appendice). I copepodi sono stati successivamente attribuiti (in termini percentuali) ai cinque tratti funzionali riportati in Tabella 10. Analogamente a quanto fatto per l'approccio tassonomico, i valori percentuali relativi ai tratti funzionali sono stati analizzati mediante una PERMANOVA a tre fattori, eventualmente seguita da test *post-hoc*. Le percentuali dei tratti funzionali sono state analizzate con modelli lineari utilizzando come predittori le variabili chimico-fisiche di cui alla Tabella 11. Usando la medesima metodologia,



abbiamo anche analizzato i *life history traits* in termini di abbondanze, per valutare gli effetti delle variazioni di livello idrico sugli stadi ontogenetici (nauplii, copepoditi, adulti) e sul sesso (femmine e maschi).

Le analisi hanno evidenziato che gli stadi giovanili non hanno risentito delle variazioni di livello idrico. Infatti, le abbondanze dei nauplii, dei copepoditi e le abbondanze cumulate di nauplii e copepoditi, non hanno subito variazioni significative in funzione delle variazioni di livello. Gli stadi giovanili non hanno risentito neanche della tipologia di habitat o delle diverse stazioni di campionamento. Abbiamo osservato lo stesso risultato per quanto riguarda le abbondanze delle femmine. Diversamente, le abbondanze dei maschi sembrano aver risentito delle variazioni di livello (Pseudo- $F_{2,18}=4,70$, $p\text{-value}=0,024$), ma non degli altri due fattori legati alle stazioni di campionamento o alla tipologia di habitat. In particolare, i maschi differiscono in maniera significativa tra il medio e l'alto livello, essendo significativamente più abbondanti nel periodo di alto livello idrico. Il chimismo delle acque di lago spiega meno del 10% della variabilità dei dati relativi ai *life history traits* dei copepodi.

Il tratto funzionale legato alla locomozione sembra risentire delle variazioni di livello idrico (Pseudo- $F_{2,18}=3,57$; $p\text{-value}=0,013$), ma non degli altri fattori legati alle stazioni di campionamento o alla tipologia di habitat. Tale variabilità è, tuttavia, significativa solo tra i periodi di medio e alto livello idrico. Tali differenze sono da imputarsi alle percentuali di copepodi nuotatori che risultano meno abbondanti nei periodi di alto livello idrico, a parità di *burrowers* (scavatori). Questo significa, che durante i periodi alto livello idrico, entrambe le classi funzionali sono ben rappresentate. Il chimismo delle acque di lago spiega il 14% di tale variabilità. Analogamente, anche il tratto relativo alla forma del corpo sembra risentire unicamente delle variazioni di livello idrico (Pseudo- $F_{2,18}=3,57$; $p\text{-value}=0,013$). Tuttavia, in questo caso, i periodi di alto livello idrico si contraddistinguono per le elevate abbondanze di copepodi dalla forma cilindrica, mentre le forme sferiche (da afferire agli stadi naupliari) sono significativamente più abbondanti nel periodo di basso e medio livello rispetto a quello di alto livello idrico. Le analisi statistiche non hanno evidenziato variazioni significative in merito alla dimensione degli animali in funzione dei tre fattori esaminati. L'effetto significativo delle variazioni di livello idrico è evidente anche per le biomasse (Pseudo- $F_{2,18}=2,39$; $p\text{-value}=0,048$), che sono risultate significativamente più elevate nel periodo di alto livello idrico rispetto al basso. Il chimismo spiega, tuttavia, meno del 10% di tale variabilità. Diversamente, il tipo di dieta e le modalità di alimentazione sembrano risentire delle variazioni di livello idrico (dieta: Pseudo- $F_{2,18}=2,57$; $p\text{-value}=0,038$; strategie di alimentazione: Pseudo- $F_{2,18}=2,57$; $p\text{-value}=0,030$), ma a differenza del tratto funzionale legato alla locomozione, la dieta e le strategie di alimentazione variano significativamente anche in funzione delle stazioni di campionamento (dieta: Pseudo- $F_{2,18}=2,57$; $p\text{-value}=0,038$; strategie di alimentazione: Pseudo- $F_{2,18}=2,75$; $p\text{-value}=0,029$). Nel dettaglio, durante i periodi di alto livello risultano più abbondanti i copepodi che mangiano il detrito, mentre nei periodi di medio livello idrico risultano più abbondanti gli onnivori e gli erbivori raschiatori o i mangiatori di microalghe. Tuttavia, mentre i raschiatori erbivori sono ugualmente abbondanti in tutte e tre le stazioni di campionamento durante il medio livello idrico, i copepodi onnivori e opportunisti, cioè quelli che possono variare strategia di alimentazione a piacimento in funzione del cibo che incontrano, sono più abbondanti a Fondo Toce nel periodo di medio livello idrico, mentre i detritivori abbondano alle Bolle di Magadino durante i periodi di alto livello idrico. Il chimismo delle acque spiega solo il 14% di tale variabilità.



4.3.5 Conclusioni inerenti la meiofauna

Il nostro studio è il primo relativo agli effetti delle variazioni di livello sulla meiofauna della zona litorale di un grande lago. Abbiamo osservato che la zona litorale del Lago Maggiore ospita una comunità meiofaunistica e a copepodi ben diversificata. Le nostre analisi hanno evidenziato che le variazioni di livello idrico registrate nei periodi estivi degli anni 2019-2021 non comportano un impatto sulla ricchezza tassonomica della comunità meiofaunistica e sulla ricchezza specifica della comunità a copepodi. Tuttavia, la struttura di comunità meiofaunistica, in termini di distribuzione delle abbondanze tra i vari taxa, risulta influenzata dalle variazioni di livello idrico, come anche osservato in studi precedenti relativi ad altri ecosistemi (e.g., Caramujo *et al.*, 2008), e questo ne avvalorava l'utilizzo quale indicatore. A livello di singolo taxon, tuttavia, solo alcuni gruppi hanno risposto in modo statisticamente significativo. Ad esempio, le abbondanze dei cladoceri chidoridi, taxon bentonico dominante nella zona litorale del lago, non sembrano minimamente influenzate dalle variazioni dei livelli idrici nel periodo estivo degli anni 2019-2021. Tali osservazioni sono in linea con Klemetsen *et al.* (2020), che hanno trovato elevate abbondanze di chidoridi nelle zone litorali di laghi oligotrofici con poca vegetazione, indipendentemente dai livelli idrici. Acari e ditteri chironomidi sono, invece, risultati molto abbondanti durante i periodi di alto livello idrico e meno abbondanti, ma comunque ben rappresentati, quando il livello del lago era medio/basso. La stessa cosa si osserva per copepodi e ostracodi, sebbene, per quest'ultimi, le analisi univariate non abbiano evidenziato una differenza significativa. D'altra parte, i nematodi e gli oligocheti sono risultati più abbondanti nei periodi di medio/basso livello, sebbene fossero comunque presenti e ben rappresentati anche nei periodi di alto livello idrico. I nostri risultati sembrano essere in linea con Traunspurger *et al.* (2012), che hanno evidenziato la preferenza degli ostracodi per i periodi di alto livello idrico e Mastrantuono *et al.* (2008), che sono giunti alla stessa conclusione riguardo agli acari. La preferenza dei primi stadi larvali dei chironomidi per i periodi di alto livello idrico è in linea con le osservazioni di Shcherbina (2013). Furey *et al.* (2006) hanno osservato che i chironomidi con strategie di sopravvivenza r-selezionate (cioè chironomidi di piccole dimensioni) sembravano ben adattati alle fluttuazioni dei livelli idrici delle zone litorali nei bacini di acqua dolce, come nel caso dei chironomidi afferenti alla meiofauna della zona litorale del Lago Maggiore. Il nostro studio è uno dei pochi ad aver osservato variazioni nelle abbondanze di nematodi e oligocheti in funzione dei livelli idrici di un lago. I nostri risultati sono in linea con quelli di (Vidakovic & Bogut, 2004) per quanto riguarda i nematodi nel lago Sadaka (Croazia), e quelli di Furey *et al.* (2006) che hanno trovato elevate abbondanze di oligocheti in laghi soggetti a grandi variazioni del livello idrico. Le analisi di correlazione lineare hanno evidenziato che il chimismo delle acque del Lago Maggiore spiega solo una piccola percentuale della distribuzione e variazione delle abbondanze dei taxa meiofaunistici. Questo risultato suggerisce che altri fattori, come la predazione e la variazione della complessità dei microhabitat, potrebbero avere un ruolo predominante nel determinare i pattern distribuzionali delle abbondanze meiofaunistiche.

Le variazioni di livello del lago sembrano aver influenzato solo i tratti funzionali legati alle dimensioni e alla forma del corpo dei taxa meiofaunistici, nel periodo considerato in questo studio. La locomozione, la dieta e le abitudini alimentari sembrano non essere state influenzate. Le variazioni delle dimensioni corporee dovute alle variazioni dei livelli idrici sono state precedentemente osservate anche nella comunità a diatomee (Leira *et al.*, 2015), a macroinvertebrati (Špoljar *et al.*, 2021) e a chidoridi (Mezquita & Miracle, 1997). In tali studi, le variazioni dimensionali delle diatomee e dei macroinvertebrati sono state attribuite ad una riduzione dell'eterogeneità dell'habitat dovuta



all'abbassamento del livello idrico e conseguente variazione delle concentrazioni di detriti sospesi. Riteniamo plausibile che questi fattori possano spiegare anche le variazioni nella composizione meiofaunistica osservate nel nostro studio, tanto più che il chimismo delle acque è risultato un debole descrittore dei pattern osservati. Infine, la letteratura ci dice che i cambiamenti del livello idrico influenzano la forma delle diatomee (Leira *et al.*, 2015), ma non è noto se essi influenzino anche la forma del corpo di micro- e macroinvertebrati. Le variazioni che abbiamo osservato potrebbero essere dovute a cambiamenti, anche minimi, della composizione granulometrica dei sedimenti litorali, del biofilm associato, e della abbondanza delle diatomee centriche fortemente silicizzate indotte da un maggior irraggiamento dovuto all'abbassamento del livello idrico (Leira *et al.*, 2015).

I copepodi, secondo gruppo dominante del meiobenthos della fascia litorale del lago, sono risultati sensibili alle variazioni di livello, con particolare riferimento a due specie dominanti, *P. fimbriatus* e *A. crassa*. Tuttavia, né la ricchezza specifica né la ripartizione delle abbondanze tra le diverse specie sembrano essere state compromesse durante il periodo di osservazione nei mesi estivi 2019-2021. Le variazioni nelle abbondanze di *P. fimbriatus* e *A. crassa* sono in linea con le osservazioni di Cifoni *et al.* (2022) e sembrano svincolate dalla fenologia della specie (Sarvala, 1979; Fefilova, 2007). In particolare, *P. fimbriatus* e *A. crassa* sembrano prediligere i periodi di alto livello idrico. Sebbene durante periodi di medio e basso livello le abbondanze di queste due specie diminuiscano, esse rimangono comunque ben rappresentate poiché entrambe le specie possono effettuare attività di *burrowing* (Gaviria, 1998). *Paracyclops fimbriatus* e *A. crassa* possono infiltrarsi tra le particelle di sedimento, scavando delle microscopiche buche. In tal modo, esse resistono alla turbolenza dell'acqua dovuta all'aumento del moto ondoso durante il periodo di basso livello idrico (Särkkä, 1996; Sarvala, 1998; Dole-Olivier *et al.*, 2000).

D'altra parte, *P. fimbriatus* è anche una specie opportunistica con una dieta onnivora e può prosperare anche in condizioni avverse. Abbiamo osservato che i copepodi onnivori opportunisti sono più abbondanti durante il medio livello dell'acqua rispetto a quello alto, come osservato anche da Evtimova & Donohue (2016) per altri invertebrati bentonici nella zona litoranea dei laghi. I generalisti potrebbero resistere meglio ai disturbi dovuti all'aumento del moto ondoso rispetto alle specie non generaliste sfruttando un'ampia gamma di potenziali fonti alimentari per far fronte ai cambiamenti ambientali (Death & Winterbourn, 1995). Da un punto di vista funzionale, anche Cifoni *et al.* (2022) hanno riscontrato una variazione significativa nella biomassa dei copepodi e nelle percentuali di individui che si nutrono del biofilm microbico adeso ai sedimenti, opportunisti e onnivori, a causa delle variazioni di livello idrico. Abbiamo osservato, infatti, una biomassa di copepodi significativamente inferiore durante i periodi di basso livello idrico, come riportato anche in altri studi (e.g., Palomäki, 1994). Tale fenomeno è dovuto, probabilmente, al disturbo generato dalle onde. Ulteriori fattori che dovrebbero essere presi in considerazione, come la riduzione dei nutrienti (ad esempio, Vakkilainen *et al.*, 2004; Sodr  & Bozelli, 2019), descrivono solo molto debolmente la variabilit  osservata.

In conclusione, i risultati ottenuti evidenziano che le variazioni di livello registrate nei mesi estivi 2019-2021 hanno indotto solo lievi modificazioni nella composizione e nella funzionalità della comunità di microinvertebrati bentonici della zona litorale. Tuttavia, si tratta di variazioni che, per lo meno fino ad ora, non hanno causato una erosione della diversità tassonomica e funzionale di tali comunità. Inoltre, sono alterazioni che sembrano influenzare negativamente, inducendo un decremento delle abbondanze, biomasse e percentuali di alcuni tratti funzionali, solo i periodi di basso livello idrico, mentre i periodi di alto livello idrico hanno fatto registrare picchi di abbondanze e di biomassa. Si tratta di un risultato atteso e naturale legato alle modalità di dispersione della meiofauna. Infatti,



sebbene i taxa meiofaunistici abbiano evoluto dei meccanismi che consentono loro di rimanere il più possibile a contatto con i sedimenti, essi tendono comunque a disperdersi nell'ambiente e la loro dispersione avviene attraverso la colonna d'acqua principalmente per trasporto passivo. La meiofauna lacustre, ad esempio, predilige gli ambienti iperbentici, ovvero i primi centimetri di litorale sommerso, i cui sedimenti sono più ricchi di ossigeno e di sostanze nutritive. Da questo ambiente, gli organismi meiofaunistici vengono letteralmente trascinati via insieme al sedimento litorale "eroso" dall'azione delle onde. Tale erosione è maggiore durante i periodi di basso livello idrico, quando è più forte il rimaneggiamento dei sedimenti per opera delle onde (*breaking waves*) che raschiano il sedimento e portano in sospensione la meiofauna degli strati più superficiali. Le variazioni di livello del Lago Maggiore, nel periodo estivo 2019-2021, non hanno avuto, quindi un effetto disturbante i naturali cicli di vita dei copepodi bentonici.

Diversamente da quanto riportato in letteratura (Sahuquillo *et al.*, 2012), non abbiamo osservato un effetto significativo del chimismo sulla variabilità della composizione tassonomica e funzionale della meiofauna e dei copepodi della zona litorale. Questo risultato è probabilmente dovuto al fatto che le variazioni di livello idrico registrate nel periodo di indagine non sono state tali da provocare significative variazioni in termini di conducibilità elettrica e nutrienti (come spiegato nei paragrafi successivi "Analisi chimiche delle acque"). Le variazioni in termini di dimensione e forma della meiofauna, e forma e biomassa dei copepodi sono, pertanto, probabilmente imputabili a fattori non indagati in questo studio, come la predazione e la variabilità della complessità degli habitat (Basińska *et al.*, 2014). Il rinvenimento, ad esempio, di copepodi di forma sferica (ovvero di stadi naupliari) con abbondanze maggiori nei periodi di medio/basso livello potrebbe essere dovuto ad un abbassamento della pressione predatoria. L'aumento della torbidità dell'acqua dovuta all'incremento del moto ondoso durante i bassi livelli idrici potrebbe aver ostacolato la visione dei predatori, come osservato per i macroinvertebrati (Špoljar *et al.*, 2018, 2021). Tuttavia, i tratti funzionali morfologici, in particolare quelli relativi alle dimensioni e alla forma del corpo di tali animali, trascendono importanti funzioni vitali (es. respirazione, alimentazione, crescita, riproduzione e sopravvivenza), e sono comunemente riconosciuti quali importanti fattori che determinano le strategie ecologiche e la ripartizione dell'energia nelle comunità ad invertebrati (Litchman *et al.*, 2013). Per tale motivo, suggeriamo di considerare tali tratti quali indicatori da monitorare nel tempo perché potrebbero rivelare impatti ecologici più importanti di quelli osservati in questo studio (Brucet *et al.*, 2010).

Ad esempio, alcuni taxa meiofaunistici (nematodi, oligocheti, acari, copepodi e ditteri chironomidi) e alcuni tratti funzionali (biomasse, dimensioni e forme corporee, dieta e strategie di alimentazione), già lievemente suscettibili alle variazioni in diminuzione di livello idrico del lago osservate, potrebbero subire un impatto severo e potenzialmente irreversibile qualora si sommassero altri fattori di disturbo quale un innalzamento della temperatura dovuto al cambiamento climatico o un inquinamento. In tali circostanze, alcuni dei servizi ecosistemici resi dalla meiofauna delle zone litorali del lago potrebbero essere fortemente ridotti o andare perduti (Cifoni *et al.*, 2021, 2022; Di Lorenzo *et al.*, 2021). Pertanto, un monitoraggio dei tratti strutturali e funzionali delle comunità litorali del lago, come evidente dal presente studio, rappresenta una base promettente per migliorare la nostra comprensione, previsione e gestione dei rischi.



Analisi chimiche delle acque

In totale, sono stati raccolti ed analizzati 36 campioni (Tab. 1), su ciascuno dei quali sono state determinate 11 variabili.

Tab. 11 - Risultati delle analisi chimiche eseguite nei tre anni di indagini nei 3 punti di campionamento, ognuno rappresentato da due siti (a e b) e in diversi momenti stagionali caratterizzati da diversi livelli dell'acqua. Cond.: conducibilità a 20 °C, Alc.: alcalinità totale, RP: fosforo reattivo, TP: fosforo totale, TN: azoto totale.

	Data	pH	Cond. μS cm ⁻¹	Alc. meq L ⁻¹	N-NO ₃ μg L ⁻¹	N-NH ₄ μg L ⁻¹	RP μg L ⁻¹	TP μg L ⁻¹	TN mg L ⁻¹	Si mg L ⁻¹
1a Fondotoce	08/08/19	7,75	135,5	0,823	418	28	2	10	0,88	0,29
2b Fondotoce	08/08/19	7,91	132,7	0,744	437	29	3	11	0,64	0,33
3a Sesto Calende	08/08/19	8,04	134,3	0,773	429	49	3	14	0,91	0,15
4b Sesto Calende	08/08/19	8,24	134,9	0,785	401	19	2	5	0,56	0,22
5b Magadino	09/08/19	7,32	158,3	0,999	410	42	8	8	0,81	1,22
6a Magadino	09/08/19	7,35	151,4	0,917	393	37	6	36	0,84	0,62
1a Fondotoce	17/09/19	8,20	139,7	0,834	353	29	3	8	0,57	0,60
2b Fondotoce	17/09/19	8,34	142,7	0,808	378	19	2	9	0,56	0,80
3a Sesto Calende	19/09/19	8,32	138,2	0,821	-	26	2	9	0,56	0,58
4b Sesto Calende	19/09/19	8,92	135,9	0,794	-	18	2	6	0,52	0,49
5b Magadino	18/09/19	7,37	182,3	1,343	292	100	11	21	0,64	1,95
6a Magadino	18/09/19	8,36	194,5	1,413	330	85	6	37	0,70	1,74
1a Fondotoce	07/07/20	7,47	133,1	0,801	378	34	3	13	0,69	0,49
2b Fondotoce	07/07/20	8,63	132,5	0,785	453	13	4	11	0,72	0,67
3a Sesto Calende	08/07/20	8,44	136,0	0,843	426	21	2	11	0,72	0,40
4b Sesto Calende	08/07/20	8,46	137,9	0,864	416	27	2	9	0,79	0,43
5b Magadino	09/07/20	8,50	162,2	1,035	452	50	6	18	0,58	1,56
6a Magadino	09/07/20	7,33	151,6	0,943	439	50	12	25	0,63	1,55
1a Fondotoce	04/08/20	9,07	136,9	0,796	338	46	3	8	0,58	0,47
2b Fondotoce	04/08/20	9,15	135,9	0,790	345	41	1	7	0,55	0,45
3a Sesto Calende	06/08/20	8,72	132,8	0,814	333	90	2	15	0,65	0,49
4b Sesto Calende	06/08/20	9,21	133,5	0,814	348	28	1	8	0,56	0,35
5b Magadino	05/08/20	7,71	225,2	1,954	252	489	14	85	1,02	3,25
6a Magadino	05/08/20	8,08	203,4	1,532	368	46	8	39	0,76	1,84
1a Fondotoce	09/09/20	8,40	137,9	0,802	268	44	3	9	0,71	0,50
2b Fondotoce	09/09/20	8,14	165,9	0,829	342	28	3	8	1,54	0,49
3a Sesto Calende	10/09/20	7,91	144,4	0,842	256	4	3	13	0,64	0,47
4b Sesto Calende	10/09/20	8,34	141,0	0,782	375	10	4	10	0,95	0,58
5b Magadino	11/09/20	8,97	138,1	0,822	232	21	5	10	0,63	0,48
6a Magadino	11/09/20	8,97	138,9	0,823	230	27	4	9	0,63	0,48
1a Fondotoce	05/07/21	8,09	141,5	0,823	530	18	2	9	0,70	0,11
2b Fondotoce	05/07/21	8,18	142,2	0,823	498	15	2	8	0,66	0,17
3a Sesto Calende	05/07/21	8,78	143,6	0,846	508	10	4	10	0,68	0,17
4b Sesto Calende	05/07/21	8,36	145,6	0,871	508	9	3	11	0,70	0,16
5b Magadino	06/07/21	7,66	147,2	0,864	437	23	7	24	0,67	0,54
6a Magadino	06/07/21	7,45	144,6	0,848	447	25	11	33	0,69	0,73



In Tabella 11 sono riportati i risultati delle analisi chimiche svolte nei tre anni di indagine, limitatamente alle variabili principali. I dati nel loro complesso indicano caratteristiche chimiche delle acque molto simili nelle stazioni di Fondotoce e Sesto Calende (conducibilità 130-145 $\mu\text{S cm}^{-1}$, alcalinità attorno a 0,80 meq L^{-1} , basse concentrazioni di fosforo reattivo (RP) e totale (TP)). La stazione di Magadino presenta invece un maggior contenuto di soluti (conducibilità tra 150 e 200 $\mu\text{S cm}^{-1}$ e alcalinità prossima o superiore a 1 meq L^{-1}) e concentrazioni più elevate di nutrienti, soprattutto fosforo, che nel campionamento di Agosto 2020 è risultato particolarmente elevato (rispettivamente, 40 e 85 $\mu\text{g L}^{-1}$ come TP nei siti a e b). Anche la silice risulta presente in concentrazioni più elevate a Magadino rispetto alle altre due stazioni. Nel caso di Fondotoce e Sesto Calende, inoltre, i due siti a e b appaiono molto simili dal punto di vista chimico, con livelli leggermente superiori di P e N ammoniacale nel sito Sesto Calende b.

