Commissione internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere



PROGRAMMA 2019-2021 CAMPAGNA 2021 E RAPPORTO TRIENNALE

RICERCHE SULL'EVOLUZIONE DEL LAGO DI LUGANO ASPETTI LIMNOLOGICI

a cura di Fabio Lepori

Mendrisio, 2022

dati riportati nel presente volume possono essere utilizzati purché se ne citi la fonte come segue:	
DACD-SUPSI. 2022. Ricerche sull'evoluzione del Lago di Lugano. Aspetti limnologici. Programma triennale 2019-2021. Campagna 2021 e Rapporto triennale. Commissione internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere (Ed.); 93 pp.	

Sintesi

- 1. Vengono presentati i risultati raccolti nel 2021 nell'ambito delle ricerche limnologiche sul Lago di Lugano e una sintesi pluriennale. Le ricerche sono state realizzate dal DACD-SUPSI su mandato dell'Amministrazione pubblica del Cantone Ticino.
- 2. Il 2021 è stato un anno avaro di precipitazioni e più caldo della norma, seppur non anomalo come il biennio precedente.
- 3. La qualità chimica dei corsi d'acqua monitorati è variata tra elevata (Magliasina) e cattiva (Livone, Bolletta, Laveggio). L'inquinamento più diffuso è stato l'arricchimento in macronutrienti (eutrofizzazione), seguito dall'inquinamento dovuto ai composti nocivi dell'azoto.
- 4. I carichi esterni di fosforo (bacino nord: 11.9 t, bacino sud: 20.1 t) sono stati tra i più bassi dall'inizio delle misure e conformi agli obiettivi di risanamento.
- 5. Le circolazioni invernali si sono svolte secondo modalità consuete in entrambi i bacini. Nel bacino nord, il mescolamento ha raggiunto i 58 m di profondità, nel bacino sud ha raggiunto il fondo.
- 6. Nonostante il buon mescolamento, il rifornimento epilimnetico di fosforo è stato ridotto. L'ossigenazione delle acque profonde è apparsa nuovamente critica. In entrambi i bacini, a profondità inferiori a 50 m, hanno prevalso condizioni di ipossia o anossia.
- 7. La composizione tassonomica del fitoplancton, in linea con quella di anni recenti, è stata dominata da cianobatteri filamentosi (principalmente *Planktothrix rubescens*), seguiti da diatomee coloniali (*Fragilaria* e *Aulacoseira*). Sono state nuovamente scarse le piccole diatomee centriche e le alghe verdi. Nel bacino sud, a fine estate, sono state osservate delle fioriture superficiali formate dal genere *Microcystis*, concentrate nell'area litorale.
- 8. La biomassa fitoplanctonica, rappresentata dalla concentrazione di clorofilla *a* nello strato produttivo (0-20 m), è diminuita, scendendo leggermente sotto la media dell'ultimo decennio. Ciononostante, la produzione primaria è risultata elevata.
- 9. Lo zooplancton a crostacei ha mostrato valori di biomassa vicini ai minimi delle serie storiche. Hanno dominato i copepodi, che hanno contribuito almeno i due terzi della biomassa media annuale in entrambe le stazioni. La modesta biomassa e l'elevata abbondanza relativa dei copepodi calanoidi (competitivi a basse concentrazioni di nutrienti) sono coerenti con la ridotta disponibilità di fosforo.
- 10. La sintesi pluriannuale illustra un'evoluzione a doppia velocità. Se da un lato i carichi di fosforo sono stati ridotti con successo, dall'altro i principali descrittori dello stato trofico ed ecologico del lago (produzione primaria, ossigenazione delle acque profonde) indicano ancora un'elevata produttività (eutrofia). Per ridurre significativamente la produttività del lago sarebbe necessario scendere al di sotto di valori soglia situati attorno a 20 mg P m⁻³ in termini di concentrazione e 0.54 g P m⁻² in termini di carico areale.
- 11. Le indagini sulla presenza di determinanti di resistenza agli antibiotici nel Lago di Lugano si sono concentrate su quattro geni che conferiscono resistenza alle principali classi di antibiotici utilizzati in ambito clinico e veterinario e sul gene *intI*, coinvolto nella trasmissione delle resistenze in ambiente acquatico. Il gene maggiormente diffuso è il gene *intI*, gli altri sono presenti in minor quantità. I batteri isolati dai campioni sono di origine ambientale (*Aeromonas* e *Acinetobacter*) e non presentano geni di resistenza, ma presentano il gene *intI*. I risultati indicano che il Lago di Lugano costituisce un serbatoio di geni di resistenza. I batteri ambientali presenti potrebbero favorire la trasmissione di tali geni.

Summary

- 1. This report presents the results of monitoring campaigns conducted in 2021 in Lake Lugano's catchment, concerning the ecological status and the presence of antibiotic-resistance genes. In addition, it presents the results of a long-term synthesis. Monitoring was performed by DACD-SUPSI on behalf of the Public Administration of Canton Ticino, Switzerland.
- 2. The year 2021 was poor of precipitation and slightly warmer than average, although not exceptionally hot (in contrast with the previous two years).
- 3. The water quality of the monitored streams ranged between very good (Magliasina) and poor (Livone, Bolletta, Laveggio). The most common type of pollution was nutrient enrichment (eutrophication), followed by pollution due to toxic nitrogen compounds.
- 4. The external loads of total phosphorus (northern basin: 11.9 t, southern basin: 20.1 t) were among the lowest measured since monitoring began (1984) and compliant with restoration objectives.
- 5. Mixing depths during turnovers were typical for the lake. In the meromictic northern basin, mixing reached a maximum depth of 58 m; in the holomictic southern basin, it reached the bottom.
- 6. Despite the typical mixing, epilimnetic replenishment of phosphorus during the turnovers was limited. In addition, the deep-water oxygen conditions remained critical. In both lake basins, hypoxic-to-anoxic conditions prevailed at depths greater than 50 m.
- 7. As common in the recent past, phytoplankton was dominated by filamentous cyanobacteria (mainly *Planktothrix rubescens*), followed by large colonial diatoms (*Fragilaria* and *Aulacoseira*). Small centric diatoms and green algae were scarce. In the southern basin, toward the end of the summer, the cyanobacterium *Microcystis* caused a bloom, mainly limited to the littoral area.
- 8. Phytoplankton biomass, as measured by chlorophyll *a*, was slightly below the last decade's average. Nonetheless, primary production was still high.
- 9. Crustacean-zooplankton biomass was close to long-term minimum values. The composition was dominated by copepods, which contributed at least two thirds of the average annual biomass. The low biomass, together with a relatively high abundance of calanoid copepods, is consistent with the low availability of phosphorus.
- 10. The long-term analysis of monitoring data indicates two-speed trends. On the one hand, phosphorus loads have declined steadily, in turn reducing in-lake phosphorus concentrations. On the other hand, the main indicators of the trophic and ecological status of the lake (primary production and deep-water oxygenation) continue to show values highly-productive (eutrophic) lakes. To reduce the productivity of the lake, it would be necessary to reduce phosphorus below threshold values of approximately 20 mg P m⁻³ (concentration) or 0.54 g P m⁻² (areal loading).
- 11. The investigations on the presence of antibiotic resistance determinants focused on four genes conferring resistance to the main classes of antibiotics used in clinical and veterinary settings (macrolides, tetracyclines, quinolones, and sulphonamides) and the intI gene, involved in the transmission of resistance in the aquatic environment. The the intI gene was the most widespread gene in all samples, whereas the other genes are present in smaller amounts. Environmental bacteria isolated from water samples (*Aeromonas* spp. and *Acinetobacter* spp.) had the intI gene, whereas they did not have the four antibiotic-resistance genes investigated. Our results suggest that Lake Lugano is a reservoir of resistance genes, and the environmental bacteria present may favour the transmission of these genes.

INDICE

Prefazio	one	1
	I. Ricerche sullo stato fisico, chimico e biologico del Lago di Lugano e delle sue acque tributarie e rie: Rapporto annuale e Rapporto triennale	2
Fabio Le	epori e Camilla Capelli	
Istituto	scienze della Terra, Scuola Universitaria Professionale della Svizzera Italiana, DACD Mendrisio	
1.	Ubicazione e caratteristiche delle stazioni di prelievo	2
2.	Inquadramento meteorologico	5
3.1. 3.2.	Stato chimico dei corsi d'acqua e carichi di nutrienti Stato chimico Carichi di nutrienti	8 8 10
4.1. 4.2. 4.3. 4.4.	Caratteristiche fisiche dell'ambiente pelagico Livello lacustre Trasparenza e luce Temperatura Profondità di mescolamento e stabilità	12 12 13 13
5.1. 5.2. 5.3.	Caratteristiche chimiche dell'ambiente pelagico Alcalinità e pH Ossigeno disciolto e sostanze ridotte Macronutrienti (fosforo, azoto e silicio)	18 18 18 19
6.1. 6.2. 6.3.	Indagini sul fitoplancton Biomassa e composizione tassonomica Pigmenti fotosintetici Produzione primaria	35 35 39 42
7. 7.1. 7.2.	Zooplancton a crostacei Biomassa e composizione tassonomica Struttura trofica	43 43 44
8.1. 8.2. 8.3. 8.4. 8.5.	Rapporto triennale (sintesi pluriennale) Corsi d'acqua: carichi di fosforo Lago: evoluzione dello stato fisico Chimica delle acque lacustri Evoluzione dei popolamenti fitoplanctonici Evoluzione dei popolamenti zooplanctonici	46 46 47 49 53
9. Cor	nclusioni	60
10. Bib	oliografia	62
Federica	II: Ricerca e monitoraggio di determinanti genici di antibiotico-resistenza nel Lago di Lugano a Mauri microbiologia, Scuola Universitaria Professionale della Svizzera Italiana, DACD Mendrisio	63
1. 1.1. Pt 1.2. Rt	Introduzione rogramma 2021 esistenza agli antibiotici – aspetti generali e ambiente acquatico unti di campionamento e prelievi Identificazione e quantificazione di determinanti genici di resistenza agli antibiotici	63 63 64 64

2.1.	Presenza/assenza di determinati genici di resistenza e del gene intl	66
2.2.	2.2. Abbondanza assoluta dei geni di resistenza e del gene intl	
2.3.	Abbondanza relativa dei geni di resistenza e del gene intl	67
3.	Indagini batteriologiche	69
3.1.	Conte batteriche totali	69
3.2.	Isolamento e identificazione di batteri resistenti agli antibiotici	69
4.	Confronto dei risultati delle analisi quantitative nel Lago (2016, 2019 e 2021)	72
4.1.	Quantificazione e tendenza annuale della quantità assoluta e relativa dei determinanti genici di resistenza	72
4.2.	Confronto indagini batteriologiche 2019 e 2021	74
5. Co	nclusioni	75
6. Bib	oliografia	77
RINGRA	AZIAMENTI	78
AUTOR	I E COLLABORATORI	79
APPEN	DICI	81

Prefazione

Questo rapporto riassume i risultati conseguiti nel 2021 nell'ambito delle ricerche sugli aspetti limnologici del Lago di Lugano. Le ricerche, promosse dalla Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere (CIPAIS), sono tese a determinare l'origine, la natura e l'importanza degli inquinamenti o qualsiasi altra forma di alterazione delle acque transfrontaliere.