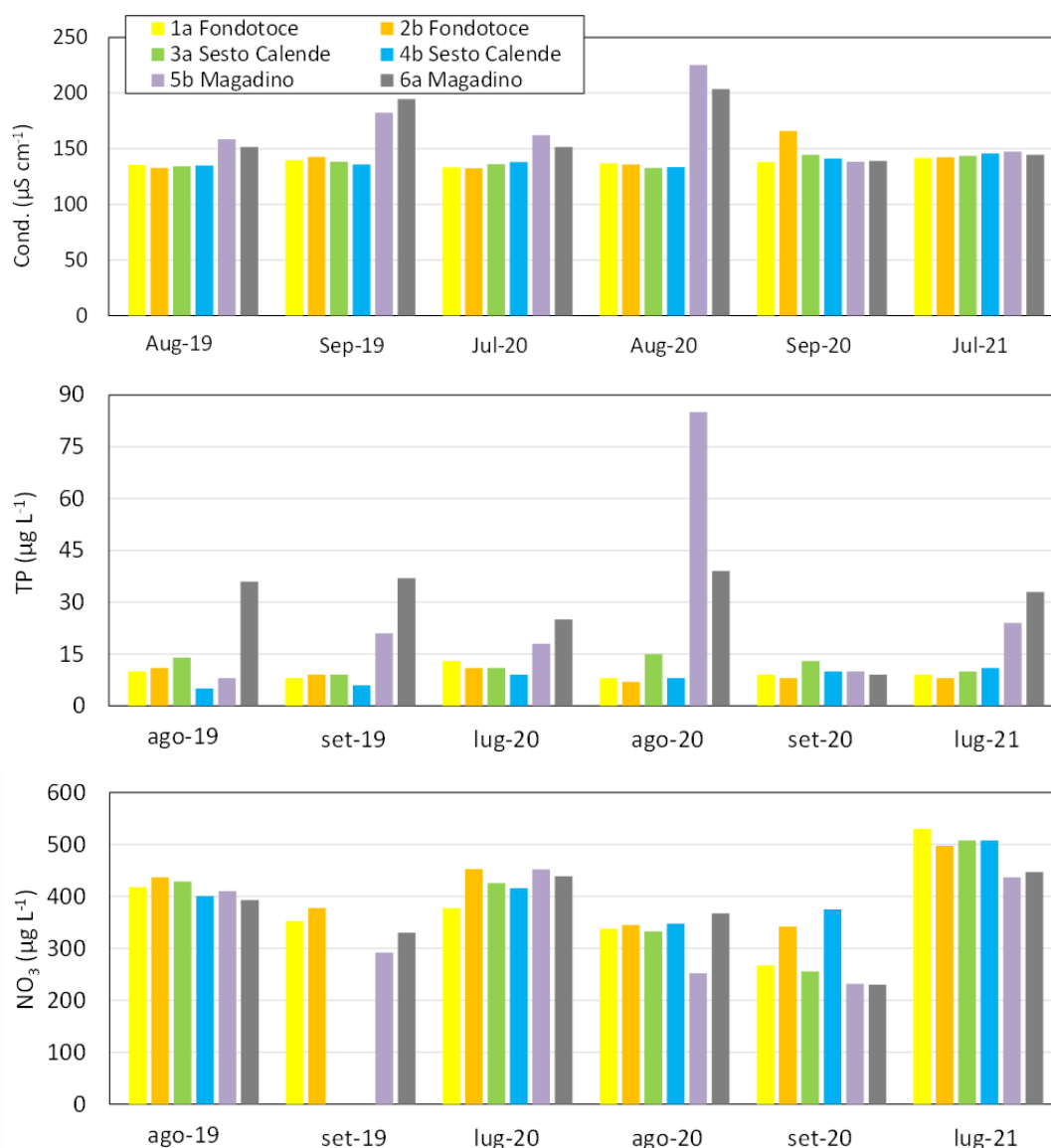


Fig. 23 – Variabilità spaziale e temporale dei valori di conducibilità (Cond.), fosforo totale (TP) e azoto nitrico (NO_3).



Nel caso di Magadino invece, i due siti appaiono piuttosto differenti, con il sito b caratterizzato da livelli più elevati di P, N ammoniacale e N totale. L'azoto nitrico presenta una situazione opposta, con concentrazioni complessivamente più elevate a Fondotoce e Sesto Calende rispetto a Magadino. Le differenze a livello spaziale sono risultate particolarmente evidenti nel 2019 e nei mesi estivi del 2020, mentre le tre stazioni sono risultate simili tra loro in Settembre 2020 e a Luglio 2021, sia per quanto riguarda i soluti principali che i nutrienti. Solo il contenuto di P si è confermato più elevato nella stazione di Magadino anche a Luglio 2021 (Tab. 11).

I grafici in Figura 23 permettono un miglior confronto visuale tra i diversi periodi di indagine: nel complesso, la variabilità temporale del chimismo delle acque è limitata, come dimostrato dal valore di conducibilità che si mantiene abbastanza stabile in una stessa stazione. Il P, come già rilevato, presenta valori costantemente più elevati nella stazione di Magadino, mentre l'N nitrico, che rappresenta la componente prevalente dell'N totale, mostra una maggior variabilità stagionale, molto probabilmente in relazione alle precipitazioni che sono il veicolo principale di questo elemento. Infine, si può osservare come i siti a e b di una determinata stazione non presentino differenze evidenti né per quanto riguarda i soluti né per i nutrienti; solo nel caso di Magadino i siti a e b mostrano concentrazioni abbastanza diverse di P e N ammoniacale, senza però un pattern chiaro nei diversi momenti stagionali (ad es., il TP risulta più elevato nel punto b in tutti i campionamenti ad eccezione di quello di Agosto 2020 dove si osserva il contrario).

Analisi idro-morfologiche dei litorali

Per definire meglio il posizionamento idrologico dei campionamenti della meio- e della macrofauna si sono calcolati i livelli medi, massimi e minimi giornalieri "tipici" per il periodo di riferimento 1951-2018 sui quali si sono inseriti i livelli misurati nelle date di campionamento (Fig. 24).



Figura 24 - Andamento medio (linea arancione), massimo (linea gialla) e minimo (linea grigia) tipico dei livelli giornalieri del Lago Maggiore unitamente al livello medio giornaliero evidenziato durante il progetto (periodo 1° agosto 2019 - 31 luglio 2021, linea blu) e date di campionamento (punti neri).

I campionamenti, identificati dai punti neri, sono stati effettuati in diverse situazioni idrologiche, livelli bassi, ovvero sotto la media (settembre 2019 e agosto 2020), nella media (agosto 2019 e settembre 2020), e sopra la media (luglio 2020 e luglio 2021). In questo modo è stato possibile verificare le risposte delle biocenosi analizzate in diverse situazioni idrologiche alle quali



corrispondono diverse tipologie di habitat che identificano e definiscono tali biocenosi. È importante ricordare che la biodiversità animale e vegetale nel suo complesso, è fortemente dipendente dall'ambiente (acqua, aria, terra) in cui vive, e di conseguenza dalla naturalità e qualità degli habitat con cui le componenti vegetali e animali interagiscono. Qualunque modifica e/o cambiamento agli habitat, sia di origine naturale legata ai cambiamenti climatici, che di origine antropica legata ad esempio alle artificializzazioni delle sponde o alla tipologia di gestione dei livelli, porta nel tempo a cambiamenti nella funzionalità e nella struttura delle biocenosi e quindi degli ecosistemi. Un'analisi approfondita delle caratteristiche degli habitat, in particolari zone del lago e nelle stazioni di campionamento del progetto è stata svolta in corrispondenza di valori particolarmente bassi del livello del lago (tra 192,72 m e 193,30 m s.l.m.), con lo scopo di identificare la presenza di tutti i possibili habitat, anche di quelli che, con livelli medio-alti, non sono visibili e quindi non identificabili. In questo modo è stato possibile stilare una lista di habitat di particolare interesse per le biocenosi lacustri che dovranno essere tutelati e preservati, ma anche dare indicazioni sulle pressioni insistenti sul lago che inficiano le operazioni di riqualificazione degli habitat litorali e hanno un impatto negativo sulla biodiversità animale e vegetale.

Dalle zone ripariali alla zona litorale sono stati identificati i seguenti habitat di particolare rilevanza:

- Zona riparia: boschi di latifoglie, arbusti e cespugli, prati naturali;
- Zona di sponda: arbusti e cespugli, terra, roccia, piante igrofile (es. salici);
- Zona litorale: canneto, spiagge di ghiaia, sabbia, ciottoli, roccia.

Indicativamente, si può dire che rispetto alla lunghezza totale del perimetro del Lago Maggiore, complessivamente il bosco di latifoglie copre circa il 22%, gli arbusti e cespugli il 16%, i prati naturali lo 0,6% la roccia il 13%, il canneto l'11%. Con un livello del lago basso come quello riscontrato durante l'applicazione del metodo LHS (tra 192,72 e 193,30 m s.l.m.) si sono identificate molte spiagge naturali, sia vegetate che non vegetate, per circa il 20-25% del perimetro.

Per quanto riguarda nello specifico i punti di campionamento del progetto, a Magadino (Fig. 25) la zona riparia è caratterizzata da bosco misto, cespugli e canneto con una soluzione di continuità con la zona riparia e litorale, quindi non è presente o non si può identificare una sponda vera e propria.



Fig. 25 - Stazioni di campionamento a Magadino (asciutta: Ma, bagnata: Mb), veduta dal lago.



A Fondotoce (Fig. 26) gli habitat presenti sono caratterizzati dalla presenza di bosco di latifoglie nella zona riparia, arbusti e cespugli e canneto nella zona più prossima al lago. Si è valutata la presenza di spiagge e di diversi detriti legnosi, anch'essi di particolare importanza per le biocenosi acquatiche. Anche qui non è presente una vera e propria sponda.



Fig. 26 - Stazioni di campionamento a Fondo Toce (asciutta: FTa, bagnata: FTb), veduta dal lago.

A Sesto Calende (Fig. 27) gli habitat presenti sono canneto, erbe alte, arbusti e cespugli, bosco di latifoglie, spiaggia di sabbia e ghiaia con e senza vegetazione.

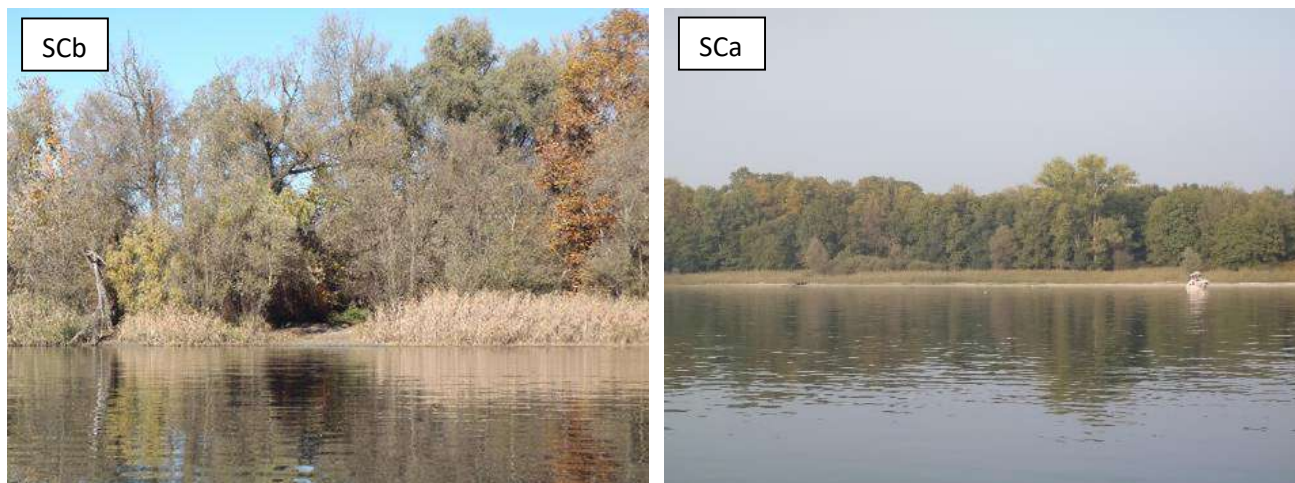


Fig. 27 - Stazioni di campionamento a Sesto Calende (asciutta: SCa, bagnata: SCb), veduta dal lago.

A qualche metro al largo della costa tra le due sezioni di campionamento e dopo la seconda è stato possibile rilevare anche la presenza di macrofite sommerse (Fig. 28), ad indicare che in zone litorali e riparie naturali, anche nella parte sommersa si possono sviluppare biocenosi tipiche di tali ambienti.

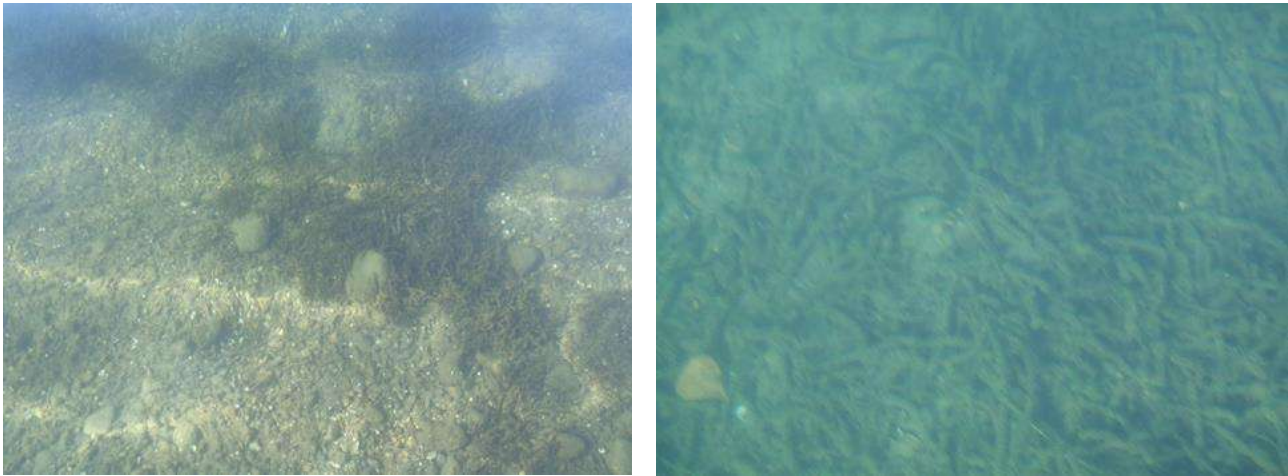


Fig. 28 - Presenza di macrofite sommerse.

In totale, le tre stazioni di campionamento del progetto rappresentano il 34,7% della naturalità complessiva del Lago Maggiore ed, in particolare, il 26,2% della zona riparia, il 61,5% della zona di riva e il 24,2% della zona litorale. La relazione tra la presenza di habitat naturali e ben diversificati come quelli presenti nelle tre stazioni di campionamento, è di fatto verificata dalle risultanze dei campionamenti di macro- e meio-fauna: maggiore è la naturalità e la diversificazione dell'habitat e maggiore è la biodiversità della comunità sotto analisi. Quindi, preservare gli habitat e rinaturalizzarli dove possibile, risulta di fatto la condizione prima per sostenere gli ecosistemi litorali lacustri. Anche la gestione dei livelli del lago deve tener conto delle sue ripercussioni sugli habitat, livelli alti in particolari momenti dello sviluppo delle biocenosi litorali possono influire negativamente sulle comunità biologiche, diminuendo di fatto la qualità ecologica globale.



Protocollo per analisi di invertebrati macrobentonici
Kamburska L., Zaupa S., Paganelli D., Boggero A. – CNR-IRSA Verbania

Una volta prelevati i campioni in campo, questi vengono trasferiti in laboratorio conservandoli al fresco, per le successive analisi.

1. Separazione del campione di sedimento in due frazioni

- Il campione raccolto, composto da acqua e sedimenti, viene suddiviso in campo separando il detrito organico dalla componente inorganica, facilitandone così le successive operazioni di smistamento al microscopio stereoscopico in laboratorio, preservando il più possibile gli oligocheti. Questa suddivisione si effettua grazie all'uso di un becher e di un retino da risciacquo dotato della stessa dimensione di maglia del retino da campionamento. I campioni vengono fissati in campo con alcool etilico (80%).

2. Smistamento dei macroinvertebrati (*sorting*)

- Entrambe le frazioni, quella organica che dovrebbe contenere la maggior parte degli organismi, e quella inorganica che non dovrebbe più contenere organismi o dovrebbe contenere solamente quelli a peso specifico maggiore, vengono analizzate *in toto* al microscopio stereoscopico (Zeiss, ingrandimento: 80×) per aver la sicurezza di aver prelevato tutti gli organismi.
- Si procede con la preparazione di piastre di Petri contenenti parte del sedimento coperto di acqua e si procede all'analisi allo stereomicroscopio (ingrandimento: 10-20×), avendo la sicurezza di aver raccolto tutti gli organismi.
- Gli organismi vengono prelevati con l'uso di pinzette o aghi manicati a seconda della tipologia e raggruppati in grandi gruppi tassonomici (ordini/classi) e inseriti in *vials* in vetro (5 mL).

3. Conservazione dei campioni in laboratorio

- Per preservare i campioni contenuti nei *vials* si usa alcool etilico (80%). Ogni *vial* viene contrassegnato da etichette che riportano il nome del sito, la replica, la data di campionamento e il nome del taxon.

4. Misurazione delle dimensioni lineari

- Gli individui vengono riposti in una piastra di Petri e ogni individuo viene fotografato con una fotocamera OPTIKA integrata allo stereomicroscopio Zeiss, l'immagine che ne consegue viene catturata mediante il Software *VidCap32* (Fig. 1).
- L'immagine viene successivamente elaborata con il Software *ImageJ* che permette la misurazione di alcuni parametri biometrici (e.g. lunghezza del corpo, altezza e lunghezza della conchiglia). Vengono misurati solo individui integri e non danneggiati di chiromidi, ceratopogonidi, bivalvi, efemerotteri, plecoteri, tricoteri.
- Le misure lineari ottenute (Tabella 1, modificata da Sangiorgio *et al.*, 2009), espresse in mm, vengono riportate su un foglio di lavoro appositamente preparato (All. 1) e riportate in un database.

5. Identificazione tassonomica

- Gli *specimens* relativi a oligocheti e chironomidi vengono identificati singolarmente a livello di specie tramite osservazione in microscopia (Zeiss Axiolab) ad un ingrandimento massimo 1000×, previo montaggio su vetrini porta-oggetto usando il Faure come liquido di montaggio per preparati non permanenti. Efemerotteri, plecoteri, tricoteri, odonati, coleotteri, molluschi (gasteropodi e



bivalvi) e irudinei vengono identificati a livello di specie allo stereomicroscopio (Zeiss Stemi 2000, ingrandimento max 50×).

Tab. 1 - Dimensioni lineari (L) per grandi raggruppamenti tassonomici: Lunghezza totale del corpo (TL); Lunghezza o Asse maggiore delle valve (SL); Altezza o Asse minore delle valve (SH); Lunghezza del corpo (BL); Lunghezza della testa (HL).

Phylum/ Classe	Ordine	Dimensione lineare (L) espressa in mm	Dimensione abbreviazione
Bivalvia		Asse maggiore delle valve	SL
		Asse minore delle valve	SH
Crustacea	Amphipoda/Isopoda	Corpo senza antenne e uropodi	TL
Crustacea	Decapoda	Corpo senza antenne	TL
Insecta	Diptera	Lunghezza totale (dal margine anteriore della testa all'ultimo segmento addominale)	TL (BL+HL)
		Lunghezza del corpo (dal margine posteriore della testa all'ultimo segmento addominale)	BL
		Lunghezza della testa	HL
Insecta	Coleoptera	Lunghezza totale (dal margine anteriore della testa all'ultimo segmento addominale)	TL
Insecta	Ephemeroptera Plecoptera Odonata	Lunghezza totale (dal margine anteriore della testa all'ultimo segmento addominale escluse antenne ed appendici)	TL
Insecta	Hemiptera	Lunghezza totale (dal margine anteriore della testa all'ultimo segmento addominale escluse antenne)	TL



a)



b)

Fig. 1 - Stereomicroscopio con fotocamera OPTIKA integrata (a), immagine trasferita al PC per l'elaborazione con il Software *ImageJ* (b).

- Le larve di chironomidi vengono dissezionate in modo da separare il capo, che contiene le principali strutture utilizzate nell'identificazione tassonomica, dal resto del corpo. Il capo viene montato ventralmente su un vetrino porta-oggetto utilizzando come liquido di montaggio l'acqua. In questa maniera, una volta conclusa l'identificazione, il capo può essere rimosso e, in una fase successiva, utilizzato per valutare la biomassa (punto 7).



6. Stima della Densità

- Dal conteggio delle singole specie appartenenti ai diversi taxa, si ottiene il numero degli individui totali appartenenti ad ogni punto di campionamento di ogni sito. I valori ottenuti per i singoli replicati sono quindi utilizzati per il calcolo del valore medio di densità espressa come individui al metro quadrato (ind m⁻²). L'area utile per ogni replicato è 576 cm² (24 x 24 cm).
- Il numero totale di individui presenti in ogni replicato viene rapportato a 1 m² (10000 cm²) secondo la seguente proporzione:

$$N \div 576 = D \div 10000$$

da cui si ricava

$$D = N \times 10000 \div 576$$

quindi

$$D = N \times 17,36$$

Dove:

D densità (ind m⁻²)

N numero totale di individui conteggiati in ogni replicato di ogni sito

- Per ogni stazione vengono raccolti 3 replicati, e si procede quindi a mediare i valori dei tre replicati per avere la densità media per stazione.

7. Determinazione della biomassa tramite peso umido e peso secco

- I Chironomidi vengono scelti come campione di riferimento per la misurazione della biomassa tramite peso secco e peso umido. I Chironomidi infatti, sono il gruppo più rappresentativo della comunità bentonica litorale lacustre.
- Per la determinazione del peso umido (Wet weight – WW, espresso in mg) i singoli individui vengono velocemente passati su carta assorbente, e successivamente pesati utilizzando una bilancia micrometrica di precisione Sartorius ($x \pm 0,001$ mg - Fig. 2a).
- Per la misura del peso secco (Dry weight – DW, espresso in mg), dopo l'identificazione tassonomica, ogni individuo viene collocato in un crogiolo di alluminio di peso noto (Fig. 2b). I crogioli vengono posti in stufa termostata Heraeus a 70°C per 48 h (Fig. 2c), temperatura che permette una completa essiccazione senza causare alterazioni della componente organica degli invertebrati (Stoffels *et al.*, 2003). Il peso secco di ciascun individuo si ottiene per sottrazione del peso del crogiolo vuoto dal peso totale ottenuto.



a)



b)



c)

Fig. 2 - Bilancia analitica di precisione (a), crogioli in alluminio in piastre multi-pozzetto (b), stufa termostatica (c).

- Le misure lineari, il peso umido (WW) e il peso secco (DW) permettono di calcolare la biomassa dei Chironomidi, in modo indiretto, attraverso un modello di relazione lunghezza-peso specifico valida per il Lago Maggiore. La relazione lunghezza-peso è stata calcolata tramite la seguente equazione allometrica secondo Benke *et al.* (1999):

$$DW = a \times TL^b$$

dove:

DW peso secco in mg

TL lunghezza totale del corpo in mm

b coefficiente di regressione (*slope*)

a intercetta.

La trasformazione logaritmica delle variabili

$$\ln DW = \ln a + b[\ln TL]$$

rende la relazione lineare di tipo

$$DW = a + bTL$$



Allegato 1: Scheda di lavoro utilizzata in laboratorio

Foglio di lavoro per l'archiviazione delle dimensioni lineari e della biomassa (peso secco e umido)

Interreg PVT Lago Maggiore

Sito di campionamento								
Data				CAMPIONE:				
Nome operatore				Note:				
N. ind	Lunghezza capo (HL, mm)	Lunghezza corpo (BL, mm)	Lunghezza totale corpo (TL, mm)	Taxon	Peso umido (WW, mg)	Peso crogiolo (mg)	Peso secco + crogiolo dopo 48h	Peso secco (DW, mg)
1								
2								
3								
.....								



Protocollo per analisi della meiofauna bentonica

Cifoni M., Di Lorenzo T. – CNR-IRET Firenze

Una volta prelevati i campioni in campo, questi vengono trasferiti in laboratorio conservandoli al fresco, per le successive analisi.

1) Separazione del campione di sedimento in frazioni

- In laboratorio, il campione prelevato sul campo e fissato in una soluzione alcolica al 70%, viene agitato per essere omogenato e successivamente viene suddiviso in sotto-campioni di circa 10 mL che vengono versati in piastre di Petri.

2) Smistamento dei microinvertebrati (*sorting*)

- Le piastre di Petri contenenti il sotto-campione da smistare vengono quindi selezionate randomicamente e visionate, una alla volta, allo stereomicroscopio a 16× di ingrandimento, senza aggiunta di coloranti.
- Gli organismi individuati vengono prelevati con una pipetta in vetro Pasteur e raggruppati in grandi gruppi tassonomici (ordini/classi). Lo smistamento prosegue fino al raggiungimento di 150 organismi.

3) Conservazione dei campioni in laboratorio

- Gli organismi così raccolti e raggruppati vengono conservati in *vials* di plastica (2 mL), contenenti alcol etilico al 99% e contrassegnate da etichette indicanti il nome del campione e del taxon.

4) Identificazione tassonomica

- Gli organismi relativi al taxon Copepoda vengono identificati a livello di specie, previa dissezione a 40× allo stereomicroscopio e montaggio su vetrini porta-oggetto in una goccia di glicerina.
- Gli organismi non afferenti al taxon Copepoda verranno distribuiti a diversi specialisti tassonomi per un'identificazione al più alto livello tassonomico possibile.

5) Identificazione del sesso e dello stadio ontogenetico degli individui del taxon Copepoda

- Il sesso e lo stadio ontogenetico (adulti, copepoditi e nauplii) di ogni singolo individuo afferente al taxon Copepoda vengono annotati su un'apposita scheda per successive analisi relative alla struttura delle popolazioni.

6) Determinazione della biomassa del taxon Copepoda

- La biomassa in carbonio secco dei copepodi di ogni singolo campione viene calcolata come di seguito:
 - a) si montano tutti i copepodi di un campione su un vetrino porta-oggetto su cui è stata versata una goccia di glicerina. Non si copre con il copri-oggetto. Si scatta una foto allo stereomicroscopio (Fig. 3) con una fotocamera integrata. L'immagine viene catturata mediante il software LAS (Leica Application Suite, versione 4.7.1 di Leica Microsystems, Wetzlar, Germania).
 - b) L'immagine viene successivamente elaborata con il software *ImageJ*, che è disponibile online gratuitamente, al fine di misurare la lunghezza (in mm; dalla punta dello scudo cefalico all'estremità dei rami caudali) e la larghezza (in mm; misurata al somite più grande recante arti ambulacrali, in genere il P4) di ogni copepode.
 - c) Per gli adulti e i copepoditi, le due dimensioni del corpo vengono successivamente convertite in biovolume (BV, in nL) in modo che:



$$BV = Lungh \times Largh^2 \times CF$$

dove:

CF fattore di correzione che è funzione del *body shape* e varia da 230 a 750 in funzione della forma (Warwick & Gee, 1984)

I parametri lunghezza e larghezza sono misurati in mm.

d) Per i nauplii, si utilizza la seguente regressione:

$$BV = Lungh \times Largh^2 \times \frac{\pi}{6}$$

- e) Il biovolume così calcolato viene successivamente convertito in carbonio secco (C, in mg) assumendo che il peso fresco (FW, in mg) sia 1,1 volte il BV, la massa secca (DM, in mg) 0,25 volte il FW e C rappresenti il 40% di DM.
- f) Il valore di carbonio secco così calcolato viene moltiplicato per il numero di individui componenti la classe dimensionale esaminata.
- g) Infine, i valori di carbonio secco di ogni singolo individuo sommati al fine di ottenere la biomassa secca della comunità a copepodi di ogni singolo campione.

7) **Attribuzione dei tratti funzionali**

Tutti gli organismi raccolti sono attribuiti ad una o più modalità funzionali elencate nella Tabelle 9 (tutti i taxa meiofaunistici) e 10 (Copepoda) di cui alla presente relazione.



Fig. 3 - Stereomicroscopio Leica M80 con fotocamera integrata connessa al software LAS (Leica Application Suite, versione 4.7.1 di Leica Microsystems, Wetzlar, Germania)



Bibliografia

- AA.VV. 1977-1985. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. Collana del progetto finalizzato 'Promozione della qualità dell'ambiente', 29 volumi. CNR Edizioni, Roma.
- Andersen T., Cranston P.S., Epler J.H. (eds). 2013. Chironomidae of the Holarctic Region: Keys and diagnoses. Part 1- Larvae. *Insect Systematics and Evolution Supplements* (formerly *Entomologica Scandinavica Supplement*), 66: 573 pp.
- Anderson M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26(1): 32-46.
- APAT IRSA-CNR. 2003. Metodi analitici per le acque. APAT Manuali e Linee Guida 29/2003.
- Ausden M. 1997. Invertebrates. In: Sutherland W.J. (ed.), *Ecological census Techniques: a Handbook*. Cambridge University Press, UK: 139-177.
- Basińska A.M., Antczak M., Świdnicki K., Jassey V.E.J., Kuczyńska-Kippen N. 2014. Habitat type as strongest predictor of the body size distribution of *Chydorus sphaericus* (O.F. Müller) in small water bodies: predictors of the *Chydorus sphaericus* body size distribution. *Interantional Review of Hydrobiology*, 99 (5): 382-392.
- Benke A.C., Huryn A.D., Smock L.A., Wallace B. 1999. Length-mass relationships for freshwater macroinvertebrates in North America with particular reference to the South Eastern United States. *Journal of North American Benthological Society*, 18(3): 308-343.
- Boggero A., Kamburska L., Cifoni M., Zaupa S., Paganelli D., Ciampittiello M., Rogora M., Di Lorenzo T. 2022. Sampling and laboratory protocols to study the effects of water level management on the littoral invertebrate fauna in deep and large temperate lakes. *Journal of Limnology*, 81: 2073.
- Boggero A., Rossaro B, Laini A., Zaupa S. 2020. Guida alla compilazione del foglio di calcolo dell'Indice di Qualità Bentonico (BQIES) basato sui macroinvertebrati lacustri, 1° aggiornamento. CNR-IRSA, Verbania: 9 pp.
- Boggero A., Zaupa S., Rossaro B., Lencioni V., Gherardi F. 2011. Guida tecnica alla programmazione del campionamento e alla scelta della strumentazione idonea per lo studio della fauna macroinvertebrata lacustre. CNR-ISE Report, 02.11: 58 pp.
- Brucet S., Boix D., Quintana X.D., Jensen E., Nathansen L.W., Trochine C., Meerhoff M., Gascón S., Jeppesen E. 2010. Factors influencing zooplankton size structure at contrasting temperatures in coastal shallow lakes: implications for effects of climate change. *Limnology and Oceanography*, 55 (4): 1697-1711.
- Caramujo M.J., Mendes C.R.B., Cartaxana P., Brotas V., Boavida M.J. 2008. Influence of drought on algal biofilms and meiofaunal assemblages of temperate reservoirs and rivers. *Hydrobiologia*, 598(1): 77-94.
- Cifoni M., Boggero A., Galassi D.M.P., Di Lorenzo T., 2021. An Overview of Studies on Meiofaunal Traits of the Littoral Zone of Lakes. *Water*, 13: 473.
- Cifoni M., Boggero A., Rogora M., Ciampittiello M., Martínez A., Galassi D.M.P., Fiasca B., Di Lorenzo T., 2022. Effects of human-induced water level fluctuations on copepod assemblages of the littoral zone of Lake Maggiore. *Hydrobiologia*, 849: 3545-3564.
- Clarke K.R., Gorley R.N. 2005. *PRIMER: Getting started with v6*. PRIMER-E Ltd: Plymouth, UK, 931, 932.
- Death R.G., Winterbourn M.J., 1995. Diversity patterns in stream benthic invertebrate communities: the influence of habitat stability. *Ecology*, 76:1446-1460.
- Di Lorenzo T., Fiasca B., Di Cicco M., Cifoni M., Galassi D.M.P. 2021. Taxonomic and functional trait variation along a gradient of ammonium contamination in the hyporheic zone of a Mediterranean stream. *Ecological Indicators*, 132: 108268.



- Dole-Olivier M.J., Galassi D.M.P., Marmonier P., Creuzé Des Châtelliers M. 2000. The biology and ecology of lotic microcrustaceans. *Freshwater Biology*, 4: 63-91.
- Evtimova V.V., Donohue I. 2016. Water-level fluctuations regulate the structure and functioning of natural lakes. *Freshwater Biology*, 61: 251-264.
- Fefilova E. 2007. Seasonal development of harpacticoid copepods in the North-East of European Russia. *Fundamental and Applied Limnology*, 170: 65-75.
- Frost S., Huni A., Kershaw W.E. 1971. Evaluation of a kicking technique for sampling stream bottom fauna. *Canadian Journal of Zoology*, 49: 167-183.
- Furey P.C., Nordin R.N., Mazumder A. 2006. Littoral benthic macroinvertebrates under contrasting drawdown in a reservoir and a natural lake. *Journal of the North American Benthological Society*, 25(1): 19-31.
- Gaviria S. 1998. Colonization of a new man-made river (Marchfeld canal, Lower Austria) by benthic copepods. *Journal of Marine Systems*, 15: 127-134.
- Iwakuma T., Yasuno M., Sugaya Y. 1984. Chironomid production in relation to phytoplankton primary production in Lake Kasumi gaura, Japan. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 22: 1160-1159.
- Kamburska L., Zaupa S., Boggero A. 2023. Size pattern and larval length-mass relationships for the most common Chironomid taxa in the deep subalpine Lake Maggiore. *Freshwater Biology* (submitted).
- Klemetsen A., Aase B.M., Amundsen P.A. 2020. Diversity, abundance, and life histories of littoral chydorids (Cladocera: Chydoridae) in a subarctic European lake. *The Journal of Crustacean Biology*, 40(5): 534-543.
- Leira M., Filippi M.L., Cantonati M. 2015. Diatom community response to extreme water-level fluctuations in two Alpine lakes: a core case study. *Journal of paleolimnology*, 53(3): 289-307.
- Litchman E., Ohman M.D., Kiørboe T. 2013. Trait-based approaches to zooplankton communities. *Journal of Plankton Resources*, 35: 473-484.
- Malard F., Dole-Olivier M.-J., Mathieu J., et al. 2002. Sampling manual for the assessment of regional groundwater biodiversity. European Project PASCALIS (Protocols for the ASsessment and Conservation of Aquatic Life in the Subsurface). Fifth Framework Programme Key Action 2: Global Change, Climate and Biodiversity 2.2.3 Assessing and Conserving Biodiversity Contract n° EVK2-CT-2001-00121. Viewed 19/02/2019 <http://umr5023.univ-lyon1.fr/productions/basesde-donnees>.
- Mastrantuono L., Solimini A.G., Noges P., Bazzanti M. 2007. Plant-associated invertebrates and hydrological balance in the large volcanic Lake Bracciano (Central Italy) during two years with different water levels. In: European Large Lakes Ecosystem changes and their ecological and socioeconomic impacts (pp. 143-152). Springer, Dordrecht.
- Mezquita F., Miracle M.R. 1997. Chydorid assemblages in the sedimentary sequence of Lake La Cruz (Spain) subject to water level changes. *Hydrobiologia*, 360(1): 277-285.
- Palomäki R. 1994. Response by macrozoobenthos biomass to water level regulation in some Finnish lake littoral zones. *Hydrobiologia*, 286: 17-26.
- Rowan J.S., Carwardine J., Duck R.W., Bragg O.M., Black A.R., Cutler M.E.J., Soutar I., Boon P.J., 2006. Development of a technique for Lake Habitat Survey (LHS) with applications for the European Union Water Framework Directive. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 16: 637-657.
- Sangiorgio F., Pinna M., Gravili L. 2009. Capitolo 2: Macroinvertebrati bentonici. In: Basset A., Sangiorgio F., Sabetta L. (eds), Nuovi approcci metodologici per la classificazione dello stato di



- qualità degli ecosistemi acquatici di transizione - Metodologie per la determinazione della struttura dimensionale di fitoplancton e macroinvertebrati bentonici. ISPRA Ambiente, Roma: 114 pp.
- Sahuquillo M., Miracle M.R., Morata S.M., Vicente E. 2012. Nutrient dynamics in water and sediment of Mediterranean ponds across a wide hydroperiod gradient. *Limnologica*, 42(4): 282-290,
- Särkkä J. 1996. Meiofauna of the profundal zone of the northern part of Lake Ladoga as an indicator of pollution. In: Simola H., Viljanen M., Slepukhina T., Murthy R. (eds), The First International Lake Ladoga Symposium. *Developments in Hydrobiology*, 113. Springer, Dordrecht.
- Sarvala J. 1979. Effect of temperature on the duration of egg, nauplius and copepodite development of some freshwater benthic Copepoda. *Freshwater Biology*, 9: 515-534.
- Sarvala J. 1998. Ecology and role of benthic copepods in northern lakes. *Journal of Marine Systems*, 15: 75-86.
- Shcherbina G.K. 2013. Species composition and structure of macrozoobenthos in Lake Sevan during the period of its increased water level. *Inland water biology*, 6(2): 124-130.
- Sodré E.D.O., Bozelli R.L. 2019. How planktonic microcrustaceans respond to environment and affect ecosystem: a functional trait perspective. *International Aquatic Research*, 11: 207-223.
- Špoljar M., Perić M.S., Wang H., Zhang C., Kuczyńska-Kippen N., Fressl J., Ercegovac Z. 2021. Does the size structure of the littoral community reflect water level fluctuations in shallow waterbodies?. *Ecological Indicators*, 132: 108330.
- Špoljar M., Dražina T., Lajtner J., Duić Sertić M., Radanović I., Wallace R.L., Matulić D., Tomljanović T. 2018. Zooplankton assemblage in four temperate shallow waterbodies in association with habitat heterogeneity and alternative states. *Limnologica*, 71: 51-61,
- Stoffels R.J., Karbe S., Paterson R.A. 2003. Length-mass models for some common New Zealand littoral-benthic macroinvertebrates, with a note on within-taxon variability in parameter values among published models. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 37 (2): 449-460.
- Timm T. 2009. A guide to the freshwater Oligochaeta and Polychaeta of Northern and Central Europe. *Lauterbornia*, 66: 1-235
- Traunspurger W., Höss S., Witthöft-Mühlmann A., Wessels M., Güde H. 2012. Meiobenthic community patterns of oligotrophic and deep Lake Constance in relation to water depth and nutrients. *Fundamental and Applied Limnology*, 180(3): 233-248.
- Vakkilainen K., Kairesalo T., Hietala J., et al. 2004. Response of zooplankton to nutrient enrichment and fish in shallow lakes: a pan-European mesocosm experiment. *Freshwater Biology*, 49: 1619-1632.
- Vidakovic J., Bogut I. 2004. Aquatic nematodes of Sakadaš lake (Kopački rit Nature Park, Croatia). *Biologia*, 59(5): 567-575.
- Warwick R.M., Gee J.M. 1984. Community structure of estuarine meiobenthos. *Marine Ecology Progress Series*, 18: 97-111.
- Wiederholm T. 1983. Chironomidae of the Holarctic region. Part I larvae. - *Entomologica Scandinavica*, Suppl. 19: 457 pp.



WP4. Valutazione degli effetti delle variazioni dei livelli sul sistema lago attraverso nuovi indicatori

Riccardi N.¹, Modesto V.¹, Manca D.¹

¹CNR-IRSA Verbania

4.3 Individuazione ed applicazione di indicatori dello stato di qualità dei litorali lacustri

Molluschi bivalvi

Gli effetti delle fluttuazioni di livello sulle popolazioni di bivalvi sono stati studiati analizzando otto principali parametri:

- 1) di tipo tassonomico, quali la densità e l'abbondanza di ciascuna specie di bivalvi nativi ed invasivi;
- 2) di tipo funzionale, quali A) la biomassa, la struttura dimensionale delle popolazioni delle diverse specie; B) la condizione riproduttiva e la prevalenza di parassiti castratori nella specie nativa dominante (*Unio elongatulus*).

Sono stati inoltre eseguiti esperimenti finalizzati a valutare le risposte comportamentali dei bivalvi alla variazioni fisiche (livello e movimenti dell'acqua, temperatura) che vengono modificate rispetto all'andamento naturale per effetto della gestione in atto tra marzo e settembre. Lo scopo degli esperimenti era l'identificazione di risposte comportamentali che potessero essere utilizzate come allarme in tempo reale degli impatti della gestione dei livelli delle acque sulle comunità biotiche.

Nel corso del 2019-2022 il CNR-IRSA ha svolto e chiuso le seguenti attività:

- 1) Campionamento di popolazioni di bivalvi nativi ed invasivi nelle tre stazioni di riferimento lungo transeetti perpendicolari alla riva (profondità da 0,50 a 5 m) e valutazione delle variazioni di densità, biomassa e struttura dimensionale delle popolazioni;
- 2) Campionamento di *Unio elongatulus* a profondità di 1, 6 e 15 m e valutazione della condizione riproduttiva e della prevalenza ed intensità dell'infestazione da parassiti castratori in funzione del regime termico;
- 3) Esecuzione di esperimenti di laboratorio per la valutazione delle risposte comportamentali alle variazioni di livello e ai parametri fisici correlati (temperatura e movimento dell'acqua).

4.3.1 Campionamento di popolazioni di bivalvi nativi ed invasivi

I molluschi sono stati campionati nei siti di riferimento (Tab.1, Fig. 1) in settembre 2019, agosto 2020, marzo-aprile e agosto 2021, aprile e agosto 2022 in collaborazione con Sub Novara Laghi a profondità comprese fra 50 cm e 5 m. In totale, sono stati eseguiti 18 campionamenti quantitativi mediante quadrati e 5 campionamenti visuali in immersione.



Tab. 1 - Siti di campionamento e loro coordinate geografiche (gradi DMS), anni e mesi di prelievo, numero di campioni raccolti per le analisi demografiche come quadrati e ispezione visuale (iv).

Nome sito	Coordinate	2019	2020	2021		2022	
		Settembre	Agosto	Marzo	Agosto	Aprile	Agosto
Fondo Toce	45° 56' 07.3" N 08° 29' 28.1" E	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv
Magadino	46° 09' 07.8" N 08° 51' 19.5" E	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv
Sesto Calende	45° 45' 12.6" N 08° 35' 31.3" E	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv	9 quadrati + iv

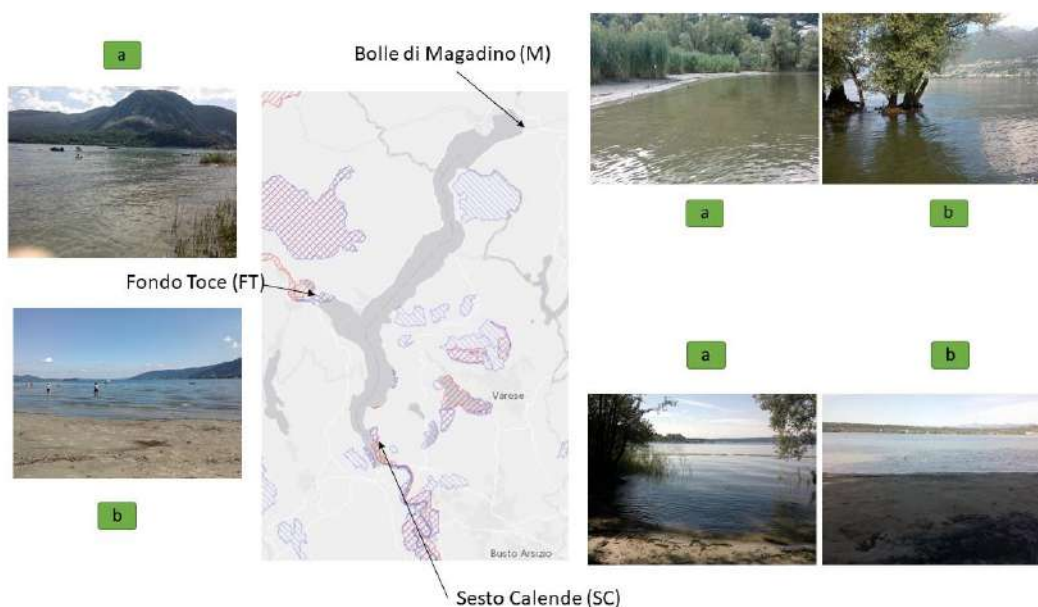


Fig. 1 - Siti di campionamento in zone a protezione speciale (per dettagli vedi testo Macrofauna).

I periodi scelti per i diversi campionamenti sono stati stabiliti seguendo gli andamenti dei livelli del lago letti all'idrometro posto presso il CNR-IRSA. Il campionamento è stato condotto durante il periodo di gestione del livello dell'acqua della diga della Miorina (marzo - settembre), seguendo un protocollo standardizzato che consente il confronto tra le tre stazioni distribuite lungo le sponde.

In ogni sito di campionamento si prelevano tre campioni replicati lungo transetti distribuiti dalla riva ad una profondità massima di 5 m. I campioni vengono raccolti tramite escavazione di quadrati (50 × 50 cm corrispondenti ad un'area di 625 cm² di substrato), fino alla profondità di circa 20 cm (Strayer & Smith, 2003). Il campionamento è stato condotto in immersione da due subacquei provvisti di quadrato, paletta per l'escavazione del sedimento e rete per la raccolta del campione di sedimento (Fig. 2). I due subacquei si portano nel punto di massima profondità stabilito (5 m) orientandosi per mezzo di una bussola. L'uso della bussola è stato necessario per la scarsa visibilità e per l'elevata torbidità dovuta alla risospensione dei sedimenti durante e dopo lo scavo. Dopo aver raggiunto il punto prescelto ed essere scesi a contatto con il fondale, il quadrato viene posizionato da uno dei subacquei. L'altro subacqueo effettua lo scavo mediante una paletta e scarica il materiale raccolto nella rete che



il compagno di immersione tiene aperta. L'uso di una torcia subacquea è indispensabile per aumentare la visibilità del quadrato e della rete ed evitare di perdere il contatto visivo tra subacquei durante lo scavo. Al termine dello scavo il quadrato viene recuperato e spostato in un punto a pari profondità scelto casualmente (campionamento *random*, Strayer & Smith 2003). Al termine della raccolta alla massima profondità i subacquei risalgono lungo il fondale, senza riemergere, fino alla quota di profondità successiva. Il sedimento e gli animali raccolti dall'escavazione di ciascun quadrato sono raccolti in una rete che viene immediatamente chiusa al termine dello scavo. Le reti contenenti i campioni raccolti a ciascuna profondità vengono agganciati ad una boa di segnalazione trasportata a ciascuna profondità di campionamento da uno dei subacquei. La procedura è stata ripetuta a ciascuna profondità: 1,50, 3, e 5 m. Al termine, le reti contenenti i campioni sono state trasportate a riva. Qui ogni campione è stato setacciato su reti di maglie pari a 1 e 0,5 cm, 5 e 2 mm. Il materiale misto ottenuto dal setacciamento è stato smistato visualmente per separare i bivalvi delle diverse specie e diverse dimensioni dal detrito organico e minerale. Tutti gli animali sono stati misurati prima di essere trasportati in laboratorio per le analisi successive.

Poiché le popolazioni di bivalvi, ed in particolare di Unionidi, non sono distribuite omogeneamente e la loro densità si è notevolmente ridotta nell'ultimo ventennio, al termine dello scavo è stato effettuato anche un campionamento visuale. Questo ha permesso di esplorare un'area pari a circa 200-250 m² di fondale. A questo scopo i due subacquei hanno ripetuto l'immersione lungo il medesimo transetto iniziando dalla massima profondità e risalendo lungo il fondale mantenendosi a 30-40 cm dal sedimento e ad una distanza di 2 m l'uno dall'altro. Durante la risalita ciascuno ha raccolto tutti gli Unionidi visibili nell'area di sua pertinenza (1 metro per lato) che sono stati portati a riva per la misurazione dei parametri biometrici.

I campioni sono stati esaminati per identificare le specie presenti, misurarne i parametri biometrici e verificarne la condizione riproduttiva. È stata inoltre valutata la presenza e la prevalenza di parassiti nelle specie native ed invasive raccolte in ciascuna stazione di campionamento. I mesi estivi corrispondono al periodo di massima presenza dei parassiti castratori (trematodi) dei quali è stata valutata la prevalenza nelle specie native ed invasive per verificarne il ruolo nel determinare la composizione del popolamento a bivalvi.



Fig. 2 - Campionamento con entrata in acqua dei subacquei dalla barca della Riserva Naturale delle Bolle di Magadino



4.3.2 Valutazione degli effetti del regime termico sulla condizione riproduttiva e la prevalenza di parassitosi

Per la valutazione della condizione riproduttiva e della prevalenza ed intensità dell'infestazione da parassiti castratori in funzione del regime termico sono stati effettuati campionamenti di *Unio elongatulus* a tre profondità (0,5-1 m; 5-6 m; 15-16 m) nel periodo più caldo dell'anno (16 luglio). Il confronto di animali prelevati a profondità così differenti avevo lo scopo di valutare quanto il regime termico influisca sulle condizioni fisiologiche e la fecondità degli animali. Gli animali più superficiali sono esposti alle variazioni termiche stagionali, cioè ad un intervallo di temperatura molto ampio (4 – 30°C), mentre a maggiori profondità l'intervallo di variazione della temperatura si riduce drasticamente. Ad esempio, gli animali presenti a 15 m, cioè in prossimità del termoclino, subiscono variazioni di temperatura ristrette tra circa 7 e 13°C. Infatti, anche in un anno con medie termiche stagionali superiori alla media come il 2022, la temperatura a 15 metri nel mese di luglio era di soli 14°C (Fig. 3). Per poter effettuare il campionamento alle profondità maggiori e trovare un numero sufficiente di animali anche a 15-16 m è stata scelta una stazione con una pendenza della riva piuttosto elevata. Infatti, in questa tipologia di habitat *Unio elongatulus* si può trovare anche a profondità elevate (fino a circa 30 m). È stata scelta la stazione di Punta Granelli (45° 56' 13.8" N, 08° 38' 41.7 " E) a Castelveccana (Fig. 3) per la presenza di *Unio elongatulus* tra i 5 ed i 20 m e la facilità di accesso con l'attrezzatura subacquea. Tuttavia, nelle stazioni a pendenza elevata il moto ondoso asporta dalla fascia più superficiale della riva il materiale sedimentario più fine, rendendo l'habitat non idoneo per gli Unionidi. Pertanto, il campione di *Unio* più superficiale è stato raccolto manualmente a Feriolo (45° 55' 52.2" N, 08° 28' 55.4" E) con accesso a piedi dalla riva.