Per il Lago di Lugano, la cui storia recente è stata segnata da un processo di eutrofizzazione (seconda metà del Novecento) e da un successivo piano di risanamento, i principali aspetti da sorvegliare comprendono i carichi di fosforo, l'ossigenazione e lo stato di trofia delle acque. A questi aspetti, trattati nell'ambito delle ricerche limnologiche sullo stato fisico, chimico e biologico del lago, è dedicata la prima parte del rapporto (rapporto annuale e sintesi pluriennale). Nel presentare queste ricerche sono state evidenziate anche le conseguenze dei cambiamenti climatici, sempre più importanti, e le fioriture di alghe potenzialmente nocive, che riappaiono periodicamente nel lago nonostante il programma di risanamento in atto. Da quest'anno, inoltre, il rapporto integra i risultati di un'altra linea d'indagine della Sezione 1 (Limnologia) della CIPAIS, riguardante la ricerca e il monitoraggio di determinanti genici di resistenza agli antibiotici. Con quest'aggiunta, a cui è dedicata la seconda parte del rapporto, ci si augura di offrire una panoramica più completa sulla diversità delle problematiche che gravano sul lago.

Nel corso delle indagini si è cercato di garantire continuità all'organizzazione dell'attività di campagna, alla produzione dei dati e all'elaborazione dei risultati. Tuttavia, nel 2021 la barca usata nelle campagne limnologiche (Cyclops) è rimasta ferma a partire da fine luglio a causa di un guasto e un'inchiesta sulle sue cause. Nonostante la campagna sia proseguita grazie al noleggio di altre barche, l'assenza di alcuni strumenti essenziali (arganelli elettrici) e i costi aggiuntivi hanno imposto diversi adattamenti procedurali. La misura più importante ha riguardato l'interruzione del monitoraggio presso la stazione di Melide, che ha anticipato do alcuni mesi la sospensione prevista per il 2022. Altri adattamenti sono discussi nei relativi capitoli.

PARTE I. Ricerche sullo stato fisico, chimico e biologico del Lago di Lugano e delle sue acque tributarie e emissarie: rapporto annuale e sintesi pluriannuale

Fabio Lepori e Camilla Capelli

Istituto scienze della Terra, Scuola Universitaria Professionale della Svizzera Italiana, DACD Mendrisio

1. Ubicazione e caratteristiche delle stazioni di prelievo

La campagna di indagini ha coinvolto principalmente le seguenti 12 stazioni di rilevamento:

- tre stazioni ubicate nella zona pelagica del lago (Gandria, Melide e Figino; Figura 1.1; Tabella 1.2);
- otto stazioni ubicate sui maggiori tributari del lago, in chiusura di bacino (Figura 1.2; Tabella 1.3);
- una stazione ubicata nei pressi dell'incile del lago, nel primo tratto dell'emissario (fiume Tresa; Figura 1.2; Tabella 1.3).

Le tre stazioni di prelievo lacustri sono state scelte agli inizi del programma di ricerche (primi anni '80) in modo da rappresentare i due principali bacini del lago, nord e sud, che si distinguono per caratteristiche morfologiche, idrologiche e carico trofico (Tabella 1.1). La stazione di Gandria rappresenta il bacino nord, mentre le stazioni di Melide e Figino rappresentano il bacino sud. In queste stazioni sono state raccolte le informazioni inerenti la fisica, la chimica e il plancton dell'ambiente pelagico lacustre (Capitoli 4-7). Come indicato nella Prefazione, nel 2021 la stazione di Melide è stata monitorata solo fino al mese di luglio.

I tributari campionati includono i sei corsi d'acqua maggiori (Vedeggio, Cassarate, Cuccio, Magliasina, Laveggio e Livone) e due corsi d'acqua minori che però producono carichi di nutrienti elevati (Bolletta e Scairolo). In questi corsi d'acqua sono state raccolti i dati per la valutazione della qualità delle acque e dei carichi di nutrienti veicolati al lago (Capitolo 3).

I dati raccolti presso la stazione sull'emissario Tresa hanno permesso di calcolare i flussi di nutrienti in uscita dal lago, che serve per il calcolo dei relativi bilanci (Lepori 2019).

Inoltre, per l'elaborazione del rapporto si è attinto ai dati meteorologici di MeteoSvizzera e ai dati idrologici dell'Ufficio Federale dell'Ambiente (UFAm) e dell'Istituto scienze della Terra della SUPSI. L'ubicazione di queste stazioni è raffigurata nelle Figure 1.1 e 1.2.

Tabella 1.1. Caratteristiche geografiche e morfometriche del Lago di Lugano (suddiviso nei bacini nord, sud e di Ponte Tresa) e del suo bacino imbrifero.

Bacino		Nord	Sud	P. Tresa
Area bacino imbrifero	km²	269.7	290.3	5.6
Area bacino lacustre	km²	27.5	20.3	1.1
Area bacini a monte	km²	-	297.2	607.8
Area totale bacino imbrifero	km²	297.2	607.8	614.5
Volume bacino lacustre	km³	4.69	1.14	0.03
Deflusso annuo emissario	km³	0.38	0.77	0.78
Tempo teorico di ricambio	anni	12.3	1.4	0.04
Profondità media	M	171	55	33
Profondità massima	M	288	95	50

Tabella 1.2. Coordinate (longitudine e latitudine secondo il sistema di riferimento MN95) delle stazioni di campionamento in ambiente pelagico (accuratezza $\leq 2m$).

Stazione	Longitudine	Latitudine	
Gandria	2 722 532	1 096 697	
Melide	2 717 852	1 088 684	
Figino	2 712 809	1 090 718	

Tabella 1.3. Coordinate (longitudine e latitudine secondo il sistema di riferimento MN95) delle stazioni di campionamento sui maggiori tributari del lago e sull'emissario (Tresa), per bacino lacustre (nord e sud).

Bacino	Corso d'acqua	Località	Longitudine	Latitudine	Area bacino [km²]
Nord	Cassarate	Pregassona	2 718 010	1 097 380	73.9
Nord	Cuccio	Porlezza	2 731 000	1 099 100	53.8
Nord	Livone	Osteno	2 727 500	1 096 500	30.6
Sud	Bolletta	Porto Ceresio	2 713 075	1 084 900	19.5
Sud	Laveggio	Riva San Vitale	2 719 140	1 083 880	28.9
Sud	Magliasina	Magliaso	2 711 620	1 093 290	34.3
Sud	Scairolo	Figino	2 713810	1 089 920	9.7
Sud	Tresa	Ponte Tresa	2 709 580	1 092 145	614.5
Sud	Vedeggio	Bioggio	2 713 900	1 095 100	106.0

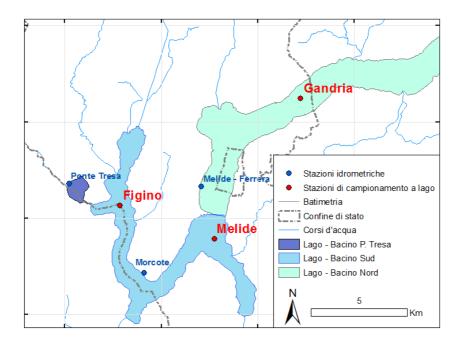


Figura 1.1. Lago di Lugano: batimetria e ubicazione delle stazioni di prelievo in ambiente pelagico (Gandria, Melide e Figino), delle stazioni idrometriche dell'Ufficio Federale dell'Ambiente (Melide-Ferrera e Ponte Tresa) e della rete cantonale gestita dall'Istituto scienze della Terra della SUPSI (Morcote).

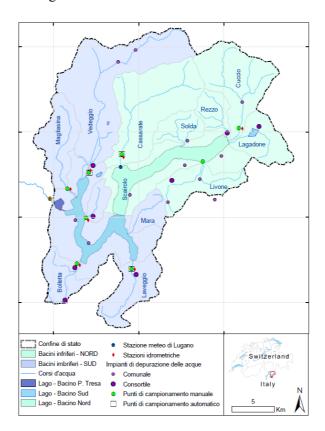


Figura 1.2. Lago di Lugano: ubicazione delle stazioni per la misura della portata dei punti di campionamento manuale e automatico e degli impianti di depurazione. Il depuratore del Cassarate è stato disattivato alla fine del mese di gennaio 2017.

2. Inquadramento meteorologico

Per l'inquadramento meteorologico si riportano informazioni su temperatura, soleggiamento e precipitazioni, che influenzano direttamente o indirettamente la maggior parte delle dinamiche lacustri. I dati provengono dall'Ufficio Federale di meteorologia e climatologia MeteoSvizzera.

Andamento stagionale. Con una temperatura nazionale media di 0.9 °C superiore alla media 1981-2010 (+1.1 °C a Lugano, Tabella 2.1), l'inverno meteorologico 2020-2021 (periodo che va da dicembre 2020 a febbraio 2021) è stato mite. Alla media sopra la norma ha contribuito soprattutto un mese di febbraio eccezionalmente caldo (+3.1 °C rispetto alla norma). Per il Sud delle Alpi, si è trattato del quarto febbraio più mite dall'inizio delle misurazioni nel 1864. Per quanto concerne gli altri parametri, l'inverno ha fatto registrare precipitazioni abbondanti e, pertanto, un soleggiamento ridotto. A Lugano il soleggiamento invernale è stato pari al 77% della media 1981-2010, un valore che pone l'inverno 2021-2022 al quarto posto tra quelli meno soleggiati dall'inizio delle misure.

Tabella 2.1. Lago di Lugano, 2021: temperatura, soleggiamento e precipitazioni a Lugano (stazione della rete di MeteoSvizzera) rispetto alla norma 1981-2010. I valori rappresentano le medie mensili (i valori mensili sono calcolati come media dei valori giornalieri per la temperatura o come somma dei valori giornalieri per soleggiamento e precipitazioni) all'interno delle stagioni indicate. Per dicembre 2021 è indicato solo il valore mensile. dev = deviazione. †escluso dicembre 2020, che è invece compreso nell' inverno 2020-2021.

<u>Temperatura</u>		<u>Soleggiamento</u>	<u>Precipitazioni</u>		
media [°C]	dev [°C]	media [h]	dev [%]	media [mm]	dev [%]
5.1	+1.1	284	77	343	173
11.8	+0.0	682	125	238	55
22.0	+0.9	746	104	537	113
13.5	+0.7	490	112	469	104
5.1	+0.8	133	123	20	25
13.2	+0.7	-	-	-	-
-	-	2296	111	1444	93
	media [°C] 5.1 11.8 22.0 13.5 5.1	media [°C] dev [°C] 5.1 +1.1 11.8 +0.0 22.0 +0.9 13.5 +0.7 5.1 +0.8	media [°C] dev [°C] media [h] 5.1 +1.1 284 11.8 +0.0 682 22.0 +0.9 746 13.5 +0.7 490 5.1 +0.8 133	media [°C] dev [°C] media [h] dev [%] 5.1 +1.1 284 77 11.8 +0.0 682 125 22.0 +0.9 746 104 13.5 +0.7 490 112 5.1 +0.8 133 123 13.2 +0.7 - -	media [°C] dev [°C] media [h] dev [%] media [mm] 5.1 +1.1 284 77 343 11.8 +0.0 682 125 238 22.0 +0.9 746 104 537 13.5 +0.7 490 112 469 5.1 +0.8 133 123 20 13.2 +0.7 - - - -

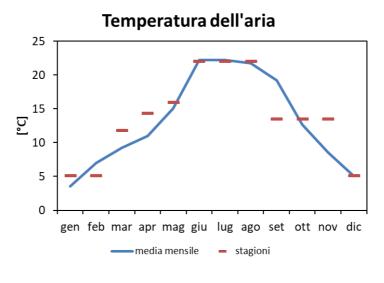
La primavera del 2021 è stata mediamente più fredda della norma a livello nazionale (-1.1°C rispetto alla media 1981-2010), ma nella norma a Lugano. Il freddo è arrivato soprattutto tra aprile e maggio, mentre in marzo le temperature sono state vicine alla norma. A Lugano, le precipitazioni sono state insolitamente scarse, raggiungendo poco più della metà della media 1981-2010.