Fig. 3 - Sin: siti di campionamento con indicazione delle temperature rilevate nella data del prelievo; dx: fase del campionamento a 15 m.

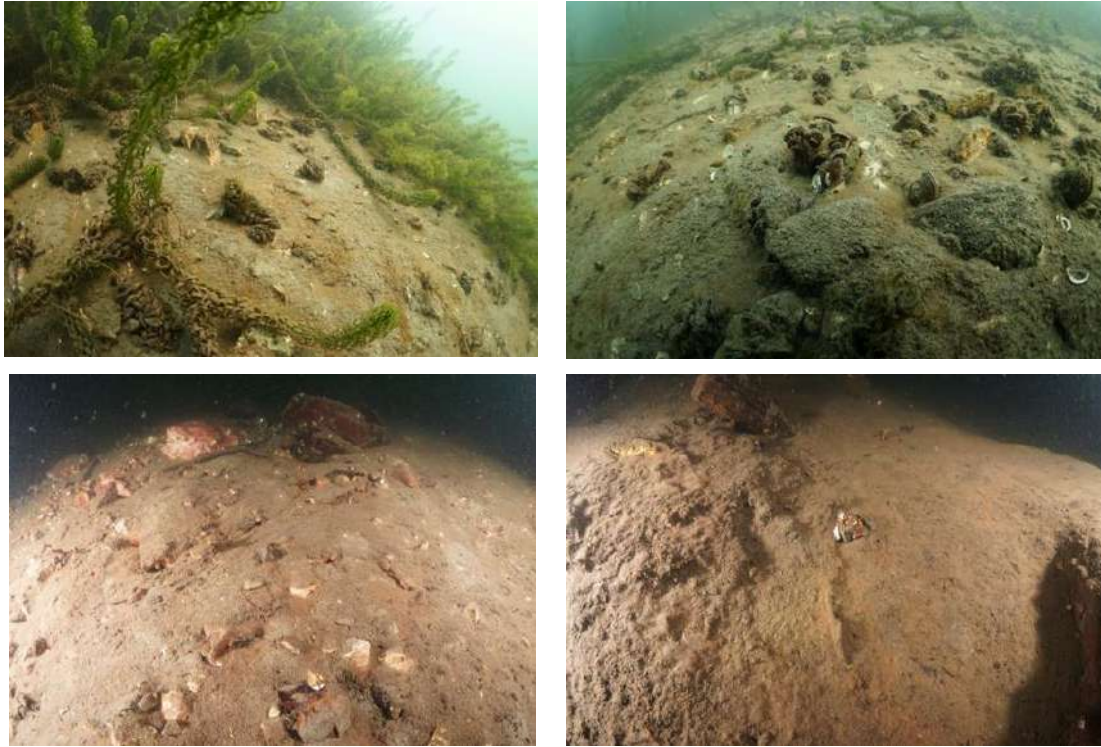


Fig. 4 - Condizioni dell'habitat di *Unio* alla profondità di 6 m (in alto) e 15 m (in basso).

In totale, sono stati raccolti 90 individui, 30 per ciascuna profondità. Dopo il campionamento, sono stati portati in laboratorio e mantenuti in acquari (Fig. 5) alla stessa temperatura alla quale erano esposti al momento della raccolta. Tutti gli animali sono stati misurati, pesati e infine dissezionati staccando le parti molli dalla conchiglia. Immediatamente dopo la dissezione, sono stati esaminati piccoli frammenti della gonade con uno stereomicroscopio (CH2, Olympus, Japan), per determinare il sesso e verificare la presenza di parassiti. Sono state scattate foto dei parassiti al microscopio (ICC50 W, Leica, Germany) mediante una camera digitale (DM 2500, Leica) in LAS V4.7 software (Leica). Al termine, tutti i campioni di tessuti sono stati fissati in formalina neutralizzata al 10% per essere inviati ad un laboratorio di analisi istologiche dove verranno preparate le sezioni ed eseguite le analisi istologiche.



Fig. 5 - Acquari per il mantenimento di *Unio* alle stesse temperature dei punti di campionamento prima delle analisi della condizione riproduttiva e delle parassitosi.



4.3.3 Analisi delle risposte comportamentali di *Unio elongatulus* alle variazioni di livello e parametri correlati

Individui appartenenti alla specie nativa *Unio elongatulus* sono stati campionati e portati in laboratorio, accuratamente ripuliti e acclimatati per 15 giorni prima degli esperimenti. L'acclimatazione (Fig. 7) è stata fatta ponendo gli animali in acquari provvisti di 8 cm di sedimento e con un flusso continuo di acqua prelevata dal lago mediante una pompa posta a 20 m di profondità. Nel periodo di acclimatazione gli animali sono stati mantenuti ad una temperatura di 15°C, con ciclo giorno-notte di 12-12 ore. Per il mantenimento è stata avviata una coltura algale mista partendo dal fitoplancton presente nell'acqua di lago (Fig. 8). Durante il periodo di acclimatazione il cibo è stato somministrato agli animali una volta al giorno in quantità non limitante.

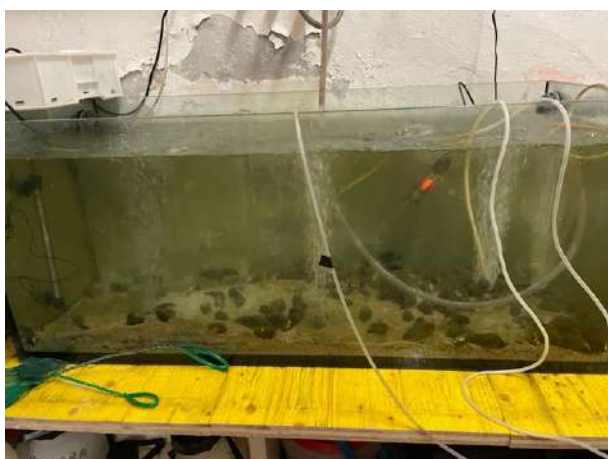


Fig. 7 - Acquari per l'acclimatazione di *Unio elongatulus* nei 15 giorni precedenti gli esperimenti di misura delle reazioni comportamentali alle variazioni di livello e parametri correlati (movimento delle acque e temperatura).



Fig. 8 - Coltura algale per il mantenimento di *Unio elongatulus* nei periodi di acclimatazione in laboratorio.



Al termine della fase di acclimatazione gli animali sono stati utilizzati per valutare le risposte ai seguenti fattori direttamente o indirettamente correlati alla gestione dei livelli:

- 1) Variazioni di livello e di movimento delle acque;
- 2) Variazioni di temperatura.

Prima di procedere alla valutazione delle risposte ai fattori di stress, sono stati condotti esperimenti ponendo gli animali in condizioni ottimali (senza stress) per registrare i segnali comportamentali corrispondenti alle attività fisiologiche normali (alimentazione, espulsione di feci, movimenti orizzontali e verticali). La misura delle reazioni comportamentali viene fatta mediante la registrazione dell'ampiezza e frequenza di apertura e chiusura delle valve della conchiglia. A questo scopo, si applicano ai margini opposti di ciascuna valva della conchiglia un sensore di movimento (sensore di Hall) e un magnete (Fig. 9).



Fig. 9 - Schema dell'applicazione del sensore di Hall e del magnete sulle valve della conchiglia (a sinistra) e *Unio elongatulus* con applicati sensori e magneti (a destra).

Il sensore di Hall (Honeywell SS495A1) dotato di un cavo seriale (FTDI USB-232R-5) è stato incollato con adesivo cianoacrilato al bordo della valva sinistra e il magnete al bordo della valva destra esattamente in corrispondenza del sensore. L'*hardware* Arduino dotato di un microcontrollore (Badamasi, 2014) è stato utilizzato per misurare i movimenti della valva al secondo (ovvero la distanza tra i due lati della valva). Il comportamento delle cozze è stato misurato dalla frequenza di apertura delle valve (Hz) e dall'ampiezza di apertura (%). I dati del campo magnetico (mV) sono stati normalizzati in percentuale (%), dove il valore minimo (0%) corrisponde alla completa apertura delle valve e il massimo (100%) alla completa chiusura (Fig. 10).

Sono state identificate cinque risposte comportamentali (ad esempio, [Hartmann et al., 2016](#)): normale, riposo, transizione, adattamento ed evitamento (Fig. 10). Durante il comportamento normale (alimentazione e movimento standard) le cozze presentavano movimenti regolari delle valve, mentre durante il comportamento a riposo le valve erano tenute costantemente aperte per la filtrazione dell'acqua. Negli esperimenti sul comportamento indotto dalle variazioni idrodinamiche o termiche, il comportamento di transizione era l'improvviso aumento di frequenza dell'apertura delle valve, il comportamento di adattamento la riduzione dell'apertura delle valve dopo la transizione e il comportamento di evitamento la chiusura completa delle valve per un tempo di durata variabile. Per interpretare le variazioni nella frequenza e nell'ampiezza di apertura delle valve, la registrazione valvometrica è stata confrontata con la registrazione dei movimenti degli animali mediante una



telecamera. La frequenza di apertura delle valve e l'ampiezza di apertura caratteristiche di ciascun tipo di comportamento sono state calcolate utilizzando il linguaggio statistico Matlab (MATLAB, 2010).

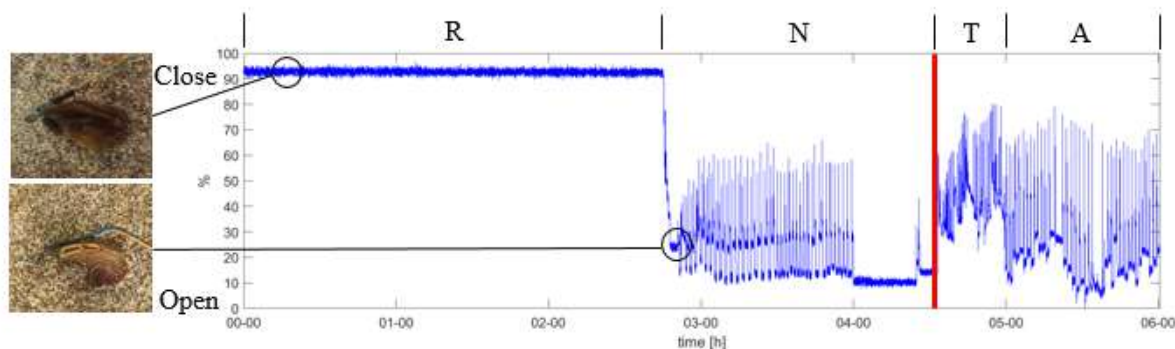


Fig. 10 - Esempio di risposte comportamentali di *Unio elongatulus*. Le immagini a sinistra mostrano individui provvisti di sensori magnetici Hall: la traccia superiore corrisponde ad una fase di una chiusura delle valve, quella inferiore rappresenta l'apertura delle valve. Le lettere R, N, T e A rappresentano i vari tipi di comportamento: riposo, normale, transizione e adattamento, rispettivamente. La linea verticale rossa indica l'inizio della risposta ai fattori di stress idrodinamici.

Per poter distinguere le diverse tipologie di comportamento in assenza e in presenza di stress è stato necessario eseguire esperimenti per identificare le tracce valvometriche corrispondenti alle attività normali dell'animale, quali il riposo, lo spostamento orizzontale e/o verticale nel substrato e l'apertura delle valve per l'assunzione del cibo e l'espulsione delle feci e pseudofeci. Sono stati eseguiti due esperimenti per valutare il comportamento standard durante l'alimentazione e il comportamento durante le fasi di movimento della durata di 24 ore ciascuno. Il primo esperimento, eseguito nell'acquario di acclimatazione in condizioni di acqua ferma, ha misurato la risposta comportamentale alla somministrazione di cibo dopo 5 ore di digiuno. Il secondo esperimento è stato condotto in un canale artificiale (6 m x 40 cm) con 6 cm di sedimento sabbioso. Gli individui sono stati collocati a una distanza regolare l'uno dall'altro per evitare interazioni reciproche. I movimenti sono stati misurati in condizioni non stressanti con un basso flusso d'acqua e registrati mediante una fotocamera che scattava ogni 10 minuti.

Risposte comportamentali di Unio elongatulus alle variazioni di livello

Per valutare le risposte alle variazioni di livello sono stati condotti una serie di esperimenti che mimavano le condizioni naturali di innalzamento del livello dell'acqua. Gli esperimenti sono stati condotti presso il Dipartimento di Ingegneria Civile, Ambientale e Meccanica dell'Università di Trento che ha messo a disposizione i canali artificiali (Fig. 11) dove sono state realizzate le condizioni necessarie ad esplorare tutti i possibili scenari correlati alla gestione artificiale dei livelli.

- A) il primo esperimento è stato condotto in condizioni statiche in un serbatoio nel quale è stato aumentato il livello dell'acqua di 1 m in 24 ore;
- B) gli esperimenti successivi sono stati condotti in un fiume artificiale per poter simulare i movimenti dell'acqua lungo le sponde lacustri (Fig. 12).

Dopo 1 ora di acclimatazione nel canale artificiale a bassa portata (Q1, Tab. 2), i molluschi (n = 32) sono stati esposti a portate costanti [Q2, Q3, Q4] per 4 ore, seguite da un rapido aumento della portata



senza [da Q2 e Q3 a Q4] e con [da Q2 e Q3 a Q5 e Q6] trasporto di sedimenti per la durata di 1 h e 30 min (Tab. 2).

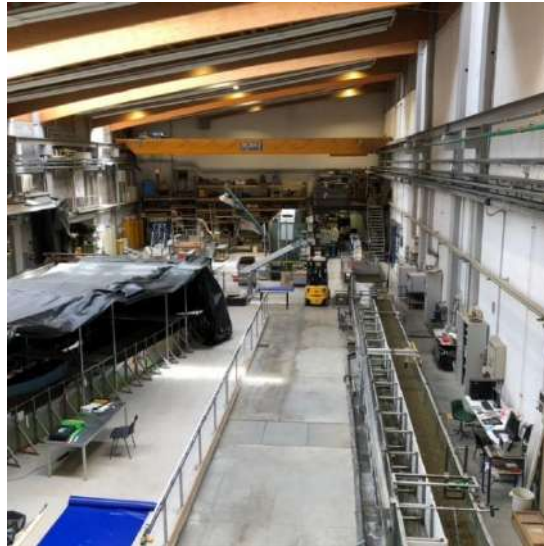


Fig. 11 - Laboratorio del Dip. di Ingegneria Civile Ambientale e Meccanica dell'Università di Trento. Nella foto sono visibili diversi tipi di canali artificiali che sono stati messi a disposizione per gli esperimenti di misura delle risposte comportamentali alle variazioni del regime idrologico indotte dalla gestione dei livelli del lago.

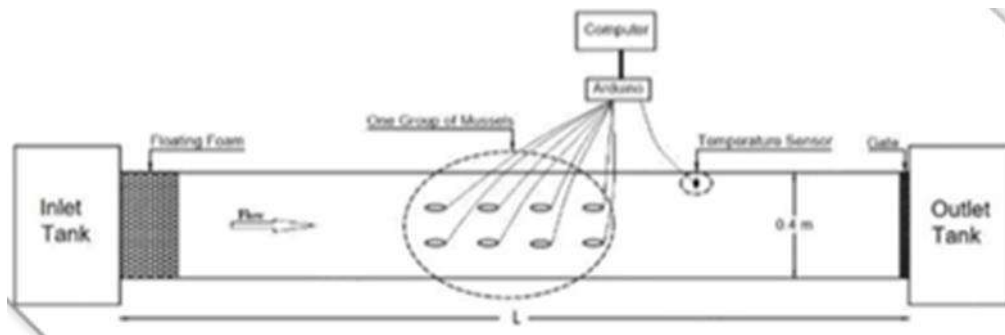


Fig. 12 - Esperimento di registrazione delle risposte comportamentali di *Unio elongatulus* in condizioni di simulazione delle variazioni naturali di livello e di movimento delle acque. Lo schema in alto e l'immagine sottostante illustrano la disposizione degli individui provvisti di sensori all'interno del fiume artificiale.



Tab. 2 - Scenari di esposizione alle condizioni idrodinamiche considerando: portata d'acqua Q/B (essendo B la larghezza del canale e Q la portata); profondità dell'acqua; velocità di flusso media della sezione trasversale; scarico solido specifico, Qs/B (cioè per unità di larghezza); parametro di Shields [$\theta = u^{*2} / (s - \rho) d$ – essendo u^* la velocità di taglio e d il diametro medio del sedimento] indicante le condizioni di incipiente moto del sedimento; e il numero di Reynolds al taglio [$Re = u^* d / \nu$ – con ν = viscosità cinematica dell'acqua].

Portata	Q/B (m ² s ⁻¹)	Profondità dell'acqua (m)	Velocità di corrente (m s ⁻¹)	Qs/B(kg/(ms))	θ	Re*
Q1	0.005	0.115	0.041	0	0.002	5.6
Q2	0.013	0.135	0.098	0	0.007	10.8
Q3	0.019	0.140	0.134	0	0.011	13.6
Q4	0.029	0.150	0.192	0	0.019	17.8
Q5	0.036	0.085	0.430	0.003	0.056	35.3
Q6	0.055	0.110	0.500	0.032	0.066	40.0

Le differenze nella frequenza e nell'ampiezza di apertura delle valve in risposta alla somministrazione di cibo sono state testate mediante Wilcoxon Signed Rank Test ($\alpha = 0,05$) utilizzando la funzione wilcox.test dal pacchetto dplyr (Wickham *et al.*, 2020) mantenendo due periodi di alimentazione come fattori fissi (Tab. 3). La funzione kruskal.test del pacchetto MASS (Venables & Ripley, 2002) è stata utilizzata per il Kruskal-Wallis Test (χ^2 ; $\alpha = 0,05$) per confrontare le differenze nella frequenza e nell'ampiezza di apertura della valvola entro e tra i livelli di stress idrodinamico: i) mantenendo velocità di portata, periodi e variazione di portata per periodi come fattori fissi e ii) tra i diversi tipi di comportamento (Tab. 3).

Tab. 3. Descrizione dei fattori fissi utilizzati nei Wilcoxon Signed Rank Test (esperimenti di alimentazione) e nei test di Kruskal-Wallis (esperimenti sul comportamento indotto dall'idrodinamica): portata e periodi sequenziali.

Esperimenti		Portata	Periodo
Comportamento normale	Alimentazione	Q1	SA (senza alimentazione)
			CA (con alimentazione)
Comportamento in risposta a stress idraulico	Portata costante	Q1	C1 (1 h)
		Q2	C2 (1 h)
		Q3	C3 (1 h)
		Q4	C4 (1 h)
	Variazioni di portata minime (PV = piccole variazioni)	Q2-Q4	V1 (22.5 min)
		Q3-Q4	V2 (22.5 min)
	Variazioni di portata forti (GV = grandi variazioni)	Q2-Q5	V3 (22.5 min)
		Q2-Q6	V4 (22.5 min)
		Q3-Q5	
		Q3-Q6	

I modelli additivi generali (GAM) che utilizzano il pacchetto mgcv (Wood, 2011, 2017) sono stati adattati ai dati utilizzando la funzione gam per determinare se il numero di individui che non rispondono ha influenzato i modelli di risposta comportamentale delle cozze. Sono stati confrontati



due modelli (Multiple R-squared R² e Akaike Information Criterion AIC) comprendenti: 1) tutti gli individui e 2) solo quelli che reagiscono allo stress, mantenendo come fattore fisso il numero di individui e la variazione di portata. Per il GAM del comportamento di transizione, abbiamo escluso gli individui che mostrano un comportamento normale o di riposo, per il GAM del comportamento di adattamento sono state inclusi solo gli individui che mostrano adattamento. La relazione tra la percentuale di individui reattivi e l'intensità del fattore di stress è stata testata da un terzo modello (R²) includendo solo gli individui che presentano un comportamento di transizione e adattamento. Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando il software R in linguaggio statistico open source (R Core Team, 2020).

*Risposte comportamentali di *Unio elongatulus* alle variazioni di temperatura*

La temperatura è il primo parametro che varia al variare del livello dell'acqua, con ovvi effetti sugli animali con mobilità nulla o molto limitata come i bivalvi. Per questa ragione, sono stati condotti esperimenti per verificare le risposte comportamentali alle variazioni termiche (Fig. 13).

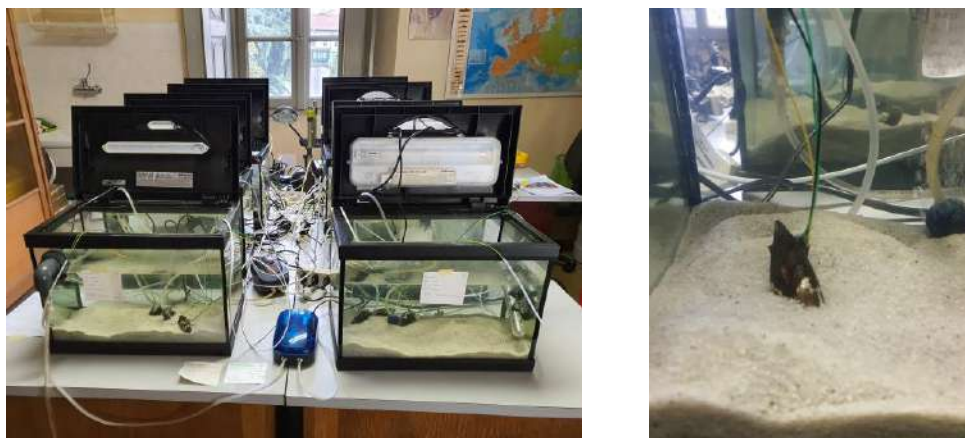


Fig. 13 - Esperimento di registrazione risposte valvometriche alle variazioni di temperatura.

Poiché i primi esperimenti hanno evidenziato limiti tecnologici nel raggiungimento delle temperature più elevate (>25°C) e nel mantenimento di valori costanti nel tempo e nei diversi trattamenti sperimentali, è stato necessario replicare i test impiegando strumentazione più potente collegata a sistemi elettronici di controllo delle temperature (osPID; Figg. 14 e 15).

Per valutare le risposte alle variazioni termiche sono stati condotti esperimenti sottoponendo gli animali a stress termico: 1) acuto = variazioni (incrementi e/o riduzioni) rapide della temperatura rispetto al valore ottimale di acclimatazione: 0.3°C min⁻¹; 2) cronico = esposizione a 20, 25 e 30°C per 2 settimane. Sono stati inoltre effettuati esperimenti di lungo termine per verificare la capacità degli animali di sfuggire all'essiccamento durante le fasi di riduzione (naturale o artificialmente indotta) del livello delle acque.



Stress termico acuto

Per misurare i massimi o minimi termici critici (CTM), gli animali sono stati posti individualmente in contenitori separati di 1,5 L, posti in un grande contenitore di circa 65 L che fungeva da bagno termostatico (Fig. 14).

- 1) I singoli contenitori condividevano lo stesso bagno riscaldato e lo stesso sistema di aerazione attraverso una configurazione di 3 o 4 riscaldatori e una pompa dell'acqua che ricircolava l'acqua distribuendola a tutti i contenitori (Fig. 14).
- 2) L'acqua nel bagno contenitore era impostata alla temperatura di acclimatazione (15°C) e quindi aumentata/diminuita a una velocità lineare di $0,3^{\circ}\text{C min}^{-1}$, in modo che la temperatura corporea dell'animale non fosse inferiore rispetto alla temperatura dell'acqua, né consentisse una graduale acclimatazione all'aumento/diminuzione della temperatura.
- 3) Il CTM veniva identificato con l'inizio di un'apertura estrema delle valve, caratterizzata da muscoli adduttori rilassati, piede parzialmente o completamente esteso e mancanza di risposta agli stimoli (Fig. 16).
- 4) Una volta raggiunto il CTM l'animale veniva tolto dal bagno e lasciato riposare in un bagno nel quale la temperatura veniva gradualmente riportata alla temperatura di acclimatazione (15°C), (Fig. 16).
- 5) Per controllare la pendenza dell'incremento/diminuzione di temperatura, un osPID veniva utilizzato come termostato al quale erano collegati i riscaldatori/refrigeratori (Fig. 14 e 15).

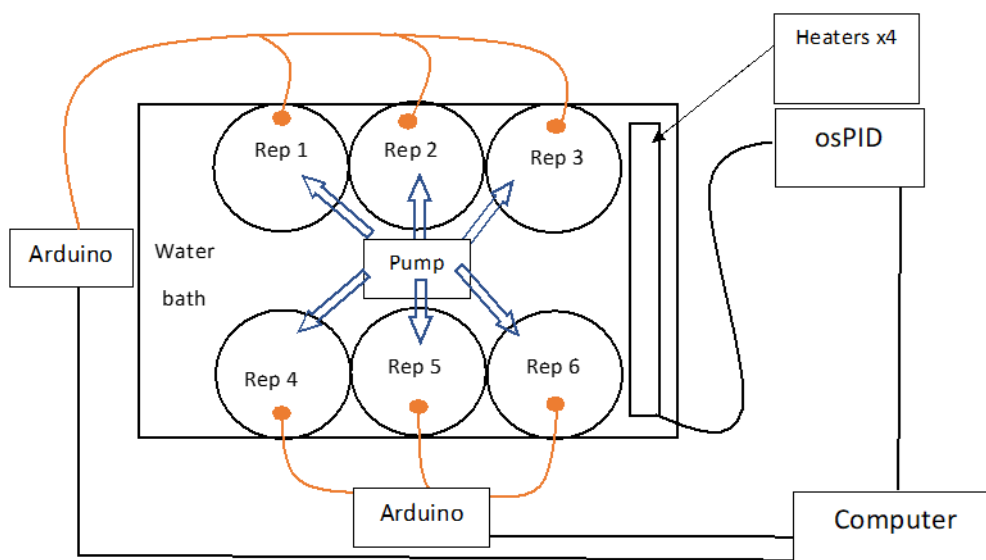


Fig. 14 - Schema del sistema sperimentale utilizzato per gli esperimenti di stress termico acuto.

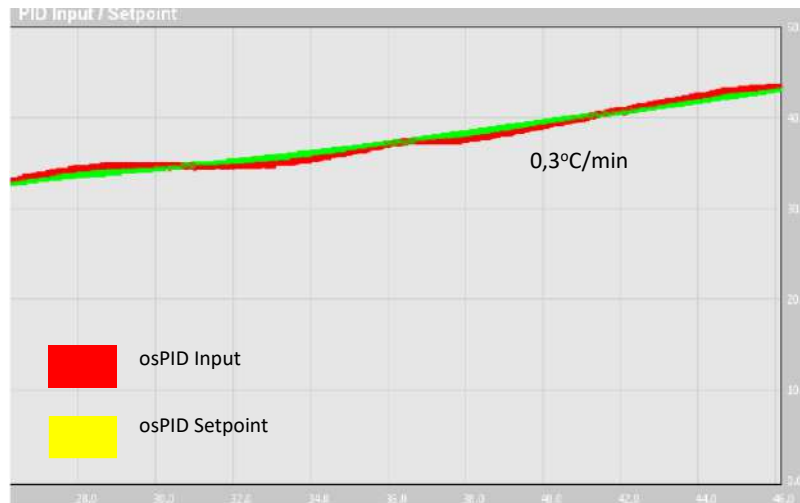


Fig. 15 - Incremento di temperatura applicato negli esperimenti di esposizione acuta.

Sono stati quindi eseguite due serie di esperimenti:

- 1) Esposizione ad incrementi rapidi di temperatura ($0.3^{\circ}\text{C min}^{-1}$) con registrazione valvometrica per verificare le risposte comportamentali alle ondate di calore estreme ed identificare la soglia di risposta (Critical Thermal Maximum) ed il limite di tolleranza (FRT);
- 2) Esposizione acuta ad incrementi rapidi di temperatura ($0.3^{\circ}\text{C min}^{-1}$), senza registrazione valvometrica, per verificare la mortalità indotta dall'esposizione di breve termine a ondate di calore estremo.



Fig. 16 - Esperimento di registrazione risposte valvometriche alle variazioni di temperatura. Sin: immagine del bivalve all'inizio della risposta acuta allo stress termico, al centro raggiungimento della soglia massima di tolleranza allo stress termico (CTM); al centro: immagine del bivalve al raggiungimento del limite estremo di tolleranza (FRT) identificato dalla mancanza di movimento alla sollecitazione del piede; Dx: immagine dei bivalvi durante la fase di recupero successiva all'esposizione in acuto.



Stress termico cronico

Prima dell'inizio degli esperimenti gli animali sono stati acclimatati a 20°C per 7 giorni, con somministrazione quotidiana di alimento. Sono state eseguite due serie di esperimenti:

- 1) gli animali sono stati distribuiti in acquari del volume di 20 L e mantenuti per 2 settimane a 20 (controllo), 25 e 30°C.
- 2) esposizione a tre differenti scenari di riduzione del livello dell'acqua per la registrazione delle risposte di evitamento (movimenti orizzontali e verticali).

Per la realizzazione dell'esperimento di disidratazione (2) sono state costruite 3 rampe in legno (di uguale pendenza pari a 21,8°) che sono state poste in vasche con acqua ad una temperatura costante di 20°C. All'interno di ogni vasca sono state costruite rampe di legno (Fig. 17) per simulare le condizioni dell'argine e aggiunto 10 cm di ghiaia e sabbia (0,5 - 2 cm) come substrato naturale per consentire i movimenti degli animali. Sono stati testati tre diversi trattamenti di diminuzione del livello dell'acqua (1 per vasca) e sono stati simulati scenari di drenaggio riducendo il rapporto ingresso/uscita dell'acqua a una velocità costante di 4 cm giorno⁻¹ o 8 cm giorno⁻¹, rispettivamente per il drenaggio lento e veloce. Su ogni rampa (totale di 3 rampe di controllo più 3 rampe per il trattamento) sono stati testati 5 individui per un totale di 30 individui per trattamento (n=30). Gli animali sono stati aggiunti alle rampe 24 ore prima degli esperimenti.

Per ogni prova sono state utilizzate 6 rampe, in ciascuna sono stati posti 5 individui ed applicata la stessa velocità di disidratazione. Per il confronto delle risposte nei tre diversi scenari si è adottato il seguente piano sperimentale:

- Riduzione di livello lenta: 3 rampe di controllo (senza disidratazione) + 3 rampe a lenta riduzione del livello (4 cm giorno⁻¹) per 8 giorni;
- Riduzione di livello moderata: 3 rampe di controllo (senza disidratazione) + 3 rampe con moderata riduzione del livello (8 cm giorno⁻¹) per 4 giorni;
- Riduzione di livello rapida: 3 rampe di controllo (senza disidratazione) + 3 rampe con rapida riduzione del livello (4 cm h⁻¹) per 8 ore.

Per evitare che la posizione iniziale influenzasse il movimento verticale, tutti gli animali sono stati sepolti allo stesso modo (~ 30% del guscio) e nella stessa direzione (regione ventrale rivolta verso le rampe). Per evitare gli slittamenti, è stata posta una piccola barriera di legno sulla parte superiore della rampa.

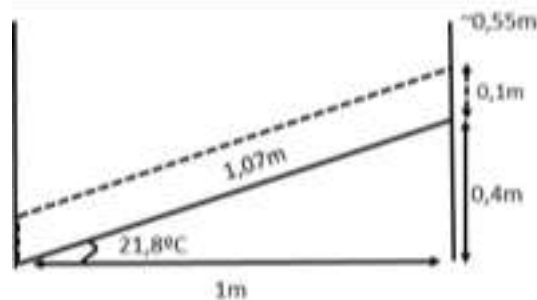


Fig. 17. Dimensioni e posizione delle rampe all'interno dei canali/vasche. Le linee tratteggiate rappresentano 2 pareti di legno (altezza 10 cm) per tenere in posizione il sedimento. Le rampe avevano una larghezza di 90 cm (non illustrate).



La risposta degli animali agli scenari di disidratazione è stata misurata analizzando il movimento orizzontale, l'esposizione del guscio, il movimento verticale e gli individui bloccati in una posizione (assenza di movimento).

Per il riconoscimento degli individui sono stati utilizzati due colori (smalto per unghie) per marcare i gusci in maniera indelebile e inconfondibile. Inoltre, sono state utilizzate bandiere di forma (e colore) diverse per tracciare le specie e distinguerle facilmente (Fig. 18). Per tracciare il movimento orizzontale, le bandiere sono state posizionate in corrispondenza della posizione iniziale dell'animale (Fig. 18) e la distanza orizzontale misurata con una corda come distanza tra la posizione iniziale (bandiera) e quella finale (posizione animale) seguendo le tracce lasciate sul substrato per effetto del movimento.



Fig. 18 - Esempio di marcature per l'identificazione degli animali (a sin) e vista di una delle rampe (controllo) utilizzate per gli esperimenti di disidratazione (a dx). In prossimità del limite superiore della rampa sono visibili le bandierine utilizzate per fissare la posizione di partenza degli animali.

L'esposizione della conchiglia è stata calcolata come percentuale della parte non sepolta dell'individuo. Il movimento verticale è stato misurato come differenza tra le misurazioni dell'esposizione del guscio rispetto alla esposizione precedente. Gli individui bloccati sono stati considerati come indicatori di mancanza di risposta alla siccità, che potrebbe risultare letale. Per questo, gli animali che si trovavano fuori dall'acqua sono stati considerati “spiaggiati” e rimossi dopo 48 ore di spiaggiamento continuo (per evitare la morte dell'animale).

Per tutte le variabili i dati sono stati raccolti due volte al giorno (9:00 e 17:00).



RISULTATI

WP4. Valutazione degli effetti delle variazioni dei livelli sul sistema lago attraverso nuovi indicatori

4.3.1 Composizione in specie, densità e biomassa delle popolazioni di bivalvi

Per valutare gli effetti delle fluttuazioni di livello sulle densità e dinamiche di popolazione dei bivalvi si sono analizzati densità e struttura dimensionale delle specie presenti.

Non è stato possibile l'identificazione a livello di specie per il genere *Anodonta*, presente nel lago con tre specie non separabili morfologicamente (Tab. 4, Riccardi *et al.*, 2020).

Tab. 4 Elenco dei taxa di bivalvi identificati nei tre siti di campionamento.

Taxa	Magadino	Fondo Toce	Sesto Calende
<i>Corbicula fluminea</i>	+	+	+
<i>Dreissena polymorpha</i>	+	+	+
<i>Sinanodonta woodiana</i>	+	+	+
<i>Unio elongatulus</i>	+	+	+
<i>Anodonta</i> spp	+	+	+

In tutte le stazioni il popolamento è dominato da specie invasive (Fig. 19), in particolare *Corbicula fluminea*, che rappresenta oltre il 60% dell'intera popolazione campionata nella stazione di Sesto Calende e oltre il 90% nelle altre due stazioni. *Dreissena polymorpha* ammonta al 36% dell'intero popolamento nella stazione di Sesto, ed il 4-6% nelle altre stazioni. Molto meno abbondanti sono gli Unionidi, sia nativi (*Unio elongatulus* e *Anodonta* spp.) che invasivi (*Sinanodonta woodiana*). La specie nativa *Unio elongatulus* rappresenta lo 0.4-1.5% in tutte le stazioni, mentre *Sinanodonta woodiana* e *Anodonta* spp sono pari rispettivamente allo 0.2-1.2 e allo 0.1-0.7%.

In tutti i siti, *Corbicula fluminea* e *Dreissena polymorpha* mostrano ampie fluttuazioni di abbondanza media, mentre *Sinanodonta woodiana*, *Unio elongatulus* e *Anodonta* sp. mantengono pressoché costanti i loro bassi valori di densità (Tabb. 5, 6 e 7; Figg. 19, 20 e 21).

Ad una prima analisi delle variazioni spazio-temporali non appare alcuna tendenza direttamente correlabile alla gestione dei livelli. È evidente una tendenza al declino di tutte le popolazioni che, per quanto riguarda le specie native, si colloca nel quadro di declino generale osservato in tutti gli ambienti italiani (Riccardi *et al.*, 2020, 2022b, 2022c). Tuttavia, solo un'elaborazione più completa dei dati potrà condurre a conclusioni più specificamente mirate al Lago Maggiore.



Tab. 5 - Densità delle popolazioni di specie nella stazione di Magadino alle diverse date.

Data	Prof.	ind m ⁻²				
		<i>Corbicula fluminea</i>	<i>Sinanodonta woodiana</i>	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Unio elongatulus</i>	<i>Anodonta spp</i>
18/09/2019	0,5 m	44	0	0	1.3	0
	3 m	40	0	0	0	0
	5 m	16	0	0	4	0
	media	33.33	0	0	1.77	0
	Conteggio visuale	NA	0	0.002	0.04	0.002
14/08/2020	0,5 m	54.67	1.33	1.33	1.33	0
	3 m	441.33	0	1.33	1.33	0
	5 m	96	0	5.33	0	0
	media	197.33	0.44	2.66	0.89	0
	Conteggio visuale	NA	0	0.1	0.56	0
30/03/2021	0,5 m	0	0	0	0	0
	3 m	234.67	0	8	6.67	0
	5 m	138.67	1.33	6.67	0	0
	media	124.44	0.44	4.89	2.22	0
	Conteggio visuale	NA	0	0	0	0
08/08/2021	0,5 m	90.67	0	0	6.67	0
	3 m	318.67	1.33	0	2.67	0
	5 m	32	0	0	0	0
	media	147.11	0.44	0	3.11	0
	Conteggio visuale	NA	0	0	0.09	0
02/05/2022	0,5 m	6.67	0	0	0	0
	3 m	169.33	0	16	1.33	0
	5 m	56	0	4	0	0
	media	77.33	0	6.67	0.44	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0
29/08/2022	0,5 m	122.67	0	24	1333	0
	3 m	60	0	9.33	2667	1.33
	5 m	14.67	0	0	0	1.33
	media	65.78	0	11.11	1.33	0.89
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0

Tab. 6 - Densità delle popolazioni di specie nella stazione di Sesto Calende (località Pasturazza) alle diverse date.

Data	Prof.	ind m ⁻²				
		<i>Corbicula fluminea</i>	<i>Sinanodonta woodiana</i>	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Unio elongatulus</i>	<i>Anodonta spp</i>
26/09/2019	0,5 m	68	1.33	57.3	1.33	1.33
	3 m	0	0	0	0	0
	5 m	20	0	0	0	0
	Media	29.33	0.44	19.1	0.44	0.44
	Conteggio visuale	NA	0.02	NA	0.01	0.02
19/08/2020	0,5 m	122	0	0	0	0
	3 m	135	0	149.33	5.33	0
	5 m	79	0	17.33	0	0.01
	Media	112	0	55.55	1.78	0.004
	Conteggio visuale	NA	0.01	NA	0.01	0.04
31/03/2021	0,5 m	0	0	0	0	0
	3 m	5.33	8	30.67	2.67	0
	5 m	0	0	0	0	0
	Media	1.78	2.67	10.22	0.89	0
	Conteggio visuale	1.78	0	0	0	0.08
04/08/2021	0,5 m	13.33	0	0	1.33	0
	3 m	0	0	0	0	0
	5 m	0	0	12.1	0	0
	Media	4.44	0	4033	0.443	0
	Conteggio visuale	NA	0	0	0	0.01
29/04/2022	0,5 m	1.33	0	0	0	0
	3 m	0	0	4	0	1.33
	5 m	1.33	0	0	0	2.67
	Media	0.89	0	1.33	0	1.33
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0
30/08/2022	0,5 m	0	0	0	0	0
	3 m	1.33	0	0	0	0
	5 m	5.33	0	0	0	0
	Media	2.22	0	0	0	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0



Tab. 7 - Densità delle popolazioni di specie nella stazione di Fondotoce alle diverse date.

Data	Prof.	ind m-2				
		<i>Corbicula fluminea</i>	<i>Sinanodonta woodiana</i>	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Unio elongatulus</i>	<i>Anodonta</i> spp
17/09/2019	0,5 m	36	0	0	0	0
	3 m	6.67	0	9.3	0	1.3
	5 m	38.67	0	2.7	0	2.7
	Media	27.11	0	4	0	1.33
	Conteggio visuale	NA	0.01	0.08	0.17	0.043
17/08/2020	0,5 m	157.33	0	1.33	1.33	1.33
	3 m	100	0	1.33	0	0
	5 m	117.33	0	0	0	0
	Media	124.89	0	0.89	0.44	0.44
	Conteggio visuale	NA	0	0.15	0.07	0
01/04/2021	0,5 m	2.67	0	0	0	0
	3 m	385.3	0	6.67	1.33	0
	5 m	633.3	0	18.67	4	0
	Media	340.44	0	8.44	1.78	0
	Conteggio visuale	0	0.16	NA	0.53	0.18
06/08/2021	0,5 m	200	0	0	1.33	0
	3 m	21.33	0	0	0	0
	5 m	25.33	0	2.67	0	2.67
	Media	82.22	0	0.89	0.44	0.89
	Conteggio visuale	NA	0.03	0	0.06	0.01
01/05/2022	0,5 m	257.33	0	50.67	1.33	0
	3 m	8	0	25.33	0	1.33
	5 m	64	0	9.33	0	1.33
	Media	109.78	0	28.44	0.44	0.89
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0
31/08/2022	0,5 m	80	0	0	0	0
	3 m	24	0	1.33	0	1.33
	5 m	6.67	0	1.33	0	1.33
	Media	36.89	0	0.89	0	0.89
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0



Fig. 19 - Variazione nella densità delle diverse specie alle diverse date e profondità nelle tre stazioni di riferimento.

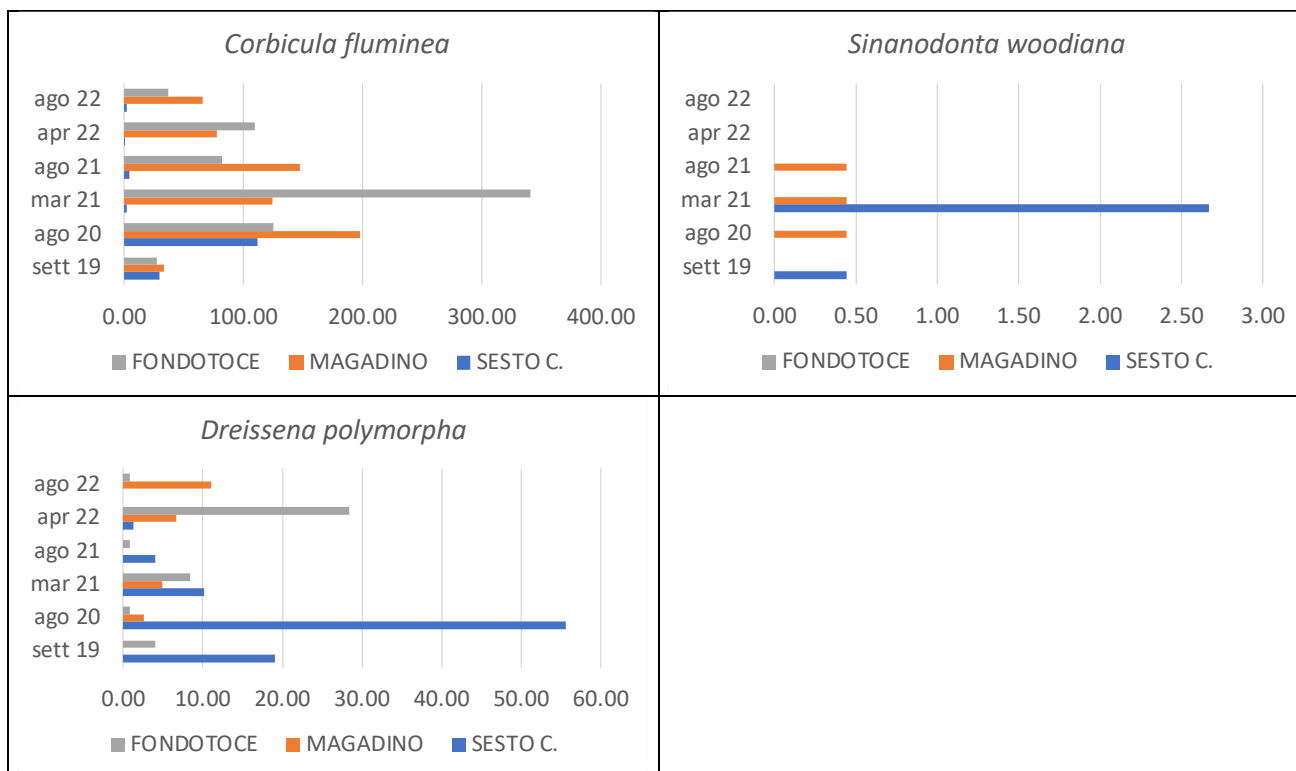


Fig. 20 - Densità media delle specie invasive nelle tre stazioni e nelle diverse date

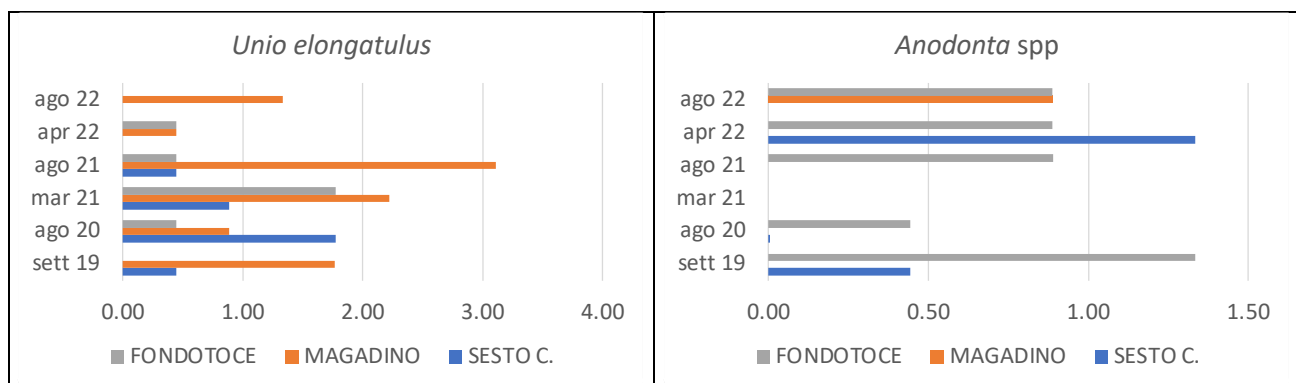


Fig. 21 - Densità media delle specie native nelle tre stazioni e nelle diverse date.

Per confrontare le variazioni spazio-temporali delle popolazioni di bivalvi nei siti di riferimento si sono analizzati parametri di tipo funzionale, quali la lunghezza corporea e la biomassa. Per ogni specie sono state calcolate le relazioni peso-lunghezza su un numero di individui ≥ 100 (Ravera *et al.*, 2007; Coughlan *et al.*, 2021). Non è stato possibile il calcolo per le specie del genere *Anodonta* a causa dell'impossibilità di identificazione senza supporto dell'analisi molecolare.

I valori di biomassa sono stati calcolati a partire dalle relazioni peso-lunghezza misurate per le diverse specie (Figg. 22, 23 e 24). L'analisi dei parametri lineari e dei pesi ha permesso di misurare il rapporto tra il peso secco ed il peso fresco (Fig. 25) fornendo uno strumento di calcolo per seguire



l'andamento futuro senza la necessità di impoverire le popolazioni, soprattutto delle specie native, già in forte declino. I dati di biomassa per le diverse stazioni sono riportati nelle Tabelle 8, 9 e 10.

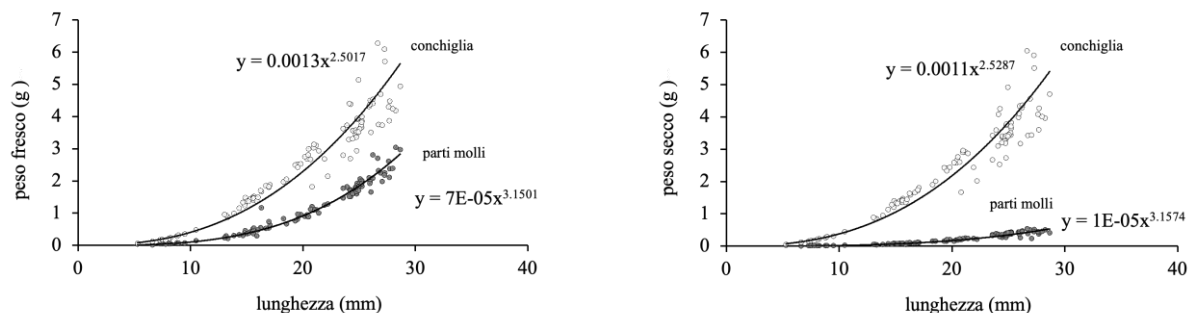


Fig. 22 - Relazione lunghezza/peso fresco (a sin) e lunghezza/peso secco (a dx) della conchiglia e delle parti molli di *Corbicula fluminea*.