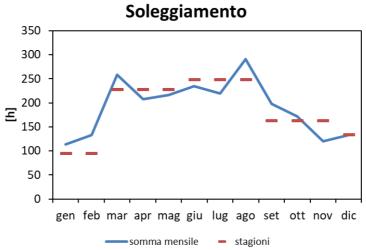
Le temperature dell'estate 2021 sono state essenzialmente nella norma a livello nazionale (+0.5 °C rispetto alla media 1981-2010) e leggermente sopra la norma a Lugano (+0.9 °C). Tuttavia, il mese di giugno 2021 è stato eccezionalmente caldo ovunque (il quarto giugno più caldo in Svizzera dall'inizio delle misure). A Sud delle Alpi, il numero di giorni tropicali è variato, secondo la località, tra 10 e 15 giorni, un intervallo essenzialmente in linea alla norma di 8-11 giorni tropicali all'anno. Insolitamente abbondanti, invece, sono state le precipitazioni a scala nazionale, anche se localmente a Lugano il totale delle precipitazioni non ha superato il 113% della media 1981-2010.

L'autunno è stata una stagione meteorologicamente ben collocata nella norma 1981-2010, in cui va evidenziato solo un soleggiamento leggermente superiore tra settembre e ottobre.

Il mese di dicembre 2021, che rappresenta la prima parte dell'inverno 2021-2022, è stato caratterizzato da un inizio nevoso, con precipitazioni estese fino alla pianura, seguito da un periodo secco e mite. In particolare, alla fine di dicembre, al Sud delle Alpi le temperature massime sono salite a sfiorare valori di ben 19 °C.

Bilancio dell'anno. A Lugano il 2021 ha mostrato temperature superiori alla norma in tutte le stagioni eccetto che in primavera, totalizzando uno scarto positivo medio di +0.7°C rispetto alla norma. Si è trattato quindi nuovamente di un anno caldo, ma non anomalo come il biennio precedente, in cui gli scarti avevano raggiunto +1.3°C. L'anno è stato complessivamente avaro di precipitazioni (quantitativi a Lugano pari al 93% della norma) e, quindi, ben soleggiato (durata del soleggiamento complessiva a Lugano pari al 111% della norma).





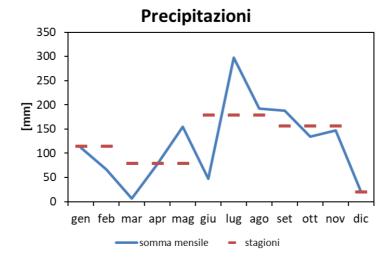


Figura 2.1. Lago di Lugano, 2021: temperatura, soleggiamento e precipitazioni a Lugano (stazione della rete di MeteoSvizzera). Sono rappresentati sia i valori mensili (temperatura: media del valore giornaliero, soleggiamento e precipitazioni: somma dei valori giornalieri) sia i valori medi stagionali (medie dei valori mensili, vedi Tabella 2.1).

3. Stato chimico dei corsi d'acqua e carichi di nutrienti

Questo capitolo tratta lo stato chimico delle acque dei principali tributari e dell'emissario del lago e delle stime dei carichi esterni dei principali nutrienti (Ptot e Ntot) gravanti sul lago. Lo stato chimico è stato valutato mediante il metodo proposto dall'Ufficio Federale dell'Ambiente (Liechti 2010). Questo metodo assegna una classe di qualità a ciascuno di otto indicatori chimici (PO4, Ptot, NO3, Ntot, NH4, NO2, BOD5 e DOC) in base alla distribuzione delle concentrazioni osservate, usando il 90° percentile come riferimento. Tra questi indicatori, PO4, Ptot, NO3 e Ntot rappresentano i principali macronutrienti, NH4 e NO2 i composti azotati potenzialmente nocivi, e BOD5 e DOC l'inquinamento organico. Lo stato complessivo del corso d'acqua viene determinato dall'indicatore assegnato alla classe di qualità inferiore.

I carichi dei nutrienti P_{tot} e N_{tot} veicolati dai tributari e dall'emissario sono stati calcolati a partire da concentrazioni misurate da campioni istantanei mensili o campioni compositi raccolti mediante auto-campionatori e valori di portata giornalieri (dati UFAm e IST-SUPSI). I carichi totali sono stati stimati aggiungendo al contributo proveniente dai tributari maggiori gli apporti provenienti da: (i) i tributari minori non campionati, (ii) gli abitanti rivieraschi e gli scaricatori di piena al lago (ARSPL), (iii) le deposizioni atmosferiche sul bacino lacustre e, per il bacino sud, (iv) il canale che collega i due bacini a Melide. I metodi di stima sono descritti in dettaglio in Appendice II.

3.1. Stato chimico

La qualità chimica dei corsi d'acqua monitorati è variata tra elevata (Magliasina) e cattiva (Livone, Bolletta, Laveggio, Scairolo; almeno un indicatore assegnato a qualità cattiva; Tabella 3.1). Solo in quattro degli otto corsi d'acqua monitorati tutti gli indicatori sono risultati almeno sufficienti (Cassarate, Cuccio, Magliasina e Tresa). Tra le tipologie di inquinamento ha prevalso l'arricchimento in macronutrienti (eutrofizzazione), un problema riscontrato nella metà dei corsi d'acqua. Inoltre, in tre tributari del bacino sud (Bolletta, Scairolo e Laveggio) si è riscontrato inquinamento dovuto a composti azotati nocivi. Non è stata invece rilevata nessuna criticità per quanto attiene l'inquinamento organico. Come nel 2020, i corsi d'acqua più inquinati sono stati nuovamente il Rio Bolletta e il Laveggio (3 e 2 indicatori assegnati a qualità cattiva), a cui nel 2021 si è aggiunto il Livone (2 indicatori assegnati a qualità cattiva).

Tabella 3.1. Lago di Lugano, 2021: mediane e 90° percentile (in parentesi) di alcuni indicatori chimici di qualità delle acque misurati nei maggiori tributari e nell'emissario (n=12). La valutazione della qualità è stata applicata al 90° percentile. Per NH₄ e NO₂, la cui classificazione dipende da altri fattori (temperatura e cloruro, rispettivamente) viene inoltre riportato il 90° percentile dell'indice di qualità normalizzato (X_N).

Fasce di qualità: = cattiva, = scarsa, = sufficiente, = buona, = elevata

a) macronutrienti

	PO ₄	P _{tot}	NO ₃	N _{tot}
	[μg P L ⁻¹]	[μg P L ⁻¹]	[mg N L ⁻¹]	[mg N L ⁻¹]
Cassarate	7 (10)	8 (14)	0.95 (1.08)	1.18 (1.32)
Cuccio	28 (50)	34 (62)	0.64 (0.98)	0.99 (1.16)
Livone	73 (141)	86 (175)	2.17 (2.56)	2.51 (2.90)
	•	•	_	
Bolletta	79 (181)	141 (280)	2.45 (4.23)	3.56 (5.67)
Laveggio	16 (22)	35 (45)	6.86 (12.16)	8.79 (14.99)
Magliasina	4 (8)	11 (14)	1.17 (1.31)	1.31 (1.47)
Scairolo	3 (7)	18 (31)	5.01 (6.47)	7.14 (7.90)
Vedeggio	22 (44)	40 (73)	3.66 (5.04)	4.37 (5.85)
Tresa	2 (9)	13 (27)	0.96 (1.16)	1.32 (1.49)

b) composti azotati potenzialmente nocivi (NH₄, NO₂) e indicatori di carico organico (BOD₅, DOC)

	NH ₄	NO ₂	BOD₅	DOC
	[mg N L ⁻¹]	[mg N L ⁻¹]	[mg O ₂ L ⁻¹]	[mg C L ⁻¹]
Cassarate	0.01 (0.01, 0.08 _N)	0.00 (0.01, 0.58 _N)	1.1 (1.6)	0.7 (1.0)
Cuccio	0.02 (0.15, 0.55 _N)	0.01 (0.02, 0.80 _N)	1.3 (1.8)	0.7 (0.8)
Livone	0.01 (0.04, 0.22 _N)	0.01 (0.01, 0.33 _N)	1.2 (2.0)	1.2 (1.4)
	_	_	_	
Bolletta	0.18 (0.99, 4.78 _N)	0.03 (0.07, 0.94 _N)	3.4 (4.9)	1.5 (1.8)
Laveggio	0.02 (0.07, 0.40 _N)	0.01 (0.04, 0.39 _N)	1.4 (1.8)	1.4 (2.0)
Magliasina	0.01 (0.02, 0.11 _N)	0.00 (0.01, 0.39 _N)	0.6 (1.1)	0.7 (1.2)
Scairolo	0.03 (0.27, 2.44 _N)	0.02 (0.04, 0.40 _N)	1.3 (1.7)	1.4 (1.6)
Vedeggio	0.02 (0.46, 1.51 _N)	0.02 (0.04, 0.37 _N)	1.3 (1.9)	1.3 (1.6)
	_	_	_	_
Tresa	0.02 (0.05, 0.26 _N)	0.01 (0.02, 1.09 _N)	1.5 (2.1)	1.4 (1.6)

3.2. Carichi di nutrienti

Nel 2021, i carichi esterni di fosforo totale (P_{tot}) sono stati stimati a 11.9 t per il bacino nord e 20.1 t per il bacino sud, quelli di azoto totale (N_{tot}) a 416 t e 1212 t, rispettivamente (Tabella 3.2.1). Oltre la metà di questi quantitativi è stata veicolata dei tributari maggiori, mentre i contributi provenienti da altre fonti sono risultati relativamente modesti (Tabella 3.2.2). I carichi stimati sono tra i più bassi dall'inizio del programma di ricerche (1983), oltre che conformi ai carichi massimi tollerabili stimati per entrambi i bacini (bacino nord: 18 t, bacino sud: 22 t). In parte, i valori bassi vanno attribuiti alle precipitazioni leggermente inferiori alla norma (Capitolo 2). Tuttavia, l'analisi delle serie pluriannuali (Capitolo 8) indica che, al di là della variabilità contingente alle condizioni meteorologiche, i carichi di fosforo stanno effettivamente diminuendo nel tempo.

Tabella 3.2.1. Lago di Lugano, 2021: carichi di nutrienti dei maggiori tributari e dell'emissario calcolati in base a campioni istantanei (C.I.) e mediante campioni integrati (autocampionatori, A.C.). I valori tra parentesi sono gli intervalli di confidenza al 95%.

	<u>P_{tot}</u>	<u>P</u> tot	N_{tot}	<u>N_{tot}</u>
	C.I.	A.C.	C.I.	A.C.
	[t a ⁻¹]	[t a ⁻¹]	[t a ⁻¹]	[t a ⁻¹]
Cassarate	0.7 (0.4)	2.2	76 (13)	88
Cuccio	2.4 (0.7)		61 (8)	
Livone [†]	3.0 (0.8)		73 (10)	
Ponte-diga Melide [†]	3.2 (2.0)		177 (80)	
Bolletta	3.3 (1.2)		74 (20)	
Laveggio	1.7 (0.9)	3.0	250 (144)	226
Magliasina	0.3 (0.1)		39 (8)	
Scairolo	0.2 (0.1)		55 (10)	
Vedeggio	4.2 (1.1)	5.6	434 (83)	478
Tresa	11.6 (3.9)		818 (155)	

^{†:} valori di portata stimati

Nonostante l'elevata efficienza di rimozione del fosforo (96-98%, secondo le valutazioni dell'efficienza degli impianti del 2021; www.ti.ch/acqua) i depuratori situati su Vedeggio, Scairolo e Laveggio hanno contribuito una parte sostanziale (30-50%) del totale di fosforo veicolato dai rispettivi tributari (Tabella 3.2.3). Per l'azoto, vanno distinti l'impianto di Lugano-Bioggio, in cui la rimozione di azoto è relativamente efficace (51%) grazie alla fase di dentitrificazione, dagli impianti Mendrisio-Rancate e Pian Scairolo-Barbengo, ancora privi di questa fase (efficienza di rimozione dell'azoto: 24-44%). A causa di questa differenza il contributo dell'impianto di Bioggio al tratto terminale del Vedeggio (48%) è stato sostanzialmente inferiore a quello degli altri impianti (58-64%).

Tabella 3.2.2. Lago di Lugano, 2021: fonti dei carchi esterni di fosforo (in %).

	Bacino nord	Bacino sud
	%	%
Bacino nord	-	16
Tributari maggiori (campionati)	64	62
Tributari non campionati	9	4
Deposizioni atmosferiche	8	3
Abitanti non allacciati e scaricatori di piena	20	16

Tabella 3.2.3. Lago di Lugano, 2021: carichi di nutrienti provenienti dagli impianti di depurazione delle acque (L=Lugano-Bioggio; M=Mendrisio-Rancate; PS=Pian Scairolo-Barbengo). Le percentuali indicano il contributo al carico del ricettore (Tabella 3.2.1).

	Tributario ricettore	<u>P_{tot}</u>	<u>P_{tot}</u>	<u>N</u> tot	N_{tot}
		[t a ⁻¹]	%	[t a ⁻¹]	%
L	Vedeggio	2.6	46	231	48
М	Laveggio	0.9	30	132	58
PS	Scairolo	0.1	50	35	64

4. Caratteristiche fisiche dell'ambiente pelagico

L'analisi dei parametri fisici che caratterizzano l'ecosistema pelagico si è concentrata sulle variazioni di livello, trasparenza (profondità di Secchi) e temperatura durante l'intero ciclo annuale. In aggiunta, per approfondire le dinamiche termiche, sono state esaminate le variazioni della profondità di mescolamento e della stabilità della colonna d'acqua (metodi in Appendice II).

4.1. Livello lacustre

L'altezza media del livello lacustre registrata a Melide Ferrera è stata di 270.44 m s.l.m. (Figura 4.1). A causa di un picco elevato registrato a inizio agosto (5 agosto, 271.18 m), le escursioni di livello sono state maggiori al solito (intervallo: 270.10-271.18 m, escursione massima: 1.08 m). Le variazioni intra-annuali sono comunque contenute a causa della regolazione artificiale del deflusso del lago presso lo sbarramento di Ponte Tresa.

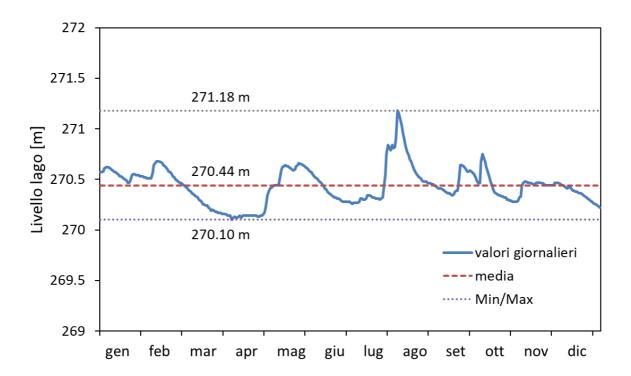


Figura 4.1. Lago di Lugano, 2021: livelli giornalieri misurati a Melide-Ferrera (dati UFAm).

4.2. Trasparenza e luce

La trasparenza media annuale, misurata dalla profondità di Secchi (Z_{SD}), ha mostrato valori caratteristici di laghi in stato di mesotrofia secondo la classificazione OECD (medie annuali: Gandria=6.0 m, Figino=5.0 m; Vollenweider 1982). Gli andamenti mensili (Figura 4.2), caratterizzati da forti diminuzioni di trasparenza in primavera (a causa dello sviluppo primaverile delle diatomee) e —soprattutto— in estate (a causa dello sviluppo di fitoplancton scarsamente edibile), sono anch'essi coerenti con uno stato di trofia media o elevata.

La luce (irradianza scalare in acqua) è stata misurata solo fino a luglio, a causa della successiva inagibilità della barca con i necessari arganelli con braccio orientabile. I coefficienti di estinzione (*non illustrati*) e la profondità della zona eufotica (Z_{EU} , profondità alla quale la luce è ridotta all' 1% del valore misurato in superficie, Figura 4.2) sono stati stimati a partire dalla profondità di Secchi. Per la stima di Z_{EU} si è usata la relazione empirica $*Z_{EU}=Z_{SD}\times2.5$ (* indica valori stimati). Evidentemente, considerata la derivazione matematica della stima, gli andamenti di $*Z_{EU}$ ricalcano quelli di Z_{SD} e i loro valori (intervallo: 4-24 m) sono anch'essi tipici di laghi mesotrofici.

4.3. Temperatura

La temperatura viene descritta dai valori medi nello strato produttivo (0-20 m, T₀₋₂₀) e, solo per il bacino Nord, dal valore medio nello strato profondo (100-285 m, T₁₀₀₋₂₈₅). Nello strato produttivo, la temperatura media annuale è stata pari a 12.1°C a Gandria e 11.5°C a Figino. Questi valori sono relativamente alti rispetto alle medie storiche, ma leggermente inferiori a quelli di anni eccezionalmente caldi quali, per esempio, il biennio precedente (2019 e 2020). Gli andamenti mensili (Figura 4.3) indicano delle temperature più calde della norma in gennaio-febbraio e nuovamente in giugno, e più fredde tra agosto e ottobre. Nel mese di agosto, in particolare, le acque superficiali sono risultate di diversi gradi più fredde del solito, probabilmente a cause del mese di luglio piovoso (che implica radiazione solare ridotta e avvezione di acque tributarie più fredde).

A Gandria, nello strato profondo la temperatura media annuale è stata pari a 6.0°C, come nel 2020. Come già evidenziato lo scorso anno, si tratta della temperatura delle acque profonde

più elevata registrata dall'inizio delle misurazioni. Nel 1981, per confronto, furono registrati valori di 5.1°C.

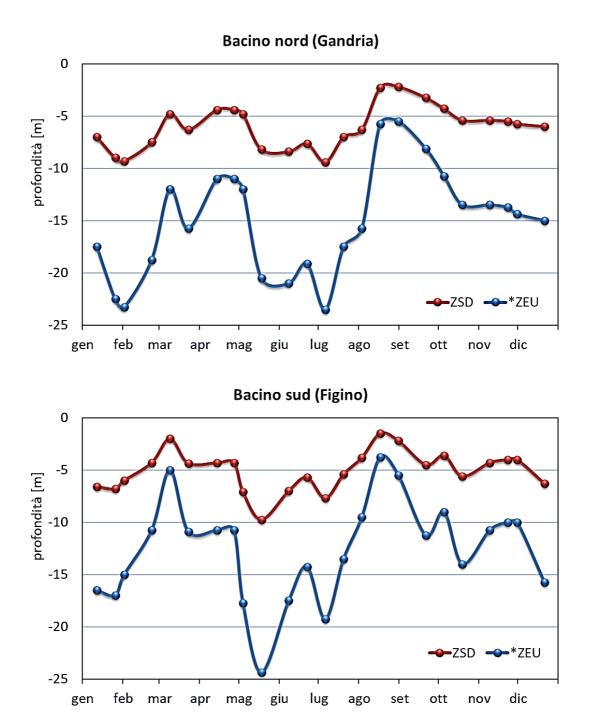


Figura 4.2. Lago di Lugano, 2021: andamento della profondità di Secchi, Z_{SD} (trasparenza), e della profondità della zona eufotica, $*Z_{EU}$ [m].

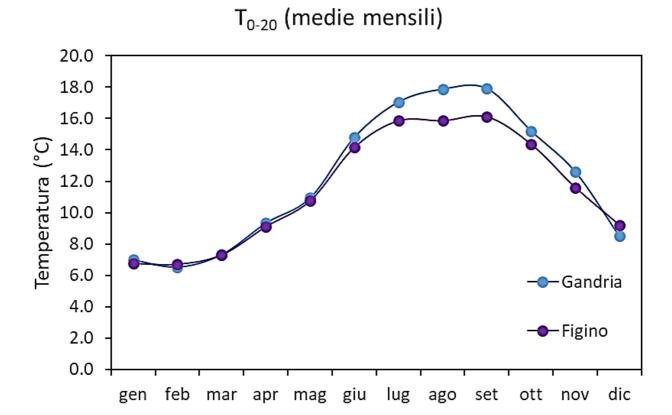


Figura 4.3. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della temperatura media nello strato produttivo (0-20 m, in °C). I valori rappresentati sono le medie mensili calcolate a partire da osservazioni quindicinali.

4.4. Profondità di mescolamento e stabilità

Nel 2021 le circolazioni dei due bacini sono state conformi alle tendenze storiche di mescolamento parziale nel bacino nord (meromissi) e completo nel bacino sud (olomissi; Figura 4.4). Infatti, nel bacino nord, il mescolamento ha raggiunto un valore massimo di 58 m (il 2 febbraio), che si scosta poco dalla profondità di mescolamento mediana (63 m, Capitolo 8). Nel bacino sud la circolazione ha mostrato dinamiche più complesse. La profondità massima registrata è stata pari a 67 m (il 3 febbraio). Tuttavia, tra fine gennaio e inizio febbraio la colonna d'acqua di questo bacino ha mostrato un'insolita situazione di instabilità fisica (numeri di Schmidt < 0 kg m⁻¹), dovuta a un'inversione di densità (presenza di acque più dense sopra acque meno dense) nei pressi del fondo. Dai dati chimici (Capitolo 5) risulta inoltre che tra febbraio e marzo le acque più profonde del bacino sud si sono parzialmente riossigenate, mentre l'andamento della stabilità indica che a fine febbraio

l'instabilità fisica della colonna d'acqua era scomparsa. Quindi, seppure non si sia mai osservata una colonna d'acqua completamente destratificata, si desume che tra febbraio e marzo il mescolamento abbia comunque raggiunto il fondo (94 m) a causa di movimenti d'acqua avvenuti in profondità, probabilmente mentre le acque superficiali si stavano ristratificando.

Dopo un periodo di instabilità compreso tra febbraio e metà aprile, il lago è entrato nella consueta fase di stratificazione stabile (fine aprile-fine agosto), in cui la profondità massima dello strato mescolato si è assestata attorno a 5 m nel bacino nord e 3 m nel bacino sud. A partire da settembre il mescolamento ha incominciato a spingersi nuovamente in profondità, raggiungendo 25-26 m a fine dicembre.

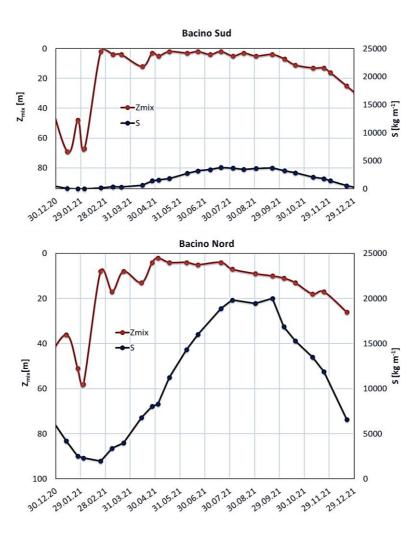


Figura 4.4. Lago di Lugano, 2021: andamento della profondità massima di mescolamento delle acque, Z_{mix} [m], e della stabilità colonna d'acqua, S [kg m⁻¹], alle stazioni di Figino (bacino sud) e Gandria (bacino nord).

L'andamento della stabilità meccanica della colonna d'acqua (Figura 4.4) mostra che nel bacino sud vi è stata una fase di instabilità tra fine gennaio e inizio febbraio, durante la quale il mescolamento ha probabilmente raggiunto il fondo. La stratificazione del bacino nord è invece rimasta stabile anche durante la circolazione (stabilità di Schmidt ≥ 1976 kg m⁻¹). Questi risultati indicano che, in questo bacino, la tendenza pluriennale alla destratificazione della colonna d'acqua (IST-SUPSI 2020) si è per ora interrotta.