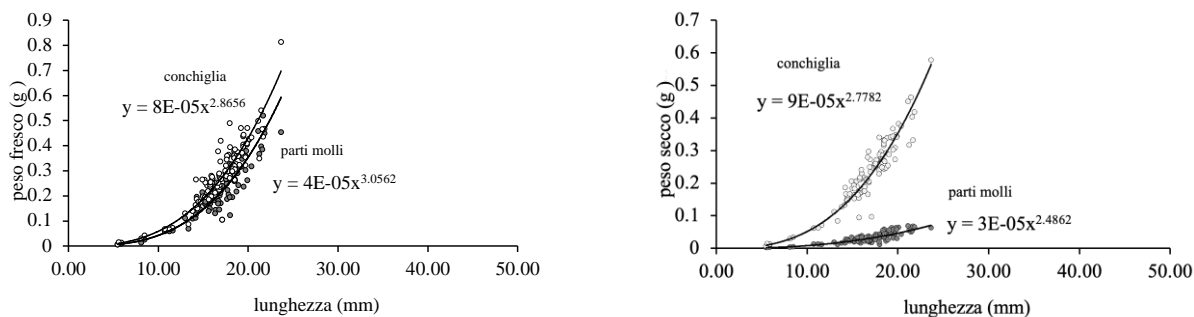


Fig. 23 - Relazione lunghezza/peso fresco (a sin) e lunghezza/peso secco (a dx) della conchiglia e delle parti molli di *Dreissena polymorpha*

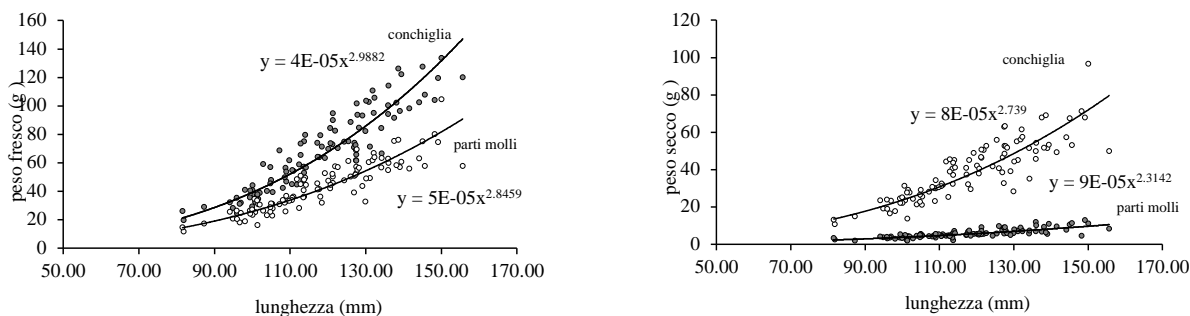


Fig. 24 - Relazione lunghezza/peso fresco (a sin) e lunghezza/peso secco (a dx) della conchiglia e delle parti molli di *Sinanodonta woodiana*.

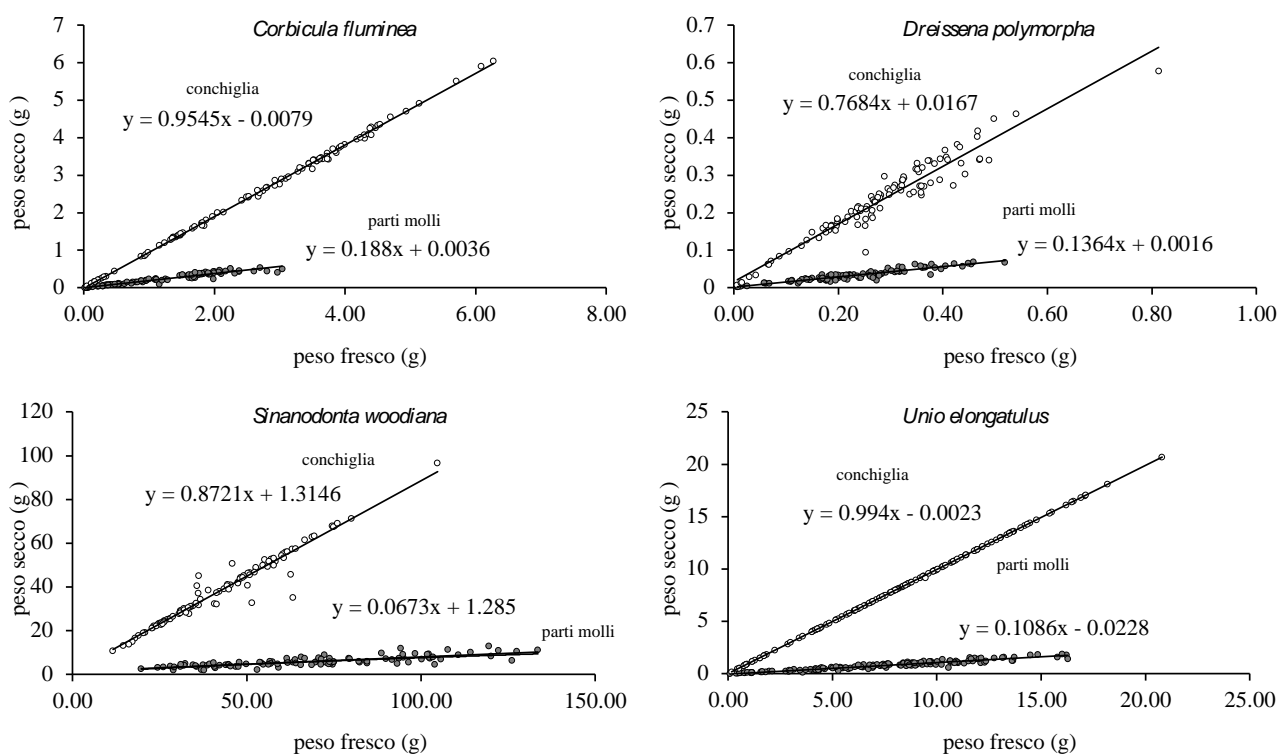


Fig. 25 - Relazione peso fresco/peso secco della conchiglia e delle parti molli di *Corbicula fluminea*, *Dreissena polymorpha*, *Sinanodonta woodiana* e *Unio elongatulus*.

Tab. 8 - Biomassa delle popolazioni di specie nella stazione di Magadino alle diverse date.

Data	Prof.	g m ⁻²				
		<i>Corbicula fluminea</i>	<i>Sinanodonta woodiana</i>	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Unio elongatulus</i>	<i>Anodonta spp</i>
18/09/2019	0,5 m	100	0	0	0	0
	3 m	107.7	0	0	0	0
	5 m	20.2	0	0	0	0
	media	75.97	0	0	0	0
	Conteggio visuale	NA	0	NA	0.88	NA
14/08/2020	0,5 m	97.94	0.66	3.13	12.75	0
	3 m	790.72	0	0.9	6.36	0
	5 m	172	0	14.24	0	0
	media	353.55	0.22	6.09	6.37	0
	Conteggio visuale	NA	0	0.27	6.49	0
30/03/2021	0,5 m	0	0	0	0	0
	3 m	412.96	0	12	73.3	0
	5 m	244.02	32.8	10	0	0
	media	218.99	10.93	7.52	24.43	0
	Conteggio visuale	NA	0	0	0	0
08/08/2021	0,5 m	179.79	0	0	77.37	0
	3 m	631.91	8.68	0	31.03	0
	5 m	63.46	0	0	0	0
	media	291.72	2.89	0	36.13	0
	Conteggio visuale	NA	0	0	1.09	0
02/05/2022	0,5 m	11989	0	0	0	0
	3 m	304530	0	10.07	1.33	0
	5 m	100711	0	2.52	0	0
	media	1390769069	0	4.2	0.44	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0
29/08/2022	0,5 m	184.66	0	14.12	11.72	0
	3 m	90.32	0	5.49	23.43	0
	5 m	22.08	0	0	0	0
	media	33.33	0	0	1.77	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0



Tab. 9 - Biomassa delle popolazioni di specie nella stazione di Sesto Calende (località Pasturazza) alle diverse date.

Data	Prof.	g m ⁻²				
		<i>Corbicula fluminea</i>	<i>Sinanodonta woodiana</i>	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Unio elongatulus</i>	<i>Anodonta spp</i>
26/09/2019	0,5 m	418.78	47.57	20.64	13.84	0
	3 m	0	0	0	0	0
	5 m	83.82	0	0	0	0
	media	167.53	15.86	6.88	4.61	0
	Conteggio visuale	0	0.52	NA	0.18	0
19/08/2020	0,5 m	399.99	0	0	0	0
	3 m	907.76	0	121.2	80.94	0
	5 m	594.92	0	11.38	0	0
	media	634.22	0	44.19	26.98	0
	Conteggio visuale	0	0.21	NA	0.06	0
31/03/2021	0,5 m	0	0	0	0	0
	3 m	32.67	512.94	28.18	31.05	0
	5 m	0	0	0	0	0
	media	10.89	170.98	9.39	10.35	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0
04/08/2021	0,5 m	24.96	0	0	13.41	0
	3 m	0	0	0	0	0
	5 m	0	0	36.72	0	0
	media	8.32	0	12.24	4.47	0
	Conteggio visuale	NA	0	0	0	0
29/04/2022	0,5 m	0.7	0	0	0	0
	3 m	0	0	8.06	0	0
	5 m	0.7	0	0	0	0
	media	0.47	0	2.69	0	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0
30/08/2022	0,5 m	0	0	0	0	0
	3 m	1.06	0	0	0	0
	5 m	4.26	0	0	0	0
	media	1.77	0	0	0	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0

Tab. 10 - Biomassa delle popolazioni di specie nella stazione di Fondotoce alle diverse date.

Data	Prof.	g m ⁻²				
		<i>Corbicula fluminea</i>	<i>Sinanodonta woodiana</i>	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Unio elongatulus</i>	<i>Anodonta spp</i>
17/09/2019	0,5 m	22.97	0	0	0	0
	3 m	2.99	0	8.5	0	0
	5 m	93.25	0	1.6	0	0
	media	39.74	0	3.37	0	0
	Conteggio visuale	NA	0.11	0	1.91	0
17/08/2020	0,5 m	291.59	0	0.42	15	0
	3 m	185.33	0	1.82	0	0
	5 m	217.46	0	0	0	0
	media	231.46	0	0.75	4.93	0
	Conteggio visuale	NA	0	0.2	0.74	0
01/04/2021	0,5 m	3.44	0	0	0	0
	3 m	497.35	0	4.7	18.5	0
	5 m	817.44	0	13.1	55.4	0
	media	439.41	0	5.93	24.6	0
	Conteggio visuale	0	4.98	0	7.3	0
06/08/2021	0,5 m	242.58	0	0	13.06	0
	3 m	25.87	0	0	0	0
	5 m	30.73	0	4.35	0	0
	media	99.73	0	1.45	4.35	0
	Conteggio visuale	NA	0.89	0.39	0.59	0
01/05/2022	0,5 m	426.03	0	22.21	0.82	0
	3 m	13.24	0	11.11	0	0
	5 m	105.96	0	4.09	0	0
	media	181.75	0	12.47	0.27	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0
31/08/2022	0,5 m	89.53	0	0	0	0
	3 m	26.86	0	2.44	0	0
	5 m	7.46	0	2.44	0	0
	media	41.28	0	1.63	0	0
	Conteggio visuale	0	0	0	0	0



4.3.2 Valutazione degli effetti del regime termico sulla condizione riproduttiva e la prevalenza di parassitosi

Dall'esame delle parassitosi emerge che *C. fluminea* è l'unica specie esente da parassiti, mentre la specie nativa *U. elongatulus* risulta pesantemente parassitata sia da Trematodi castratori (*Rhipidocotyle campanula*, Figg. 26 e 27) che da Idracarini di diverse specie (Fig. 27). I dati preliminari delle analisi dei diversi campioni sono schematizzati nella Tabella 11. I risultati di questi esperimenti saranno completati dall'analisi istologica di campioni raccolti a bassa profondità (0.5-1 m) e a profondità maggiori (5-10 m) per verificare l'impatto dei parassiti e della temperatura sullo stato riproduttivo.

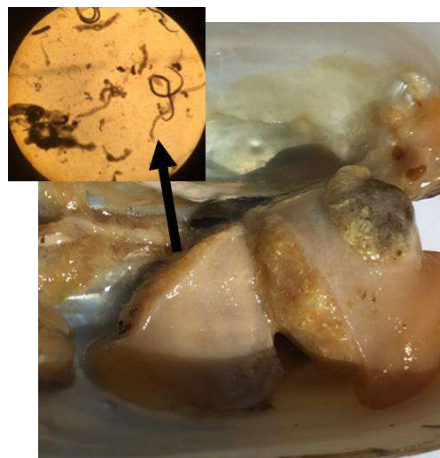


Fig. 26 - Gonade di *Unio elongatulus* completamente invasa da *Rhipidocotyle campanula*.

Poiché la temperatura è un fattore determinante nello sviluppo dei parassiti, è stato fatto un confronto tra la prevalenza dei parassiti nelle specie native presenti negli strati d'acqua più superficiali e in quelli più profondi. Dai dati preliminari si evince che gli esemplari raccolti a profondità minori, e quindi maggiormente esposti a stress termici, sono più parassitati di quelli prelevati a maggiori profondità. Poiché la prevalenza di trematodi castratori nella specie nativa più abbondante (*Unio elongatulus*) risultava molto elevata (circa il 70%) rispetto alla media di altre popolazioni della stessa specie e di altre specie congeneriche (Taskinen *et al.*, 2020), si è deciso di approfondire l'analisi mediante tecniche istologiche che sono più efficaci dei metodi comunemente in uso (Taskinen *et al.*, 2020; Brian & Aldridge, 2021) per rilevare la presenza degli stadi più precoci dei Trematodi.



Fig. 27 - Metacercaria di *Rhipidocotyle campanula* (a sin) e larve di Idracarini (a dx) presenti rispettivamente nella gonade e nel mantello di *Unio elongatulus*.



Tab. 11 - Presenza di parassiti nelle diverse specie di bivalvi.
Prevalenza nella popolazione: +++ => 60 %; ++ => 40 %; + = 10 - 20 %; - = assente.

	<i>Rhipidocotyle campanula</i>	Idracarini	Ciliati	<i>Aspidogaster</i> sp.	<i>Chaetogaster</i> sp.
<i>Unio elongatulus</i>	+++	+++	+++	-	-
<i>Anodonta</i> spp.	++	+++	+++	+	+
<i>S. woodiana</i>	+	+++	++	+	+
<i>D. polymorpha</i>	-	-	++	-	-
<i>Corbicula fluminea</i>	-	-	-	-	-

Le sezioni istologiche condotte su dieci campioni di *Unio elongatulus* prelevati ad Angera hanno confermato che solo mediante l'analisi delle sezioni istologiche dei diversi organi è possibile identificare l'infestazione nelle fasi iniziali (Fig. 28) mentre l'osservazione a fresco mediante microscopio ottico (Fig. 29) può sottostimare la presenza degli stadi più precoci dell'infestazione parassitaria. È evidente come la visibilità, e quindi l'identificazione, delle spore del parassita sia estremamente difficoltosa in immagine ottica a fresco (Fig. 29) rispetto all'immagine ottenuta dopo fissazione e colorazione del preparato istologico (Fig. 28). Poiché le variazioni, naturali o indotte, del livello del lago influiscono sul regime termico degli strati d'acqua, possono influenzare sia la presenza di malattie parassitarie che la capacità riproduttiva dei bivalvi. Se da una parte le riduzioni del livello inducono mortalità massive di molluschi rimasti all'asciutto o esposti a temperature eccessivamente elevate, dall'altra l'innalzamento dei livelli può abbassare le temperature alle quali i bivalvi sono normalmente esposti. L'abbassamento delle temperature può limitare la riproduzione sia impedendo lo sviluppo delle cellule riproduttive che rallentando lo sviluppo delle larve. Gli effetti delle variazioni di temperatura e dell'infestazione da parassiti castratori sono strettamente collegati proprio per la loro influenza sull'attività riproduttiva. Per studiare con maggiore accuratezza i potenziali effetti indotti dalle variazioni del regime termico al quale gli organismi vengono esposti a causa delle variazioni di livello, è stato pianificato il campionamento in tre zone a profondità crescente (zona I = 0,5-1 m; zona II = 6 m; zona III = 15 m).

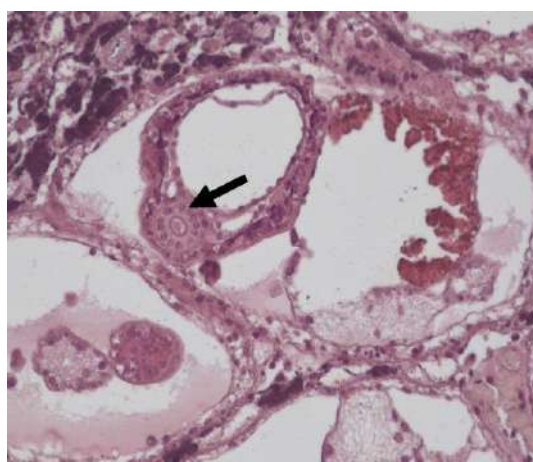


Fig. 28 - Sezione istologica della gonade di *Unio elongatulus*: si evidenzia la presenza di uno stadio di sviluppo iniziale di *Rhipidocotyle campanula*. La freccia evidenzia la struttura dell'apparato di suzione del parassita.

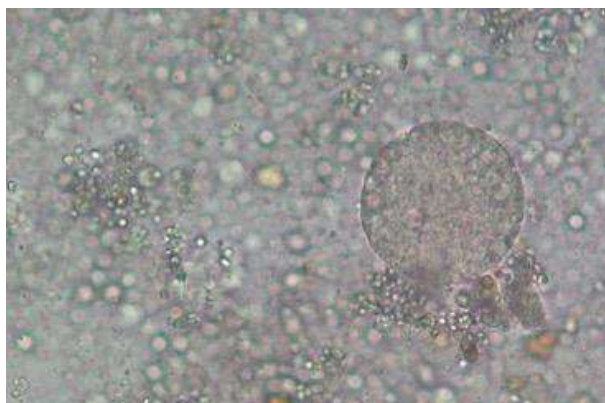


Fig. 29 - Spora di *Rhipidocotyle campanula* osservata al microscopio ottico in un frammento di gonade di *U. elongatulus*.

I primi risultati del confronto tra le popolazioni raccolte alle tre diverse profondità sono riportati nella fig. 30. I risultati preliminari mostrano che il rapporto tra i sessi di *U. elongatulus* variava nelle diverse zone del lago (Figg. 31, 32 e 33). I maschi erano più abbondanti nelle acque basse con temperatura più elevata in estate e più fredda in inverno (zona I) e a media profondità (zona II), mentre le femmine erano più numerose nelle acque più profonde al di sotto del termoclinio dove la variazione di temperatura è molto più ristretta (Figg. 19 e 20).

Il parassita digeneo, *Rhipidocotyle campanula*, che è stato identificato nelle gonadi di *U. elongatulus* (Figg. 26, 27, 28 e 29) causa la castrazione degli individui infetti riducendo in tal modo il potenziale riproduttivo della popolazione. La Figura 26 mostra come l'intera gonade femminile possa venire distrutta dal parassita che si accresce fino ad occupare completamente lo spazio precedente occupato dai tessuti ghiandolari. Similmente, una infestazione di grado severo può distruggere completamente la gonade maschile impedendo la produzione degli spermatozoi.

Il rapporto sessi è sbilanciato in favore dei maschi nelle popolazioni più superficiali (Figg. 30 e 31). Individui parassitati sono presenti in tutte le zone termali del lago, ma solo nella zona più profonda e fresca (zona III) si è notato che la prevalenza di parassiti in *U. elongatulus* era la più bassa (Fig. 32). Nelle zone I e II è stata osservata una minore produzione riproduttiva (produzione di prole) a causa dell'impatto del trematode (Fig. 33). Una bassa percentuale di individui ermafroditi, o di individui di dubbia attribuzione sessuale, è stata osservata a tutte le profondità (Figg. 30, 31 e 32). Entrambe le categorie saranno rivalutate mediante analisi istologica delle sezioni delle gonadi.

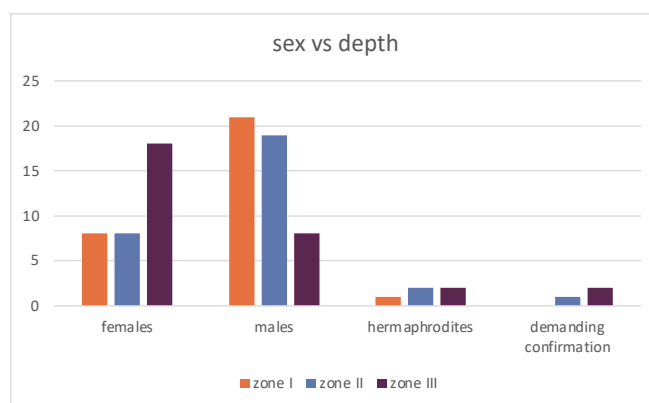


Fig. 30 - Rapporto sessi in *U. elongatulus* nelle tre diverse zone termali (vedi testo per spiegazioni).

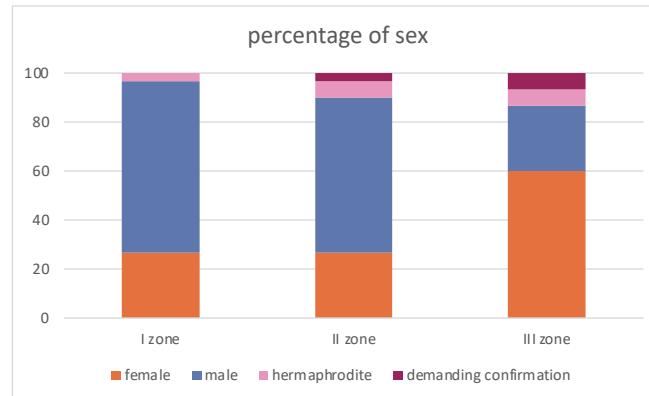


Fig. 31 - Percentuale di maschi, femmine ed ermafroditi in *U. elongatulus* delle tre diverse zone termali (vedi testo per spiegazioni).

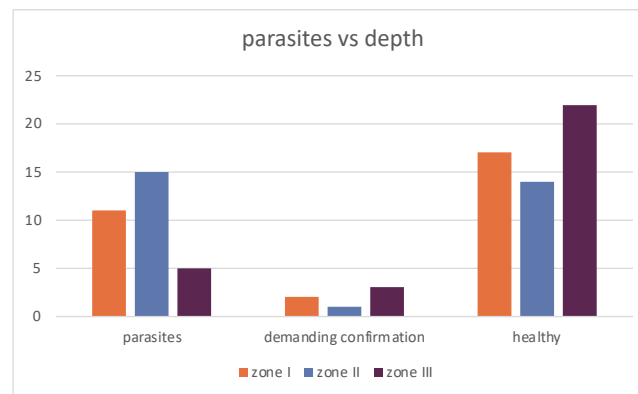


Fig. 32 - Numero di individui parassitati e sani nelle popolazioni di *U. elongatulus* delle tre diverse zone termali (vedi testo per spiegazioni).

I risultati preliminari riportati sopra, e ottenuti dalle analisi microscopiche a fresco dei campioni raccolti a bassa profondità (0,5-1 m) e a profondità maggiori (6 e 15 m), saranno completati dall'analisi istologica di campioni che sono in corso presso l'Institute of Environmental Sciences at Jagiellonian University di Krakow (Poland).

4.3.3 Analisi delle risposte comportamentali di *Unio elongatulus* alle variazioni di livello e parametri correlati

Comportamento normale

La frequenza di apertura delle valve era costante durante i periodi di assunzione dell'alimento ($0,0136 \pm 0,00828$ Hz) e non significativamente diversa dai periodi di digiuno ($0,0111 \pm 0,00374$ Hz). L'ampiezza dell'apertura delle valve era simile con ($18,9 \pm 3,44\%$) e senza ($20,1 \pm 5,53\%$) apporto di cibo (Fig. 33a). Valori simili di frequenza di apertura ($0,0119 \pm 0,00463$ Hz) e ampiezza ($18,3 \pm 6,17\%$) sono stati misurati in condizioni non stressanti (Fig. 33b).



I video hanno evidenziato che ad ogni apertura delle valve (picco sulla traccia di registrazione) corrispondeva un singolo movimento orizzontale e che quanto più lunga e ampia era l'apertura, maggiore era la distanza percorsa. Questo modello comportamentale, qui classificato come comportamento normale, non era comune a tutti gli individui. Alcuni di loro (12,5%) non hanno mostrato movimenti delle valve (picchi) durante l'intero esperimento e i video suggeriscono che il loro comportamento assomiglia a una fase di riposo.