L'aspetto saliente riguardo al regime di mescolamento del 2021 è che la circolazione è stata nella norma nonostante la mitezza dell'inverno precedente (Capitolo 3), un fattore che spesso determina circolazioni deboli e parziali. Assumendo che la circolazione sia determinata essenzialmente da movimenti convettivi (Schwefel et al. 2016, 2019), le circolazioni del 2021 si spiegano con il fatto che l'ipolimnio di entrambi i bacini aveva accumulato calore negli anni precedenti, raggiungendo temperature relativamente elevate (a dicembre 2020: 6.6°C sul fondo a Figino e 6.5°C a 50 m a Gandria). Quest'accumulo ha permesso una circolazione a delle temperature relativamente elevate, sopra i 6°C, che hanno quindi richiesto un raffreddamento invernale delle acque inferiore al solito.

5. Caratteristiche chimiche dell'ambiente pelagico

Le indagini sul chimismo dell'ambiente pelagico, come quelle concernenti gli aspetti fisici (Capitolo 4), si sono svolte presso le stazioni di Gandria, Melide e Figino. Tutti i parametri sono stati ricavati in laboratorio a partire da campioni d'acqua raccolti mensilmente a profondità discrete con bottiglie Niskin. Come indicato nella Prefazione, la campagna a lago è stata ridotta a partire da agosto. Le misurazioni nella stazione di Melide sono state interrotte, mentre nelle stazioni di Gandria e Figino sono state ridotte le misurazioni negli strati profondi. In particolare, nel mese di agosto sono stati prelevati campioni solo nei primi 20 m di profondità sia a Gandria che a Figino, mentre nei mesi di settembre e ottobre a Gandria non sono stati prelevati campioni al di sotto dei 100 m di profondità.

5.1. Alcalinità e pH

Nel 2021 l'alcalinità è stata caratterizzata, come di consueto, da una diminuzione negli strati superficiali nel periodo estivo-autunnale, per decalcificazione (precipitazione dei carbonati) indotta dall'attività fotosintetica e da un aumento proporzionale negli strati intermedi e profondi (Figura 5.1.1). A differenza del 2020, in cui si era assistito a un fenomeno di "whiting", nel 2021 la precipitazione dei carbonati è stata meno evidente. Questo processo è stato seguito dal rilascio di calcite ri-dissolta (in forma di bicarbonato) dai sedimenti in autunno. Lo stesso fenomeno si è verificato ad inizio anno a causa della decomposizione dei sedimenti anossici, in particolare nella stazione di Melide, dove una debole circolazione invernale ha determinato una scarsa ossigenazione delle acque profonde.

Il pH, ha mostrato il classico andamento opposto a quello dell'alcalinità (Figura 5.1.2), con un aumento nelle acque superficiali che ha anticipato di un paio di mesi la riduzione dell'alcalinità.

5.2. Ossigeno disciolto e potenziale redox

L'andamento mensile delle concentrazioni di ossigeno disciolto (Figura 5.2.1) indica una circolazione nella norma in entrambi i bacini (Capitolo 4). Tuttavia, nella stazione di Melide il rifornimento di ossigeno negli strati profondi è risultato scarso, probabilmente a causa di una circolazione debole in questo sottobacino (non misurata). Nel bacino nord, livelli di ipossia (concentrazione di ossigeno disciolto < 4 mg L⁻¹) sono stati misurati a profondità maggiori di ca. 50 m e quelli di anossia a profondità maggiori di ca. 100 m (a 100 m l'ossigeno è stato rilevato solo in tracce tra febbraio e marzo). Nella stazione di Figino la concentrazione di ossigenazione nelle acque profonde ha raggiunto 3.6 mg L⁻¹ (aprile). La circolazione delle acque ha colmato il deficit di ossigeno presente negli strati più profondi solo parzialmente e

il consumo di ossigeno nei processi di mineralizzazione ha portato al re-instaurarsi di condizioni anossiche tra agosto e settembre. Nella stazione di Melide il rifornimento di ossigeno negli strati profondi è stato scarso e transitorio (0.7 mg L⁻¹ in aprile) e condizioni di anossia si sono instaurate già a partire dal mese successivo.

Nelle acque profonde del bacino nord condizioni redox negative sono state riscontrate durante tutto l'anno, indicate dalla presenza costante di solfuro (accompagnato da ferro e manganese disciolti) e metano a profondità maggiori di *ca*. 100. Nel bacino sud, sono state rilevate sostanze ridotte durante i periodi di anossia precedenti la circolazione (gennaio) o seguenti la stratificazione estiva (da maggio a Melide e da giugno a Figino, Figure 5.2.2-5).

5.3. Macronutrienti (fosforo, azoto e silicio)

Le dinamiche delle concentrazioni di fosforo totale (P_{tot}) e di fosforo reattivo (PO_4 -P; Figure 5.3.1-2) hanno mostrato, come di consueto, nette differenze tra i due bacini del lago. Nel bacino nord, nonostante la circolazione tardo-invernale nella norma (Capitolo 4), il rifornimento epilimnetico di fosforo è stato modesto e la concentrazione media di P_{tot} nello strato produttivo (0-20 m) tra gennaio e marzo non ha superato i 13 μ g P L^{-1} . Questo valore si spiega con la riduzione dei carichi esterni (Capitolo 3). Anche nel bacino sud il rifornimento epilimnetico di fosforo è stato tutto sommato contenuto, anche se a Figino le concentrazioni nello strato produttivo a marzo sono risultate maggiori rispetto all'anno precedente (34 μ g P L^{-1}). Viceversa, nella stazione di Melide, presumibilmente a a causa di una circolazione più debole, queste concentrazioni sono diminuite rispetto all'anno precedente, non superando i 28 μ g P L^{-1} .

Il rifornimento tardo-invernale di fosforo reattivo è stato nella norma. Questo rifornimento è stato consumato velocemente durante lo sviluppo primaverile del fitoplancton (Capitolo 6). Nel bacino nord, le concentrazioni medie di PO_4 -P nello strato produttivo alla circolazione non hanno superato i 3 μ g P L⁻¹ (media annuale 2 μ g P L⁻¹). Nel bacino sud, il rifornimento di fosforo reattivo è stato maggiore (9 μ g P L⁻¹ a Figino e 14 μ g P L⁻¹ a Melide), ma è diminuito velocemente già da marzo.

In linea con gli anni precedenti, la concentrazione dell'azoto totale (N_{tot}) ha mostrato differenze tra il bacino nord, più povero (media annua nello strato produttivo 0.6 mg N L⁻¹), e il bacino sud (media annua nello strato produttivo 1.3 mg N L⁻¹), fortemente arricchito dal maggiore carico esterno (Figura 5.3.3, Capitolo 3). Nel bacino nord, inoltre, l'azoto è apparso particolarmente scarso nell'area attorno ai 100 m di profondità, dove con il passaggio all'anossia predominano i processi di denitrificazione (Figure 5.3.3-6). Come di consueto, durante il periodo primaverile-estivo, si è osservata una riduzione dell'azoto nitrico nello

strato produttivo per assimilazione da parte del fitoplancton (Figura 5.3.5), mentre in autunno, sono aumentati sul fondo i prodotti della mineralizzazione dei sedimenti organici, tra cui l'ammonio, favoriti dalla scarsa ossigenazione degli strati profondi (Figura 5.3.6).

Il rifornimento di silice epilimnetico tardo-invernale è stato conforme alla media a Gandria (massimo nello strato 0-20 m = 0.6 mg L⁻¹), e sensibilmente elevato nel bacino sud (massimo nello strato 0-20 m = 1.3 mg L⁻¹ a Figino). Specialmente nel bacino nord, lo sviluppo modesto delle diatomee nel periodo primaverile (Capitolo 6) ha permesso ai valori di silice di rimanere piuttosto elevati per la restante parte dell'anno (media annua nello strato produttivo 0.5 mg L⁻¹). Nel bacino sud, il forte sviluppo delle diatomee nei mesi primaverili ha dimezzato la silice già a partire dal mese di maggio (media annua nello strato produttivo 0.9 mg L⁻¹ a Figino e 0.7 mg L⁻¹ a Melide). Come di consueto, nel periodo autunnale è stato osservato un incremento di silice negli strati profondi a causa del rilascio dai sedimenti (Figura 5.3.7).

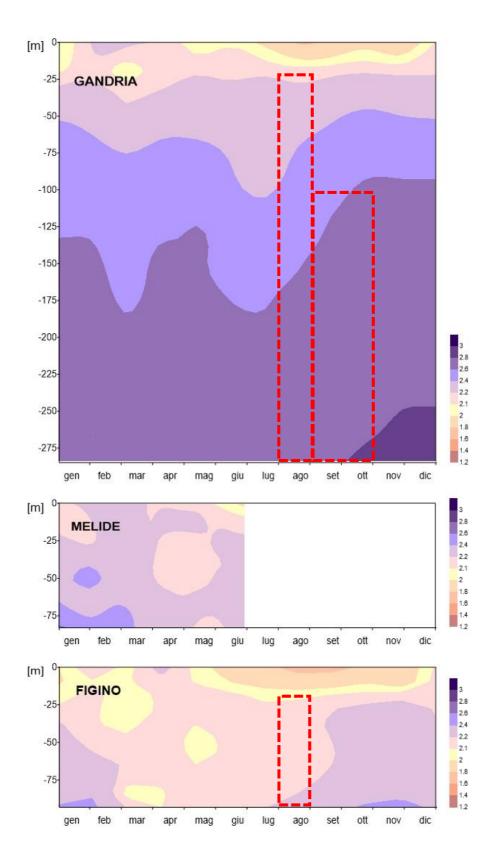


Figura 5.1.1. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile dell'alcalinità in profondità e nel tempo [meq L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

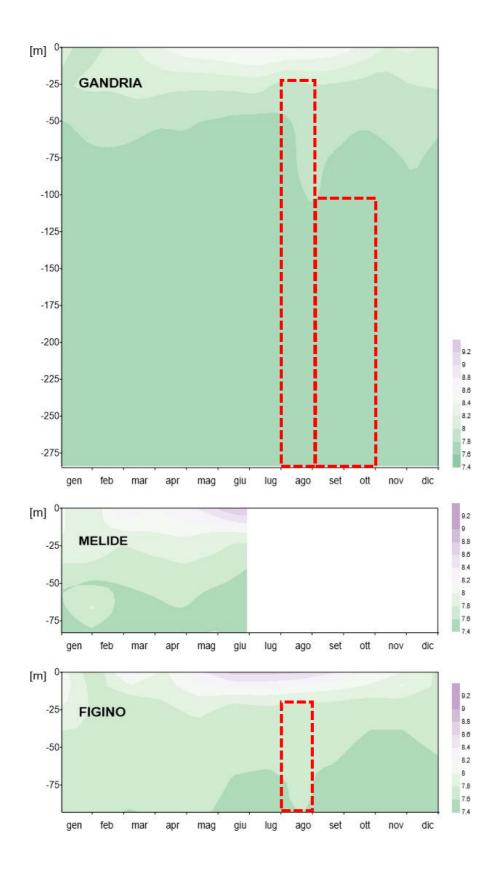


Figura 5.1.2. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile del pH in profondità e nel tempo [unità pH]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

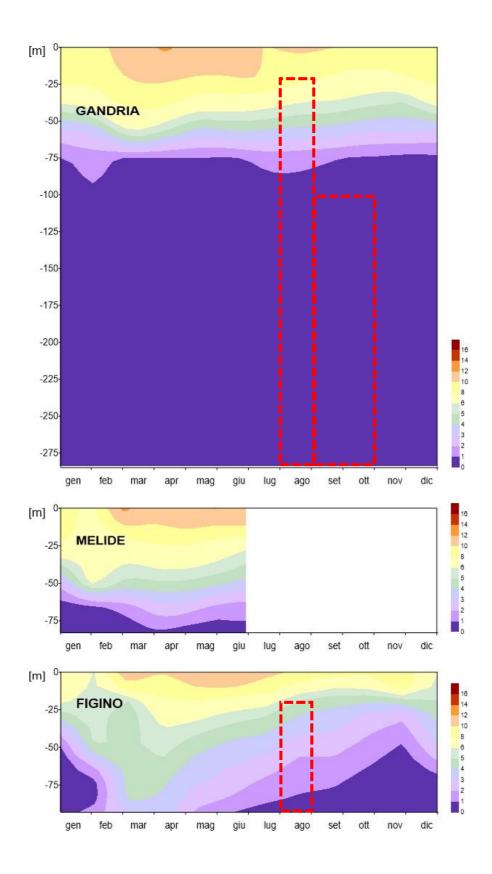


Figura 5.2.1. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile dell'ossigeno disciolto in profondità e nel tempo $[mg O_2 L^{-1}]$. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

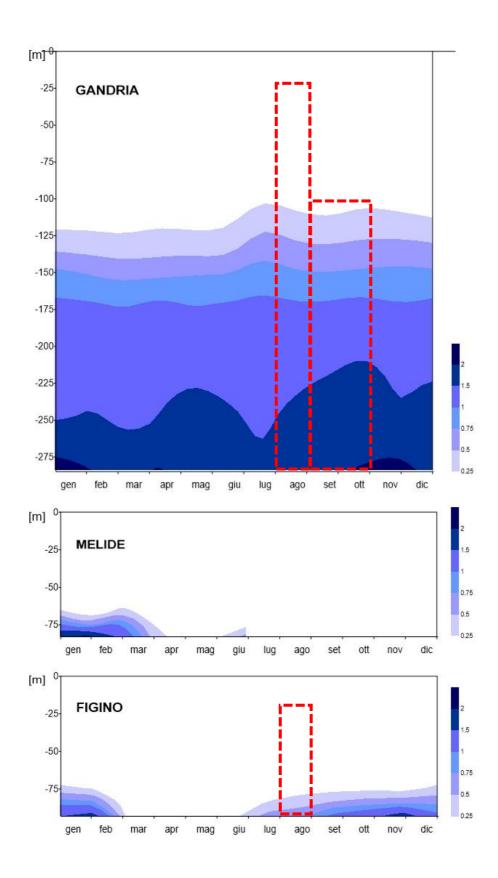


Figura 5.2.2. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile del metano in profondità e nel tempo [mg L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

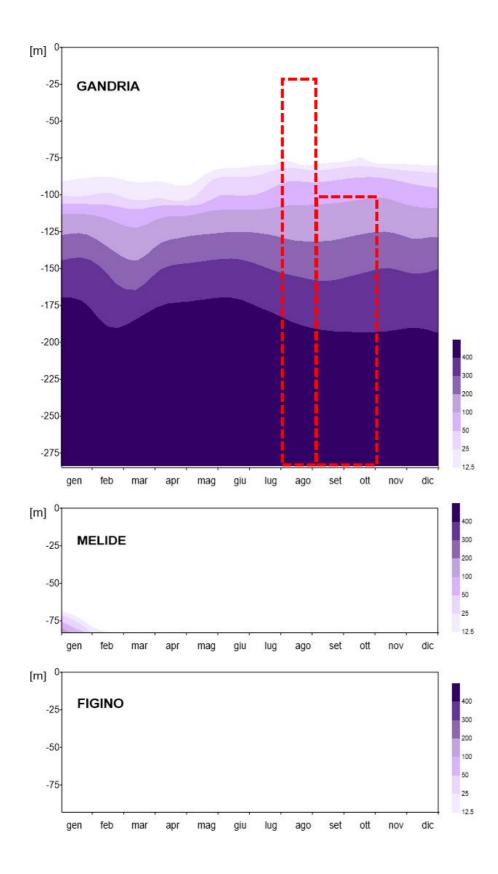


Figura 5.2.3. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione del solfuro in profondità e nel tempo [μ g L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

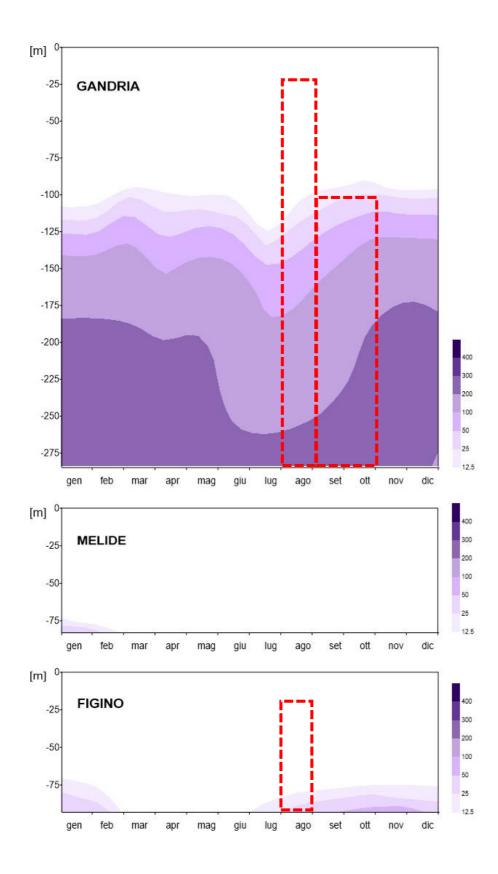


Figura 5.2.4. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione del ferro disciolto in profondità e nel tempo $[\mu g L^{-1}]$. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

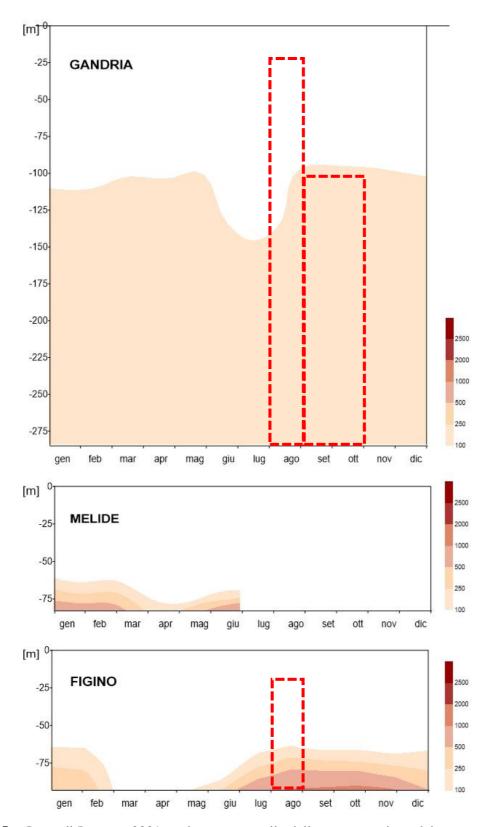


Figura 5.2.5. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione del manganese disciolto in profondità e nel tempo $[\mu g L^{-1}]$. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

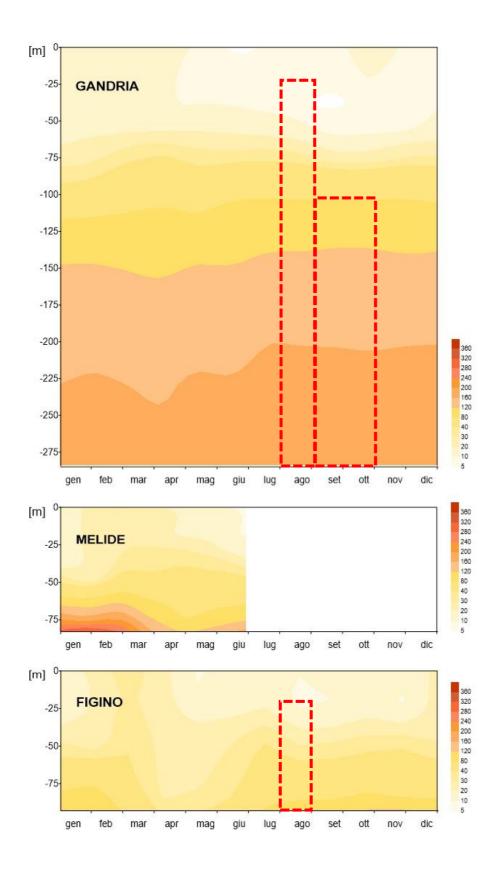


Figura 5.3.1. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione del fosforo totale in profondità e nel tempo [μg P L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

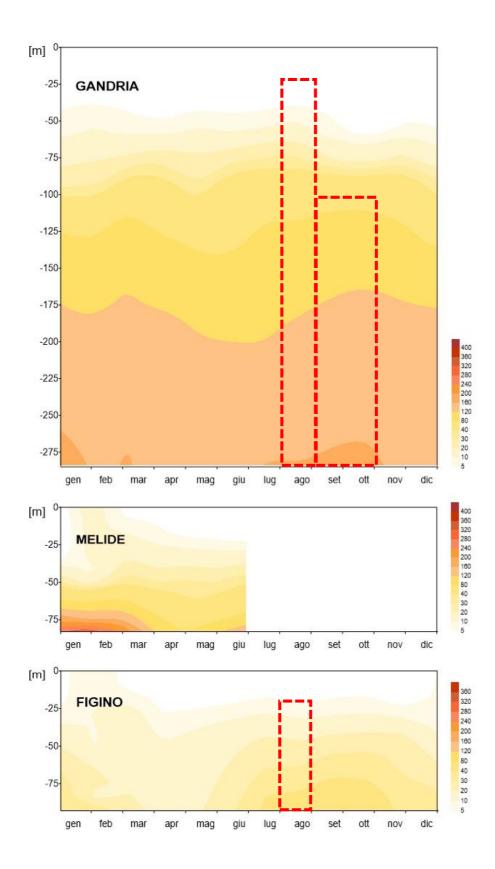


Figura 5.3.2. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione del fosforo reattivo in profondità e nel tempo [μ g P L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

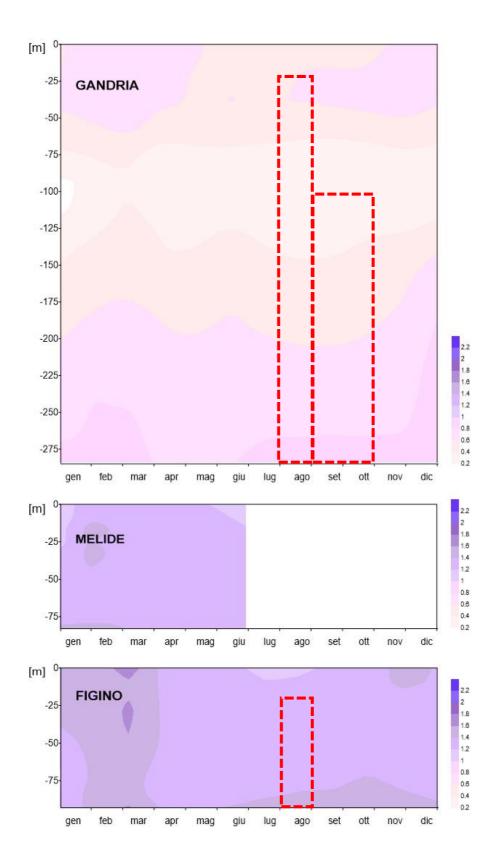


Figura 5.3.3. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione dell'azoto totale in profondità e nel tempo [mg N L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