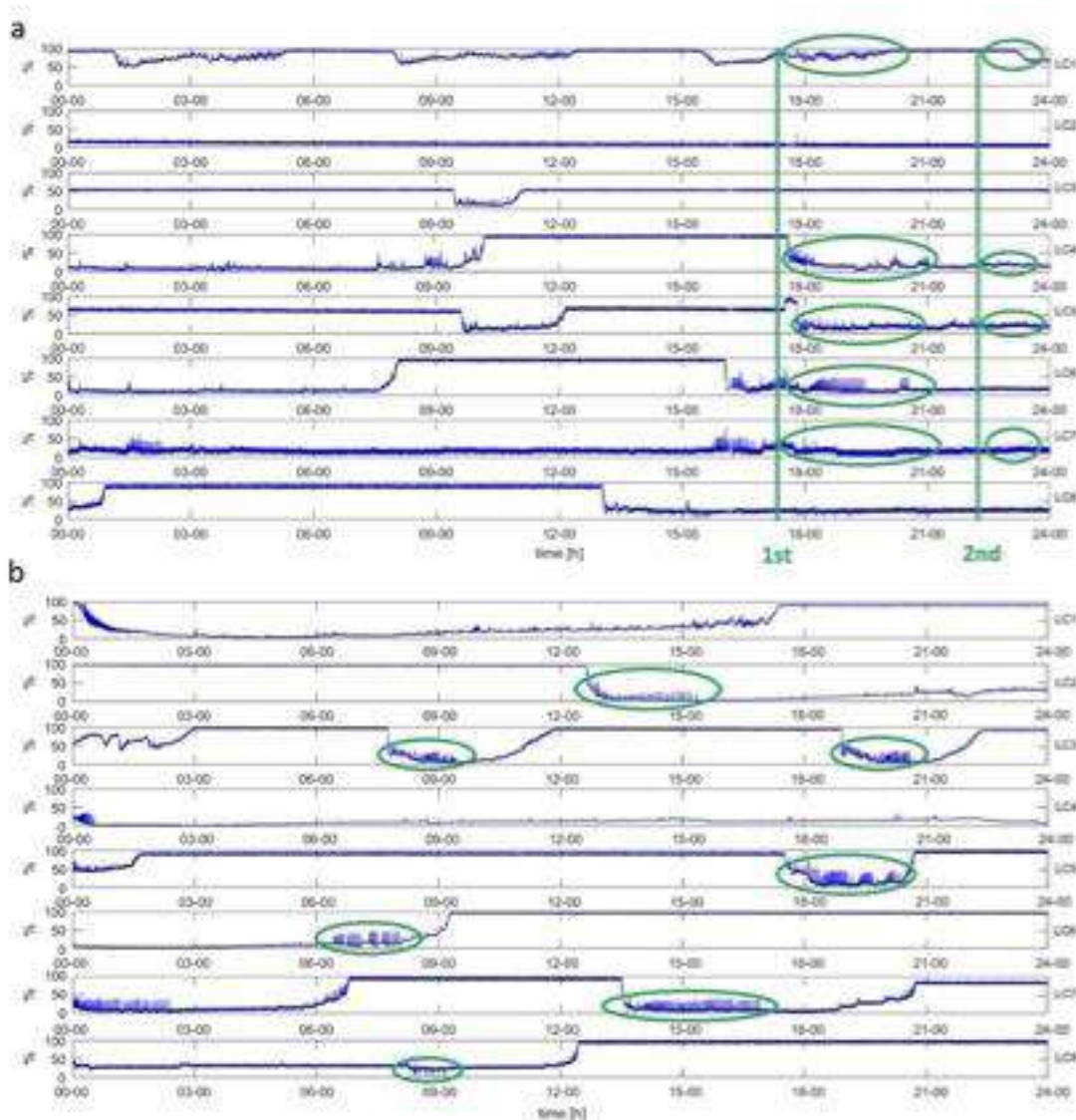


Fig. 33 - Esempi di risposte di *U. elongatulus* durante gli esperimenti comportamentali di (a) alimentazione (con e senza cibo, le linee verdi rappresentano il 1° e il 2° periodo di alimentazione) e (b) movimento. I cerchi verdi rappresentano le frequenze costanti di apertura delle valve nell'alimentazione e nel movimento.

Comportamento indotto dall'idrodinamica

Non sono state osservate differenze significative nella frequenza di apertura/chiusura delle valve in condizioni statiche costanti ($0,0132 \pm 0,00744$ Hz) e in condizioni di flusso minimo con piccole



variazioni senza trasporto di sedimenti (da Q2 e Q3 a Q4; $0,0177 \pm 0,00473$ Hz), cioè al di sotto di 35,3 del numero di Reynolds di taglio (Tab. 2). Al di sopra di questa soglia ($0,0256 \pm 0,00660$ Hz), l'aumento della portata ha indotto il trasporto del sedimento (da Q2 e Q3 a Q5 e Q6), e la reazione dei bivalvi è passata dal comportamento normale con frequenza costante di apertura/chiusura ad un comportamento variabile (esempio in Fig. 34). In effetti, sono stati osservati aumenti significativi della frequenza di apertura/chiusura ($0,0308 \pm 0,00428$ Hz) immediatamente dopo l'inizio di portate elevate con trasporto di sedimenti, cioè dal periodo C4 di portate costanti (Q2 e Q3) al periodo V1 di portate elevate (Q5 e Q6) (Tab. 3, Figg. 3 e 4). La maggior parte dei valori di ampiezza di apertura della valvola non differiva significativamente tra scarichi costanti ($15,7 \pm 7,55\%$) e variabili ($15,2 \pm 8,78\%$).

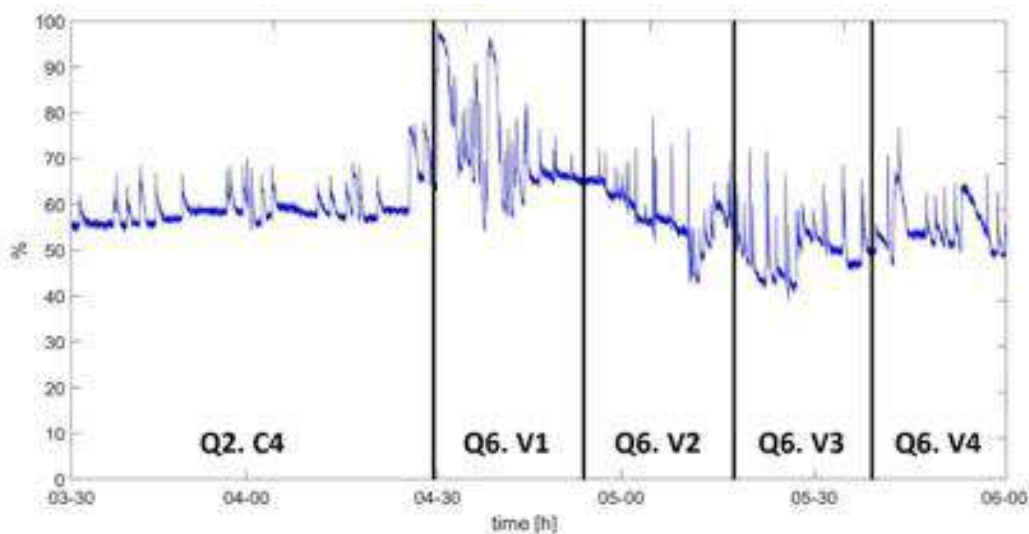


Fig. 34 - Esempio di traccia valvometrica di *U. elongatulus* che mostra la risposta comportamentale prima (ultimo periodo C4 di scarica costante Q2) e dopo la scarica con variazione (periodi V1, V2, V3 e V4 di Q6).

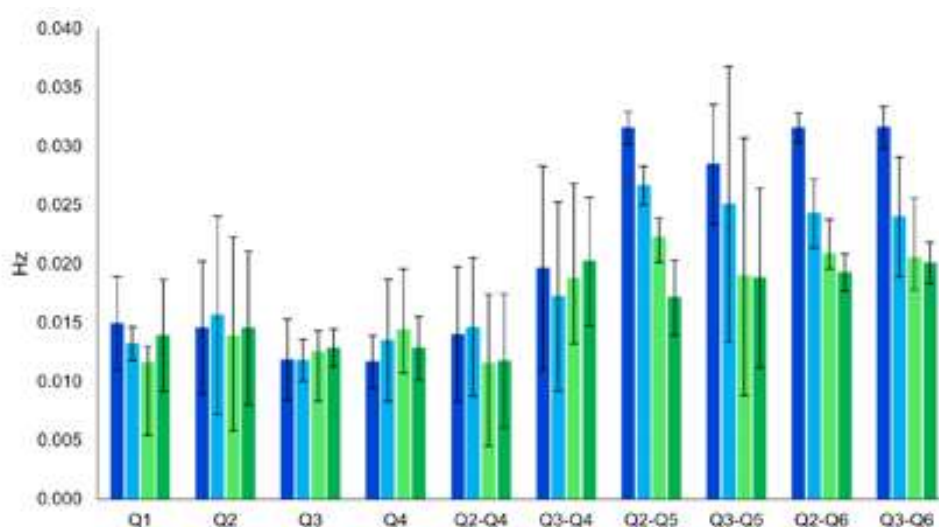


Fig. 35 - Frequenza media (\pm DS) di apertura/chiusura (Hz) *U. elongatulus* in esperimenti di comportamento idrodinamico indotto con scariche costanti (Q1, Q2, Q3 e Q4) e scariche variabili (Q2-Q4, Q3-Q4, Q2-Q5, Q3-Q5, Q2-Q6 e Q3-Q6). I diversi periodi sperimentali C1, C2, C3 e C4 in scariche costanti e V1, V2, V3 e V4 in scariche variabili sono rappresentati rispettivamente da barre blu scuro, azzurro, verde chiaro e verde scuro.



Analisi comportamentale dell'apertura/chiusura delle valve

La media di tutti i segnali individuali è stata utilizzata per identificare i modelli comportamentali (esempi in Fig. 36). La frequenza di transizione ($0,0252 \pm 0,00718$ Hz) differiva significativamente da quella visualizzata durante i periodi di comportamento normale ($0,0078 \pm 0,00300$ Hz). Anche la frequenza di apertura/chiusura durante il comportamento normale differiva significativamente da quella del comportamento di adattamento ($0,0140 \pm 0,00537$ Hz). Al contrario, non sono state osservate differenze significative nell'ampiezza di apertura delle valve tra comportamento normale ($13,8 \pm 4,35\%$), di transizione ($15,5 \pm 4,06\%$) o di adattamento ($14,7 \pm 7,51\%$). Nessuno dei bivalvi ha mostrato reazioni in risposta alle variazioni di livello o a valori modesti di portata in condizioni costanti. Invece, la maggioranza dei bivalvi (dall'88 al 97%; Tab. 12) ha reagito prontamente all'aumento delle portate con il trasporto di sedimenti, mostrando una transizione dal loro comportamento normale a una frequenza di apertura/chiusura significativamente più alta (Figg. 35 e 36).

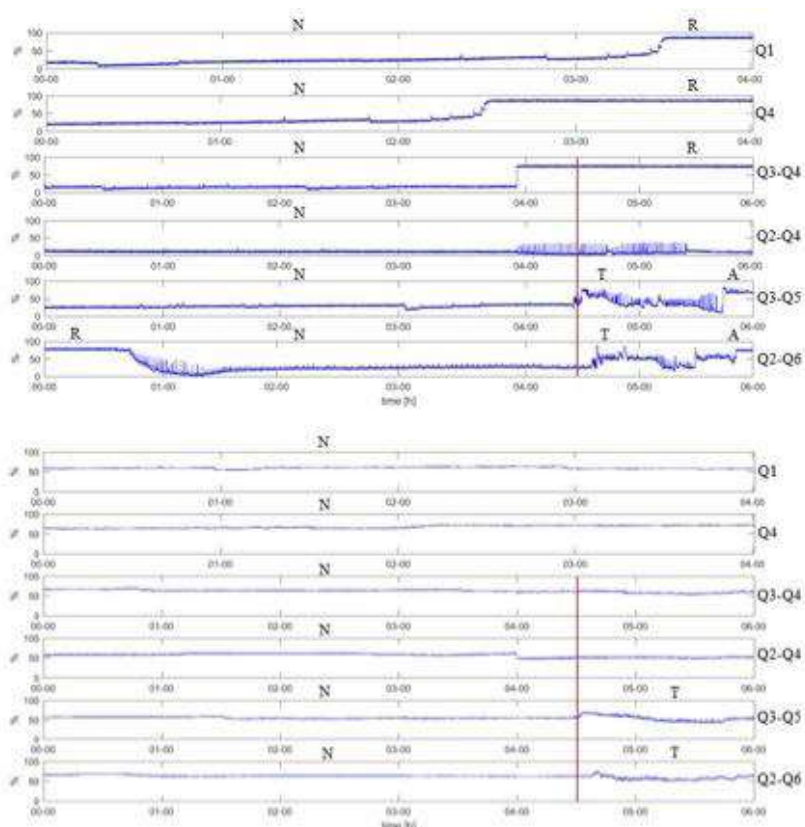


Fig. 36 - Esempio di risposte comportamentali di (a) un individuo di *U. elongatulus* e (b) la media di 8 individui a: portata costante, bassa (Q1) e alta (Q4); portata con bassi tassi di variazione senza trasporto di sedimenti (Q3-Q4, Q2-Q4) e alti tassi di variazione con trasporto di sedimenti (Q3-Q5, Q2-Q6). Le lettere N, R e T rappresentano il comportamento dei bivalvi: rispettivamente N = normale, R = a riposo e T = di transizione. La linea rossa verticale indica l'inizio della variazione dei tassi di scarico

Alcuni individui (dal 44 al 60%; Tab. 12) hanno presentato un comportamento di adattamento evidenziato da una graduale diminuzione della frequenza in risposta alla persistenza di condizioni



stressanti (Figg. 35 e 36). I restanti individui erano apparentemente inerti, mantenendo le valve aperte nella stessa posizione. Nessun animale ha mostrato il comportamento di evitamento anche quando sono state applicate variazioni di portata estreme. La percentuale di bivalvi reattivi e l'intensità della loro reazione sono aumentate significativamente dal livello di stress più basso (da Q2 e Q3 a Q4) a quello più alto (da Q2 e Q3 a Q5 e Q6). Tra i GAM, il modello che includeva tutti i dati era il miglior descrittore della reazione indotta dallo stress (comportamento di transizione: $R^2 = 0,209$, $AIC = -1121,33$; comportamento di adattamento: $R^2 = 0,063$, $AIC = -1283,17$), suggerendo che il numero di mitili che non rispondono non ha influenzato i modelli generali della risposta comportamentale. La percentuale di individui che reagiscono aumenta con l'aumentare dell'intensità dello stress come mostrato dal terzo modello (comportamento di transizione: $R^2 = 0.212$, $AIC = 53.080$; comportamento di adattamento: $R^2 = 0.113$, $AIC = 51.025$).

Tab. 12 - Numero di bivalvi utilizzato nei modelli additivi generali (GAM): (1) numero totale utilizzato in tutti gli esperimenti (NT); (2) numero che presentava attività di apertura delle valve (NA), comportamento normale (NN); (3) numero che ha presentato risposta ai fattori di stress idrodinamici con comportamento di transizione (NT) e con comportamento di adattamento (NT+A); e (4) la percentuale (%) che presentava comportamento di transizione (PT) e comportamento di adattamento (PT+A).

Esperimenti	Portata	N _T	N _A	N _N	N _T	N _{T+A}	P _T	P _{T+A}
Alimentazione	Q1	8	6	6	-	-	-	-
		8	6	6	-	-	-	-
Costante	Q1	32	24	24	-	-	-	-
	Q2	32	22	22	-	-	-	-
	Q3	32	25	25	-	-	-	-
	Q4	32	24	24	-	-	-	-
Variazione piccola (SV)	Q2-Q4	32	26	9	17	9	53	28
	Q3-Q4	32	23	2	22	13	69	41
Variazione elevata (HV)	Q2-Q5	32	31	0	31	14	97	44
	Q2-Q6	32	30	0	30	14	94	44
	Q3-Q5	32	29	1	28	19	88	59
	Q3-Q6	32	28	0	28	19	88	59

4.3.3.2 Analisi delle risposte comportamentali di *Unio elongatulus* alle variazioni di temperatura

Le risposte comportamentali di *U. elongatulus* alle variazioni di temperatura sono state misurate mediante esperimenti di esposizione a stress acuto e a disidratazione.

Risposte allo stress acuto

Le risposte alle variazioni rapide di temperatura hanno evidenziato che gli animali reagiscono solamente all'incremento delle temperature, mentre non mostrano alcuna risposta alle riduzioni di temperatura entro l'intervallo rappresentativo delle variazioni stagionali del Lago Maggiore.

La popolazione del Lago Maggiore è stata confrontata con una popolazione della stessa specie prelevata da un lago simile per condizioni trofo-chimiche-biologiche (Lago di Bourget, Savoia, Francia) che è soggetto a impatti ambientali analoghi a quelli oggetto di questo studio.

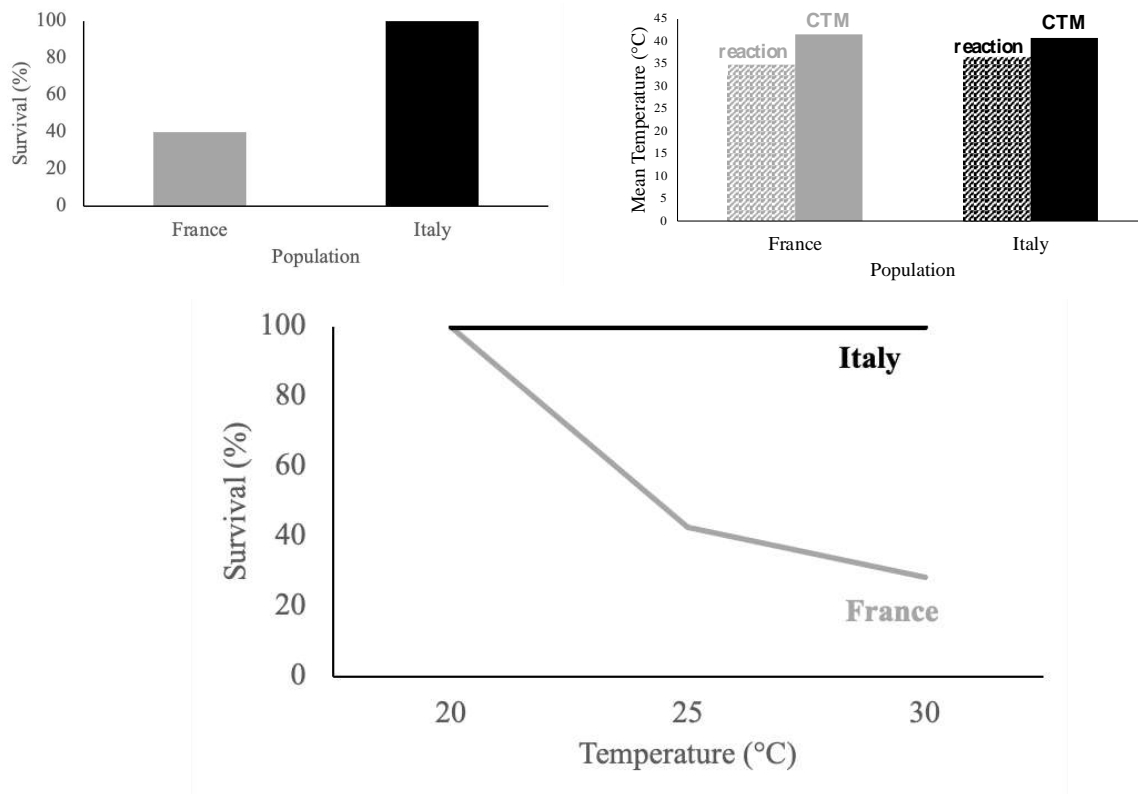


Fig. 37 - Confronto tra la percentuale di sopravvivenza e le soglie di reazione comportamentale all'incremento acuto di temperatura (sopra) e tra le percentuali di sopravvivenza all'esposizione cronica (sotto) a temperature crescenti (20, 25 e 30°C) di *U. elongatulus* provenienti da popolazioni italiane (Lago Maggiore) e francesi (Lago di Bourget).

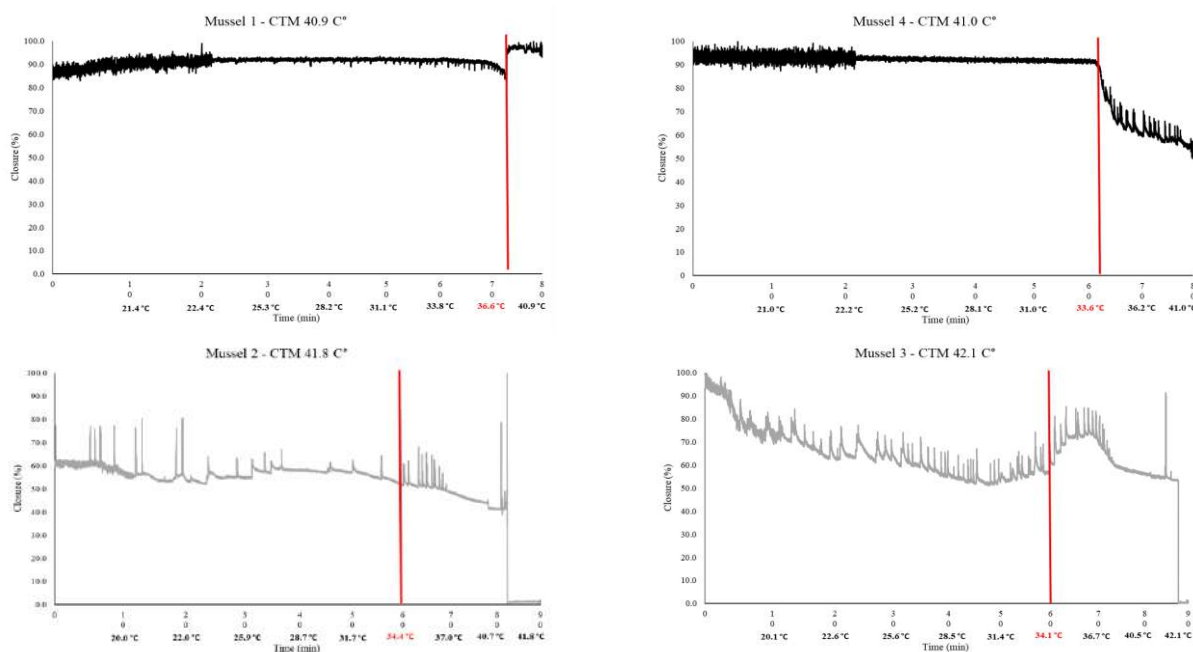


Fig. 38 - Esempi di risposte comportamentali: tracce valvometriche, con evidenziate le soglie di reazione comportamentale (linee verticali rosse) di *U. elongatulus* provenienti da popolazioni italiane (sopra) e francesi (sotto) all'incremento acuto di temperatura.



Gli esperimenti di esposizione ad incrementi di temperatura di $0.3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hanno permesso di misurare sia la percentuale di sopravvivenza che le reazioni comportamentali indicative del raggiungimento della soglia di stress (inizio del comportamento di transizione T) e di massima tolleranza (immobilizzazione e rilascio dei muscoli adduttori della conchiglia, Fig. 16). Il confronto tra la percentuale di sopravvivenza, la temperatura corrispondente alla soglia di stress e la massima temperatura tollerata (CTM) degli individui delle due popolazioni è illustrato nella Figura 37.

Risposte allo stress cronico

La percentuale di sopravvivenza durante gli esperimenti di esposizione a temperature crescenti è illustrata nella Figura 37. I risultati dell'esperimento di disidratazione sono ancora in fase di elaborazione.

La popolazione italiana sembra essere meno sensibile sia agli incrementi repentini di temperatura (Fig. 37) che all'esposizione cronica in condizioni di temperatura crescenti (20, 25 e 30°C) (Figg. 37 e 38). Le soglie di tolleranza (CTM) confermano questa differenza (Tab. 13).

Tab. 13 - Misure biometriche, temperature di risposta (CTM) e di massima tolleranza (FRT) di *U. elongatulus*.