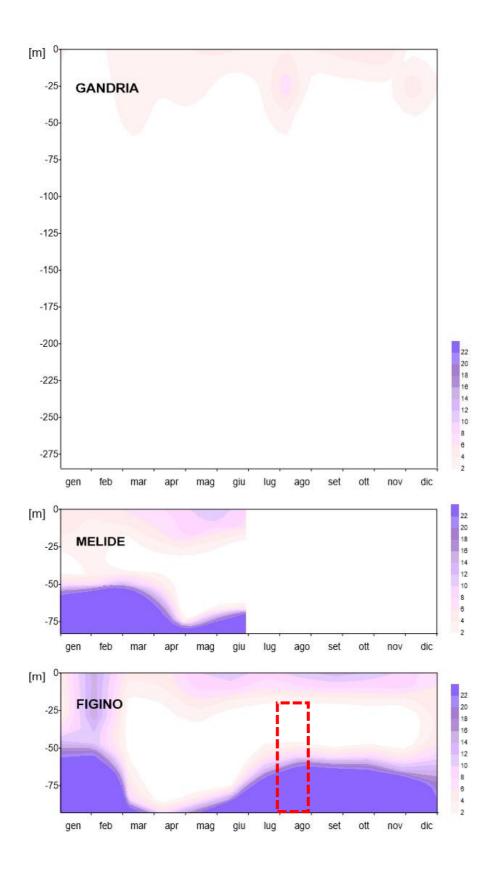


Figura 5.3.4. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione dell'azoto nitroso in profondità e nel tempo [μg N L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

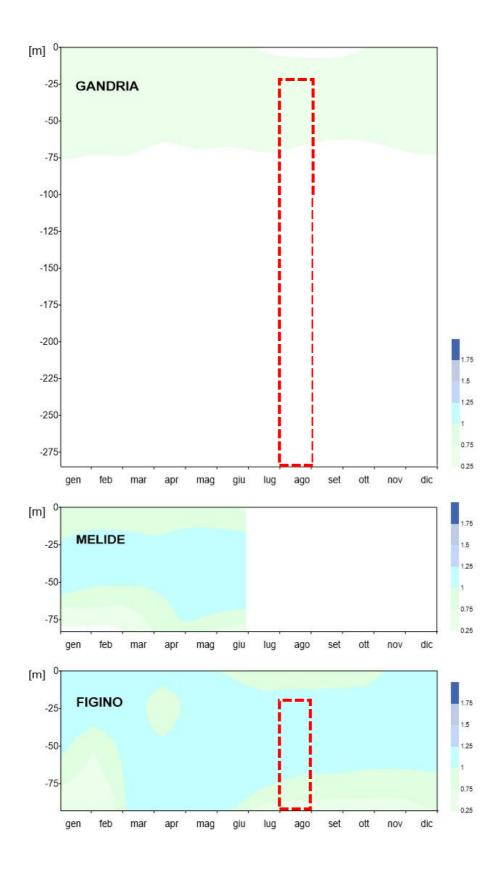


Figura 5.3.5. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione dell'azoto nitrico in profondità e nel tempo [mg N L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

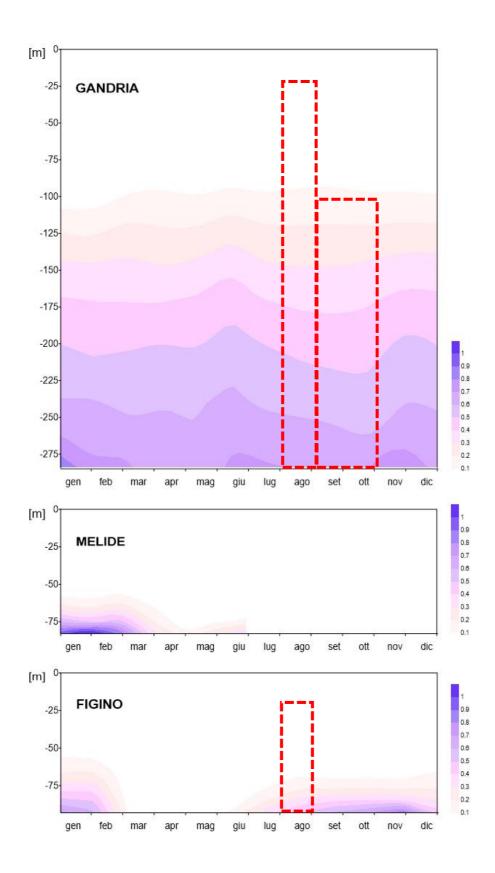


Figura 5.3.6. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione dell'azoto ammoniacale in profondità e nel tempo [mg N L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

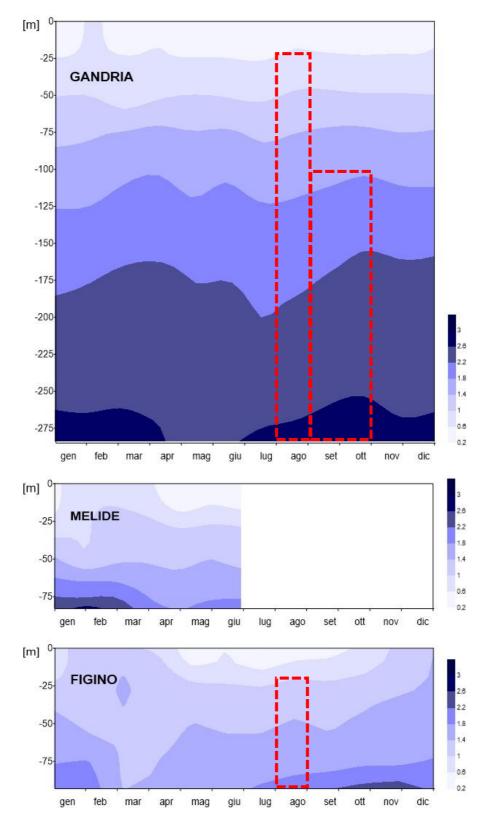


Figura 5.3.7. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della concentrazione della silice reattiva in profondità e nel tempo [mg SiO_2 L⁻¹]. I rettangoli tratteggiati indicano mesi in cui i valori sono stati interpolati per mancanza di misure.

6. Indagini sul fitoplancton

Nel corso del 2021 i campioni di fitoplancton e alcuni parametri complementari, tra cui i pigmenti fotosintetici e la produzione primaria, sono stati raccolti nelle tre stazioni principali del lago (Gandria, Melide, Figino) secondo le modalità previste dal programma triennale. A causa di problemi menzionati nella Prefazione, le misurazioni nella stazione di Melide sono state interrotte a partire da agosto. Inoltre, da agosto fino al termine del 2021 i coefficienti di estinzione della luce utilizzati per la stima della produzione primaria sono stati calcolati a partire dal valore di trasparenza ottenuto con il disco di Secchi (Capitolo 4).

6.1. Biomassa e composizione tassonomica

I campionamenti del fitoplancton sono stati eseguiti con frequenza mensile durante tutto l'anno, e quindicinale durante il periodo primaverile (da marzo a giugno), caratterizzato da una rapida successione dei popolamenti algali. Complessivamente nelle stazioni di Gandria e Figino sono stati raccolti e analizzati 16 campioni integrali sulla colonna d'acqua compresa tra 0 e 20 m, mentre nella stazione di Melide sono stati analizzati 11 campioni.

Come di consueto l'evoluzione stagionale del popolamento fitoplanctonico ha presentato differenze tra i due bacini, mentre complessivamente la biomassa media annua è risultata simile (Gandria 1.14 g m⁻³, Figino 1.16 g m⁻³) e di poco inferiore alla media dell'ultimo decennio.

La successione temporale dei diversi gruppi fitoplanctonici è risultata simile nelle stazioni di campionamento. Tuttavia, nel bacino nord il classico sviluppo primaverile delle diatomee ed estivo delle cloroficee è stato più debole rispetto al bacino sud, sostituito in parte dalle cianoficee. Di conseguenza, anche la classica fase di chiarificazione dopo lo sviluppo primaverile per esaurimento dei nutrienti algali negli strati superficiali è stata leggermente meno evidente nel bacino nord. La fase tardo autunnale è stata simile in entrambi i bacini, caratterizzata da un forte sviluppo delle cianoficee (Figura 6.1.1).

L'analisi dei principali gruppi tassonomici ha evidenziato nel 2021 un aumento significativo delle cianoficee nel bacino nord, in linea con il trend degli anni precedenti (Gandria 52%; Figura 6.1.2). La loro presenza è stata costante durante tutto l'anno, ed è culminata nel mese di dicembre (1.0 g m⁻³; Figura 6.1.1). Nel bacino sud, le cianoficee hanno avuto una breve fase di crescita ad inizio anno in continuità con il 2020, per poi ridursi drasticamente (Figura 6.1.1). Solo negli ultimi mesi dell'anno è stata evidente una fase di sviluppo, che ha raggiunto il picco in dicembre (Figino: 1.7 g m⁻³). Ciononostante, la biomassa annuale complessiva si è ridotta rispetto a quanto osservato nel 2020, riportandosi su valori in linea con la media

dell'ultimo decennio (Figino 25%; Figura 6.1.2). In entrambi i bacini *Planktothrix rubescens* è stata la specie dominante, accompagnata da altri generi filamentosi come *Pseudanabaena*, *Limnothrix* e *Lyngbya* (Tabella 6.1) Nonostante a fine estate siano state osservate delle fioriture superficiali nel bacino sud formate dal genere *Microcystis*, questi cianobatteri non hanno raggiunto densità rilevanti nella colonna d'acqua delle stazioni pelagiche, il che suggerisce che si sia trattato di fenomeni di crescita concentrati nell'area litorale.

Anche le diatomee hanno rappresentato una componente dominante, soprattutto nella stazione di Figino (Gandria 16%, Figino 26%; Figura 6.1.2), anche se in misura minore rispetto agli anni precedenti. Nel bacino nord il classico sviluppo primaverile è stato debole (0.6 g m⁻³ a marzo; Figura 7.1.1) e caratterizzato da specie coloniali di grandi dimensioni, come *Fragilaria crotonensis* e *Aulacoseira islandica* (Tabella 6.1). Il bacino sud ha avuto un andamento nella norma, con specie di piccole dimensioni, come *Stephanodiscus*, che hanno caratterizzato gli inizi del periodo vegetativo, seguite da specie coloniali di grandi dimensioni, come *Asterionella formosa* e *F. crotonensis*, che hanno raggiunto biomasse consistenti in aprile (1.4 g m⁻³; Figura 6.1.1; Tabella 6.1).

Le cloroficee sono diminuite rispetto all'anno precedente, con valori di biomassa tra i più bassi degli ultimi dieci anni (3%; Figura 6.1.2). Il fenomeno è stato più evidente nel bacino nord, dove durante il classico sviluppo estivo le biomasse sono state inferiori a 0.1 g m⁻³; Figura 7.1.1).

Le criptoficee sono state tra i gruppi più abbondanti in entrambi i bacini (Gandria 14%, Figino 20% Figura 6.1.2). Il loro andamento è stato pressoché costante, con un picco di biomassa raggiunto in aprile nella stazione di Melide per lo sviluppo di *Chrysochromulina* (Figura 6.1.1; Tabella 6.1).

Tabella 6.1. Lago di Lugano, 2021: sviluppo dei principali taxa fitoplanctonici nello strato 0-20 m (densità in 10^6 cellule L^{-1}) nelle stazioni di Gandria (bacino nord), Melide (bacino sud) e Figino (bacino sud).