Popolazione	Lungh (mm)	Largh (mm)	Alt (mm)	Peso vivo (g)	CTM ($^{\circ}\text{C}$)	FRT ($^{\circ}\text{C}$)
France	47.9	23.3	17.7	13.741	36.7	42.3
France	49.2	22.9	15.8	11.275	34.4	41.8
France	48.6	24.2	15.6	10.69	34.1	42.1
France	54.6	23.7	19.3	15.406	33.7	41.9
France	47.1	23.3	16.5	10.378	37.1	41.6
France	59	27	19	20.686	31.8	41
France	54	25	19	12.18	nessuna reazione	41.1
France	52	27	19	21.282	34.9	41.4
France	63	27	20	23.675	35.2	41.3
France	55	26	20	17.95	35.3	40.5
Italy	92.3	39.2	29.9	64.251	36.6	40.9
Italy	89.4	41.1	28.7	62.477	37	40.8
Italy	87.6	41.5	26.6	62.917	36.8	40.9
Italy	86.8	40	27.5	63.701	33.6	41
Italy	88.4	40	29.5	62.741	37.4	40.9
Italy	89.8	38.7	27.2	61.24	37.2	40.4
Italy	83.9	38.7	26.7	60.641	37.7	40.7
Italy	60	30.1	20.4	56.756	34.4	40.9
Italy	83.7	36.5	26.9	61.137	37.1	40.3
Italy	86.8	39.4	28.3	60.32	37.6	40.5

Conclusioni

- In tutte le stazioni, il popolamento è dominato da specie invasive, in particolare *Corbicula fluminea*, seguita da *Dreissena polymorpha*, mentre scarsi sono gli Unionidi, sia nativi (*Unio elongatulus* e *Anodonta* spp.) che invasivi (*Sinanodonta woodiana*). Le variazioni spazio-temporali non mostrano alcuna tendenza direttamente correlabile alla gestione dei livelli. E'



evidente una tendenza al declino di tutte le popolazioni che, per quanto riguarda le specie native, si colloca nel quadro di declino generale osservato in tutti gli ambienti italiani.

- Poiché le variazioni naturali o indotte del livello del lago influiscono sul regime termico degli strati d'acqua, possono influenzare sia la presenza di malattie parassitarie che la capacità riproduttiva dei bivalvi. Se da una parte le riduzioni del livello inducono mortalità massive di molluschi rimasti all'asciutto o esposti a temperature eccessivamente elevate, dall'altra l'innalzamento dei livelli può abbassare le temperature alle quali i bivalvi sono normalmente esposti. L'abbassamento delle temperature può limitare la riproduzione impedendo sia lo sviluppo delle cellule riproduttive che rallentando lo sviluppo delle larve. La specie invasiva *C. fluminea* è l'unica specie esente da parassiti, mentre la specie nativa *U. elongatulus* risulta pesantemente parassitata da Trematodi che causano la castrazione degli individui infetti riducendo in tal modo il potenziale riproduttivo della popolazione. Sembra che l'abbassamento delle temperature indotto dall'innalzamento del livello sia favorevole per la specie nativa in quanto sia la percentuale di femmine che la percentuale di individui non parassitati aumentano al decrescere della temperatura. Resta da verificare se questo permette un effettivo aumento della riproduzione oppure l'abbassamento delle temperature impedisce o rallenta la produzione di larve.
- I bivalvi nativi non mostrano reazioni comportamentali di disturbo alle variazioni di livello. Gli animali hanno manifestato una risposta comportamentale significativa di allarme solo al di sopra della soglia di movimento delle acque che induce il trasporto del sedimento. Per tale ragione, la risposta comportamentale (valvometrica) non risulta essere un indicatore efficace degli eventuali impatti delle variazioni di livello che, di per sé, nel lago non dovrebbero generare correnti o ondate così elevate da indurre trasporto solido.
- I bivalvi reagiscono solamente all'incremento delle temperature, mentre non mostrano alcuna risposta alle riduzioni di temperatura entro l'intervallo rappresentativo delle variazioni stagionali del Lago Maggiore. Poiché l'incremento del livello induce una riduzione delle temperature, soprattutto lungo i litorali, si ritiene che la risposta comportamentale non produca informazioni utili alla valutazione degli eventuali impatti della gestione. Tuttavia, la gestione artificiale dei livelli amplia notevolmente l'intervallo naturale delle fluttuazioni stagionali, producendo un impatto dovuto all'alternanza di inondazione ed essiccamento delle aree colonizzate dai bivalvi. In particolare, gli animali potrebbero spostarsi verso le zone inondate durante la fase di innalzamento e restarvi intrappolati durante la successiva fase di riduzione del livello. Questo comporterebbe l'esposizione degli animali ad un incremento rapido della temperatura e ad essiccamento durante la riduzione dei livelli in settembre. Per valutare i potenziali effetti di questo scenario, sono stati condotti esperimenti allo scopo di stabilire le soglie di tolleranza all'incremento acuto e cronico di temperatura e per verificare se gli animali sono in grado di attuare comportamenti di evitamento dell'essiccamento.



WP5. Valutazione degli effetti delle variazioni dei livelli sul sistema fiume attraverso nuovi indicatori

5.2 Analisi dello stato e trend della comunità di macroinvertebrati in funzione delle scelte gestionali

La verifica della presenza di *Microcondylaea bonellii*, iniziata con un sopralluogo nell'area della foce del Ticino (piana di Magadino) ed il prelievo di acqua per l'analisi del DNA ambientale, ha dato esito negativo. Un ulteriore sopralluogo e prelievo di acqua per e-DNA effettuato allo sbocco del Fiume Tresa (Luino) e all'uscita dello stesso fiume dal Lago di Lugano ha avuto esito negativo. La ricerca ed i prelievi nel Fiume Ticino emissario e nel reticolo idrografico limitrofo, a cominciare dai siti di segnalazione storica, sono stati completati nel mese di agosto con il supporto del gruppo dei volontari del Parco del Ticino, ai quali vanno i nostri ringraziamenti. Il periodo è stato scelto in corrispondenza della magra estiva del fiume che è più favorevole al campionamento e, soprattutto, alla esplorazione visuale del fondale che è particolarmente difficile per il rinvenimento di specie completamente fossorie come *Microcondylaea bonellii*. Il campionamento di acqua per l'analisi di e-DNA è stato effettuato da ditta esterna secondo il protocollo sviluppato da Prié (Prié *et al.*, 2020) (Fig. 39). La realizzazione del campionamento nel tratto fluviale che attraversa la città di Pavia è stata oggetto di interesse per la stampa locale (Fig. 40; <https://laprovinciapavese.gelocal.it/tempo-libero/2020/08/28/news/difendere-le-cozze-per-salvare-il-ticino-la-missione-possibile-di-una-studio-pavese-1.39242963>) e, quindi, ha fornito l'opportunità di divulgare le attività svolte nell'ambito di questo progetto.



Fig. 39 - Raccolta del campione per l'analisi del DNA ambientale.



Fig. 40 - Articolo uscito sulla stampa locale in occasione del campionamento nel Fiume Ticino.

L'esplorazione visiva è stata effettuata tramite *snorkeling* nelle aree fluviali con habitat idoneo, a cominciare dai siti nei quali la specie era segnalata in passato (Bodon *et al.*, 2005; mappa in Fig. 41; sito in Fig. 42). In numerosi siti sono state rilevate profonde modifiche dell'habitat, tali da giustificare l'estinzione locale delle eventuali popolazioni della specie. In nessuno dei siti esplorati sono stati rinvenuti esemplari vivi o conchiglie di *Microcondylaea*, mentre sono state rilevate abbondanti popolazioni di *Corbicula fluminea*. Rari esemplari di specie native, *Unio elongatulus*, sono stati rinvenuti solamente in alcuni siti, dimostrando come la gestione ambientale del Fiume Ticino abbia influenzato negativamente i popolamenti di questo gruppo faunistico che attualmente si aggiudica la prima posizione nella graduatoria basata sul rischio di estinzione (Ferreira-Rodríguez *et al.*, 2019). Il rinvenimento di numerosi esemplari di *Sinanodonta woodiana*, soprattutto nel tratto fluviale più a valle (Pavia e dintorni), testimonia invece un aumento delle popolazioni di questa specie invasiva rispetto al passato. Infatti, dal confronto con i dati di un precedente sopralluogo effettuato nella medesima area nel 2013, si può stimare sia una estensione delle aree colonizzate da questa specie che un aumento di densità locale delle popolazioni. Per una valutazione più precisa dell'attuale abbondanza e distribuzione delle specie native ed invasive nel Ticino emissario sarebbe raccomandabile un monitoraggio più esteso ed accurato lungo l'intera asta fluviale da effettuarsi secondo i protocolli di campionamento più idonei (Strayer & Smith, 2003; Cummings *et al.*, 2016) e con il supporto di metodologie innovative come droni subacquei (Karatayev *et al.*, 2018) e *sonars* (Powers *et al.*, 2015).

Un impatto negativo non trascurabile sui popolamenti a bivalvi, incluse le specie native, è sicuramente riconducibile al probabile dragaggio di aree del fiume per raccogliere bivalvi a scopo alimentare, attività che sta rapidamente crescendo anche all'interno del Parco del Ticino. Pertanto, successivamente all'identificazione delle aree ancora colonizzate da popolazioni native mediante ricerca mirata, sarebbe indicata la realizzazione di un monitoraggio periodico a cura delle guardie volontarie adeguatamente istruite sulle modalità di sorveglianza. A questo scopo il gruppo di ricerca



sui bivalvi d'acqua dolce si rende disponibile per tenere corsi preparatori al personale volontario del Parco e per discutere con i responsabili del settore faunistico possibili vie per prevenire e/o contrastare i prelievi di *Unio elongatulus* in ottemperanza alle normative disposte dalla Direttiva Habitat. La responsabile del gruppo Bivalvi d'Acqua dolce, membro della *Species Survival Commission Freshwater Molluscs* della IUCN, ha già segnalato al responsabile della Lista Rossa questo fattore di impatto e le conseguenze che sta generando all'interno del Parco del Ticino.

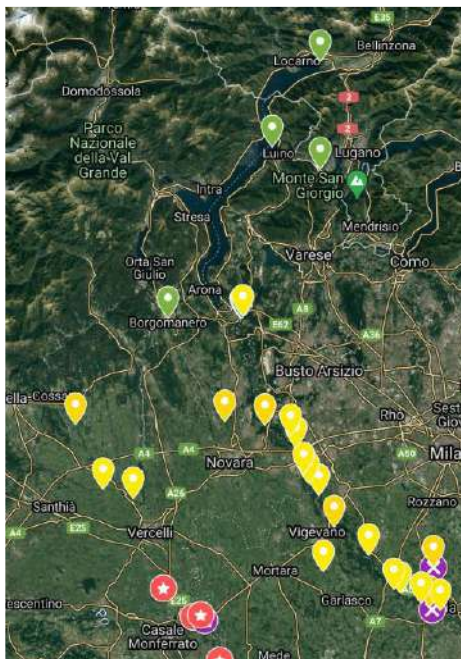


Fig. 41 - Mappa dei siti di campionamento esplorati nel 2019 (in verde) e nel 2020 (in giallo). In viola, siti di segnalazione storica, in rosso siti con popolazioni residue confermate da sopralluoghi effettuati nel 2019.



Fig. 42 - Ponte della ferrovia sul Fiume Ticino a Pavia dove era segnalata *Microcondylaea bonellii*.

I risultati delle analisi del DNA ambientale nei campioni prelevati nel 2020 per la verifica della presenza di popolazioni residue di *Microcondylaea bonellii* hanno dato un unico risultato positivo per il sito di segnalazione storica in prossimità del ponte della ferrovia a Pavia (Fig. 42).



Per verificare l'effettiva presenza e lo stato di conservazione della popolazione è stato organizzato un campionamento lungo l'asta fluviale durante lo scorso luglio 2021. Tenendo in considerazione la persistenza nel tempo e nello spazio del DNA ambientale (Prié *et al.*, 2020) è stata esplorata una zona fluviale fino a circa 1 km a monte del punto di prelievo. La portata del fiume, piuttosto elevata a causa di piogge nei giorni immediatamente precedenti il sopralluogo, non ha facilitato l'esplorazione che è stata condotta in immersione e con il supporto di personale e di mezzo nautico del Parco del Ticino lombardo (Fig. 43). Purtroppo, sia la forza della corrente che le condizioni di scarsa visibilità dovute ai temporali della notte precedente hanno ostacolato la localizzazione degli animali. Occorre precisare che, diversamente dalle altre specie di bivalvi nativi (*Unio* spp. e *Anodonta* spp.), *Microcondylaea bonellii* può occupare habitat con corrente anche elevata grazie alla sua capacità di affondarsi completamente anche in sedimenti piuttosto duri (Fig. 44). Infatti, sia la forma del guscio, molto compressa, che l'elevata dimensione del piede (Fig. 44), le consentono una forza di trazione all'interno del sedimento maggiore di quella esercitata dalle altre specie.



Fig. 43 - Ricerca di *Microcondylaea bonellii* nel Fiume Ticino nel luglio 2021.



Fig. 44 - Esempi di *Microcondylaea bonellii* affondati nel sedimento (a sin) e durante il movimento di affondamento con protrusione del piede (a dx).

La ricerca di eventuali popolazioni residue di questa specie, ormai al limite dell'estinzione (Riccardi *et al.*, 2022b, 2022c), è proseguita all'interno dei canali della Certosa di Pavia che, pur non rientrando nell'area protetta dal Parco del Ticino, fanno parte del suo bacino idrologico. Grazie



alla collaborazione della Prof. Luisa Erba (Università di Pavia) che ha stabilito il contatto con i monaci, è stato possibile accedere alla peschiera del monastero situata nell'area vietata al pubblico (Fig. 45). A causa della scarsa visibilità non è stato possibile effettuare la verifica visiva in immersione che viene rinviata alla prossima stagione fredda che dovrebbe garantire maggiore trasparenza delle acque della peschiera. Questa attività, oltre che essenziale per l'aggiornamento dello stato di *Microcondylaea bonellii*, ha offerto un'occasione di divulgazione del progetto in corso. Infatti, in seguito a questa attività sul Fiume Ticino, e grazie all'interesse della stampa locale, il Club Soroptimist di Pavia ha promosso un'attività di ricerca bibliografica e di costruzione di un sito web dedicato a *Microcondylaea bonellii* mediante un accordo con il liceo scientifico "Taramelli" di Pavia.

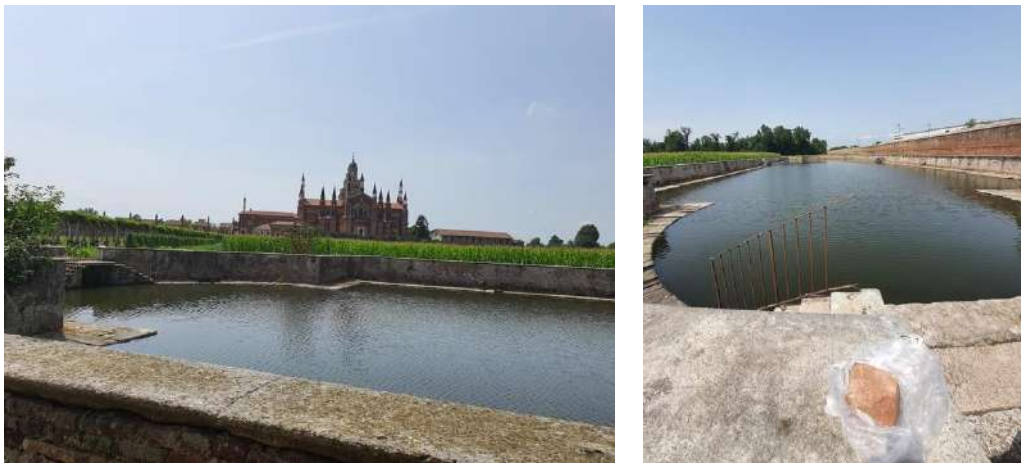


Fig. 45 - La peschiera del monastero della Certosa di Pavia.

La ricerca nel tratto del Fiume Ticino nel quale è stato rilevato il segnale positivo per il DNA ambientale è stata ripetuta nel 2022, ma purtroppo senza risultato. Questo potrebbe dipendere dalla particolare tendenza di *M. bonellii* di affondarsi completamente anche in substrati piuttosto duri (Fig. 44) che rende particolarmente difficile la sua localizzazione visiva. La necessità di effettuare la ricerca in immersione, e di attaccarsi ad un cavo di sicurezza per mantenere la posizione anche in corrente, rende ancora più difficile la ricerca. Il mancato rinvenimento di animali vivi non permette di valutare la consistenza e lo stato di conservazione della popolazione presente. Tuttavia, il dato di presenza è stato considerato valido per l'inserimento della popolazione nella nuova scheda di rischio di estinzione, elaborata e sottomessa per la pubblicazione nelle liste rosse IUCN. Poiché la specie risulta sopravvivere solamente in una decina di località molto distanti tra loro, la valutazione di rischio è stata modificata da VU (Vulnerabile) a CR (In pericolo critico) e sarà pubblicata a breve. Benché i molluschi non siano elencati nelle Liste Rosse del sito IUCN Italia (apparentemente non aggiornate), è importante ai fini di questo progetto considerare che, non solo *M. bonellii*, ma tutte le specie italiane di bivalvi d'acqua dolce (*Unio elongatulus*, *U. mancus*, *Anodonta anatina*, *A. cygnea* e *A. exulcerata*) saranno incluse in categorie di rischio molto elevato (EN e CR) nel prossimo aggiornamento delle Liste Rosse IUCN in via di pubblicazione. Poiché tutte queste specie (ad eccezione di *U. mancus*) sono presenti nell'area di interesse di questo progetto, è importante che vengano pianificate ed implementate azioni di conservazione per prevenire / contrastare il rischio di estinzione correlato ad una gestione dei livelli



non adeguata al mantenimento di habitat idonei alla sopravvivenza e automantenimento delle popolazioni. Queste azioni, da concordare a livello di bacino, che sono indispensabili per prevenire la perdita di importanti servizi ecosistemici (Zieritz *et al.*, 2022), andranno pianificate seguendo le linee emerse dalla più recente letteratura in materia (Sousa *et al.*, 2022; Aldridge *et al.*, 2022).

Bibliografia

- Aldridge D.C., Ollard I.S., Bernal Y.V., et al. 2022. Freshwater mussel conservation: A global horizon scan of emerging threats and opportunities. *Global Change Biology*, 00: 1-15.
- Badamasi Y.A. 2014. The working principle of an Arduino. 11th international conference on electronics, computer and computation (ICECCO), Abuja, 29 September - 1 October 2014: 1-4.
- Bodon M., Cianfanelli S., Manganelli G., Castagnolo L., Pezzoli E., Giusti F. 2005. Freshwater bivalves. In: Ruffo S., Stoch F. (eds), Checklist and distribution of the Italian fauna. *Memorie del Museo Civico di Storia Naturale di Verona, 2. Serie, Sezione Scienze della Vita*, 16: 83-84.
- Brian J.I., Aldridge D.C. 2021. A rapid, non-destructive method for sampling castrating parasites in endangered bivalve molluscs. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 31: 729-735.
- Coughlan N.E., Cunningham E.M., Cuthbert R.N., et al. 2021. Biometric conversion factors as a unifying platform for comparative assessment of invasive freshwater bivalves. *Journal of Applied Ecology*, 58:1945-1956.
- Cummings K.S., Jones H.A., Lopes-Lima M. 2016. Rapid bioassessment methods for freshwater molluscs. In: Larsen T.H. (ed.), *Core standardized methods for rapid biological field assessment Freshwater Molluscs*: 185-207 (Conservation International, Arlington, 2016).
- Ferreira-Rodríguez N., Akiyama Y.B., Aksenova O.V., et al. 2019. Research priorities for freshwater mussel conservation assessment. *Biological Conservation*, 231: 77-87.
- Hartmann J.T., Beggel S., Auerswald K., Stoeckle B.C., Geist J. 2016. Establishing mussel behavior as a biomarker in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 170: 279-288.
- Karatayev A.Y., Mehler K.M., Burlakova L.E., Hinchey E.K., Warren G.J. 2018. Benthic video image analysis facilitates monitoring of *Dreissena* populations across spatial scales. *Journal of Great Lakes Research*, 44: 629-638.
- MATLAB. 2010. version 7.10.0 (R2010a). The MathWorks Inc, Natick, Massachusetts.
- Powers J., Brewer S.K., Long J.M., Campbell T. 2015. Evaluating the use of side-scan sonar for detecting freshwater mussel beds in turbid river environments. *Hydrobiologia*, 743: 127-137.
- Prié V., Valentini A., Lopes-Lima M., et al. 2020. Environmental DNA metabarcoding for freshwater bivalves biodiversity assessment: methods and results for the Western Palearctic (European sub-region). *Hydrobiologia*, doi:10.1007/s10750-020-04260-8.
- R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Austria, Vienna. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org> (accessed August 2021).
- Ravera O., Frediani A., Riccardi N. 2007. Seasonal variations in population dynamics and biomass of two *Unio pictorum* *mancus* (Mollusca, Unionidae) populations from two lakes of different trophic state. *Journal of Limnology*, 66: 15-27.
- Riccardi N., Froufe E., Bogan A.E., Zieritz A., Teixeira A., Vanetti I., Varandas S., Zaccara S., Nagel K.-O., Lopes Lima M. 2020. Phylogeny of European Anodontini (Bivalvia: Unionidae) with a redescription of *Anodonta exulcerata*. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 189(3): 745-761.



- Riccardi N., Aksenova O., Bo T., et al. 2022a. Bad taxonomy and poor detectability has hindered Italian *Unio* conservation. the case of *Unio elongatulus* and *Unio mancus*: what is their real conservation status? *Tentacle*, 30: 25-27.
- Riccardi N., Bo T., Bogan A.E., Douda K., et al. 2022b. *Microcondylaea bonellii*, a Testimonial for Neglected Endangered Species. In: DellaSala D.A., Michael I. (eds), *Imperiled: The Encyclopedia of Conservation*, Elsevier: 436-446.
- Riccardi N., Bo T., Bogan AE, et al. 2022c. Chronicle of an announced extinction: *Microcondylaea bonellii*, the species not worth saving? *Tentacle*, 30 Suppl.: 1-3.
- Sousa R., Zając T., Halabowski D., et al. 2022. A roadmap for the conservation of freshwater mussels in Europe. *Conservation Biology*: e13994.
- Strayer D.L., Smith D.R. 2003. A guide to sampling freshwater mussel populations. *American Fisheries Society Monograph*, 8: 110 pp.
- Taskinen J., Urbańska M., Ercoli F., Andrzejewski W., Ożgo M., Deng B., Choo J.M., Riccardi N. 2020. Parasites in sympatric populations of native and invasive freshwater bivalves. *Hydrobiologia*, 848: 3167-3178.
- Venables W.N., Ripley B.D. 2002. Modern Applied Statistics With S, fourth ed. Springer, New York. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=MASS> (accessed August 2021).
- Wickham H., François R., Henry L., Müller K. 2020. Dplyr: A grammar of data manipulation. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr> (accessed August 2021).
- Wood S.N. 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society*, 73(1): 3-36.
- Wood S.N. 2017. Generalized Additive Models: An Introduction with R, second ed. Chapman and Hall/CRC. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=mgcv> (accessed August 2021).
- Zieritz A., Aldridge D.C., Douda K., Esteves E., et al. 2022. A global synthesis of ecosystem services provided and disrupted by freshwater bivalve molluscs. *Biological Reviews*, 97(5): 1967-1998.



Ringraziamenti

IL CNR-IRSA sede di Verbania vuole ringraziare il personale della Riserva naturale delle Bolle di Magadino e dell'Ente di Gestione delle Aree Protette del Ticino e del Lago Maggiore, nonché il gruppo volontari del Parco naturale lombardo della Valle del Ticino gestiti dalla Signora Spada, per la professionalità e la disponibilità. Il personale ha infatti aiutato, accompagnato e supportato i ricercatori nelle attività di campo dimostrando interesse per il progetto ed i campionamenti che si svolgevano nelle aree di loro pertinenza.

Per le sole attività sui molluschi bivalvi, si ringraziano: Łabęcka A. (Jagiellonian University, Krakow, Poland), Urbanska M. (Poznan University of Life Sciences), Fraccarollo L., Piccolroaz S., Tosato L., Pilbala A., Sartori F. (Univ. Di Trento) per la collaborazione; il Dip. di Ingegneria Civile Ambientale e Meccanica dell'Università di Trento per l'accesso gratuito ai laboratori e alla strumentazione; Erba L. (Univ. di Pavia), il Soroptimist Club di Pavia e Camerini G. (Liceo Scientifico Taramelli) per il supporto locale e la divulgazione delle attività relative alla ricerca di *Microcondylaea bonellii*; l'Associazione Subacquea Settegradidivers (Romano Rampazzo e Sheila Rinaldi).