	GANDRIA	MELIDE	FIGINO
gennaio	Pseudanabaena catenata (10.5)	Pseudanabaena limnetica (18.9)	Pseudanabaena limnetica (12.6)
	Limnothrix redekei (6.1)	Lyngbya sp. (4.0)	Lyngbya sp. (2.9)
	Lyngbya sp. (2.2)	Aulacoseira granulata (0.3)	Limnothrix redekei (2.9)
		Mougeotia sp. (0.2)	Aulacoseira granulata (0.2)
			Mougeotia sp. (0.2)
febbraio	Pseudanabaena catenata (5.1)	Pseudanabaena limnetica (6.2)	Pseudanabaena limnetica (7.9)
		Aulacoseira granulata (0.3)	
marzo	Pseudanabaena limnetica (11.9)	Stephanodiscus parvus/min. (16.2)	Pseudanabaena limnetica (17.5)
	Planktothrix rubescens (10.9)	Pseudanabaena catenata (12.8)	Stephanodiscus parvus/min. (14.2)
	Aulacoseira islandica (0.3)	Pseudanabaena limnetica (12.1)	Pseudanabaena catenata (4.7)
		Chrysochromulina sp. (3.3)	Chrysochromulina sp. (1.6)
		Asterionella Formosa (0.2)	Didymocystis sp. (0.2)
		Rhodomonas sp. (2.8)	Asterionella formosa (0.2)
			Diatoma tenuis. (0.1)
aprile	Planktothrix rubescens (16.7)	Fragilaria crotonensis (3.5)	Fragilaria crotonensis (5.1)
	Uroglena cfr. skujae (3.9)	Uroglena cfr. skujae (0.5)	Pseudanabaena limnetica (4.2)
	Lyngbya sp. (3.1)		
	Fragilaria crotonensis (0.9)		
maggio	Planktothrix rubescens (17.1)	Uroglena cfr. skujae (0.3)	Fragilaria crotonensis (1.7)
	Fragilaria crotonensis (0.7)	Fragilaria crotonensis (0.7)	
		Eutetramorus sp. (0.8)	
giugno	Planktothrix rubescens (12.4)	Chrysochromulina sp. (1.7)	Chrysochromulina sp. (2.7)
	Chrysochromulina sp. (1.9)	Fragilaria crotonensis (0.6)	Tribonema sp. (0.2)
luglio	Planktothrix rubescens (4.7)	Chrysochromulina sp. (4.6)	Fragilaria crotonensis (0.4)
	Cyclotella sp. (0.4)	Micractinium pusillum (0.3)	Mougeotia sp. (0.2)
	Kirchneriella irregularis (0.2)	Gemellicystis (0.1)	Dinobryon divergens (0.2)
agosto	Planktothrix rubescens (13.3)	Gernemeysus (6:1)	Dinobiyon divergens (0.2)
авозто	Eutetramorus sp. (0.8)		
settembre	Planktothrix rubescens (9.6)		Snowella lacustris (0.9)
settembre	Snowella lacustris (0.7)		Eutetramorus sp. (0.9)
	Coelastrum polychordum (0.5)		Cyclotella ocellata (0.7)
	Cyclotella ocellata (0.2)		Microcystis sp. (0.4)
	Cyclotena ocenata (0.2)		Coelastrum polychordum (0.3)
ottobre	Planktothrix rubescens (11.0)		Planktothrix rubescens (9.5)
novembre			
поченивге	Planktothrix rubescens (10.9)		Planktothrix rubescens (19.0)
	Aphanizomenon flos-aquae (3.4)		Aphanizomenon flos-aquae (5.6)
			Microcystis sp. (0.4)
dicembre	Planktothrix rubescens (17.8)		Planktothrix rubescens (33.4)
	Aphanizomenon flos-aquae (4.0)		Aphanizomenon flos-aquae (2.8)

Le crisoficee e le dinoficee sono aumentate nettamente rispetto agli anni precedenti (3-5% e 9-13% rispettivamente; Figura 6.1.2). Nel bacino nord l'abbondanza delle crisoficee è stata determinata principalmente dallo sviluppo di *Uroglena* nel mese di aprile (Figura 6.1.1; Tabella 7.1).

Tra i gruppi meno abbondanti nel lago, le coniugatoficee si sono mantenute su livelli modesti (1-4%; Figura 6.1.2), mentre le xantoficee sono risultate scarsamente presenti (< 0.5%; Figura 6.1.2).

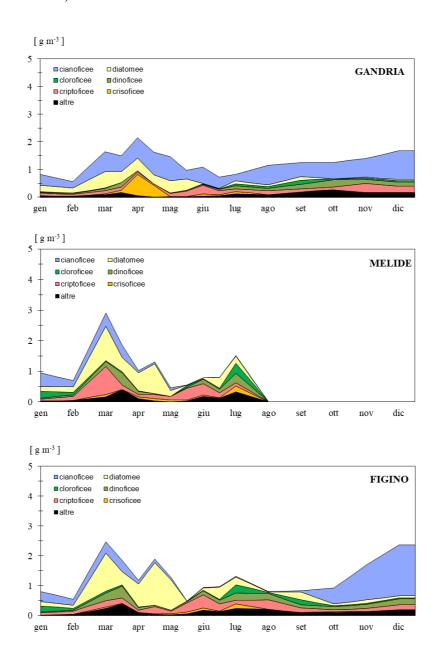


Figura 6.1.1. Lago di Lugano, 2021: andamento delle biomasse cumulate del fitoplancton (peso fresco) nello strato 0-20 m.

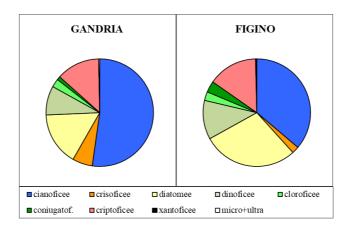


Figura 6.1.2. Lago di Lugano, 2021: composizione percentuale della biomassa media annua del fitoplancton.

6.2. Pigmenti fotosintetici

Nel programma di ricerche sono stati misurati i pigmenti fotosintetici del fitoplancton clorofilla *a*—presente in tutti gli organismi fotosintetici, usata come indice di biomassa totale del fitoplancton— e ficocianina— caratteristica dei cianobatteri e usata come indice della loro biomassa. Le misure sono state effettuate *in situ* (strato 0-20 m) con frequenza quindicinale, utilizzando un fluorimetro integrato a una sonda multiparametrica.

Le concentrazioni medie annue di clorofilla *a* nello strato produttivo (0-20 m) sono state pari a 6.6 mg m⁻³ a Gandria e 6.4 mg m⁻³ a Figino. Come osservato per la biomassa del fitoplancton, la clorofilla è diminuita rispetto al 2020 e ha mostrato valori leggermente inferiori rispetto alla media dell'ultimo decennio. In entrambi i bacini il massimo annuo è stato raggiunto tra marzo e aprile (Gandria 11.0 mg m⁻³, Figino: 17.0 mg m⁻³; Figura 6.2.1), e ha quindi coinciso con lo sviluppo primaverile delle diatomee. I valori estivi (giugnoagosto), spesso usati come un indice dello stato trofico, sono rimasti contenuti (Gandria 6.2 mg m⁻³, Figino 5.2 mg m⁻³), probabilmente grazie allo scarso sviluppo delle cloroficee, e si attestano su condizioni di mesotrofia.

La distribuzione spazio-temporale della clorofilla *a* (profili verticali ad elevata risoluzione: Figura 6.2.2) ha evidenziato in entrambi i bacini l'inizio della fase vegetativa (febbraio-marzo) caratterizzata dallo sviluppo delle diatomee, più evidente nel bacino sud. L'andamento della ficocianina (Figura 6.2.3), ha mostrato invece differenze tra i due bacini. Nel bacino nord sono stati osservati dei picchi di ficocianina a ridosso della zona eufotica (15-25 m) in estate, quasi certamente determinati da forti concentrazioni di cianobatteri metalimnetici. Nel bacino sud i valori di ficocianina sono aumentati verso la fine dell'anno, coerentemente con quanto osservato dai dati di biomassa dei cianobatteri (Figura 6.1.1).

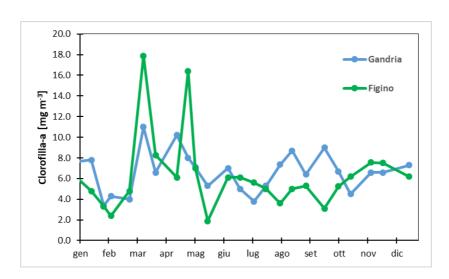


Figura 6.2.1. Lago di Lugano, 2021: andamento della clorofilla a [mg m $^{-3}$] nello strato 0-20 m nel corso dell'anno.

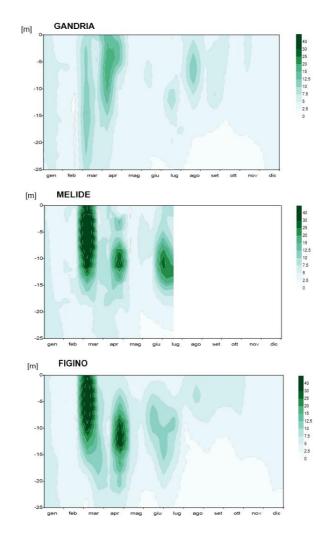


Figura 6.2.2. Lago di Lugano, 2021: andamento spazio-temporale della clorofilla a [mg m⁻³] nello strato 0-20 m nel corso dell'anno.

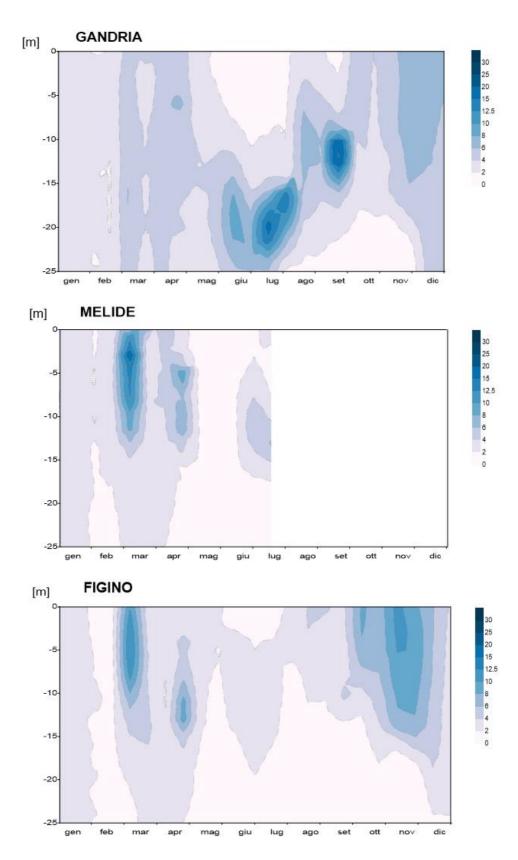


Figura 6.2.3. Lago di Lugano, 2021: andamento spazio-temporale della ficocianina [clorofilla a mg m⁻³] nello strato 0-20 m nel corso dell'anno.

6.3. Produzione primaria

La produzione primaria è una variabile particolarmente importante per il programma di ricerche perché definisce in modo diretto lo stato trofico di un lago. Inoltre, è una delle tre variabili per le quali è stato definito un obiettivo di risanamento quantitativo (≤ 150 g C m⁻² a⁻¹; Imboden, 1992).

Nel 2021, la produzione primaria annuale (cumulativa) per unità di superficie è stata 261 g C m⁻² a⁻¹ a Gandria e 352 g C m⁻² a⁻¹ a Figino. Espressi come medie giornaliere, questi valori equivalgono rispettivamente a 0.72 g C m⁻² g⁻¹ e 0.96 g C m⁻² g⁻¹.

La produzione primaria è risultata in linea con quanto osservato nel 2020, nonostante la riduzione complessiva della biomassa. L'andamento mensile della produzione primaria (Figura 6.3.1), ha messo in evidenza due principali picchi di produzione in entrambi i bacini, il primo in corrispondenza dello sviluppo primaverile delle diatomee e il secondo durante la crescita estiva del fitoplancton. Nel bacino sud la produzione è stata complessivamente maggiore, e il picco è stato raggiunto durante lo sviluppo delle diatomee nel mese di marzo (2.80 g C m⁻² g⁻¹). Nel bacino nord la produzione primaverile ed estiva hanno apportato un contributo simile (0.87 g C m⁻² g⁻¹ a marzo e 1.01 g C m⁻² g⁻¹ a luglio). I dati mostrano inoltre come lo sviluppo tardo autunnale dei cianobatteri osservato dai dati di biomassa (Figura 6.1.1.) abbia influito poco sulla produzione primaria (0.33 g C m⁻² g⁻¹ a dicembre nel bacino sud).

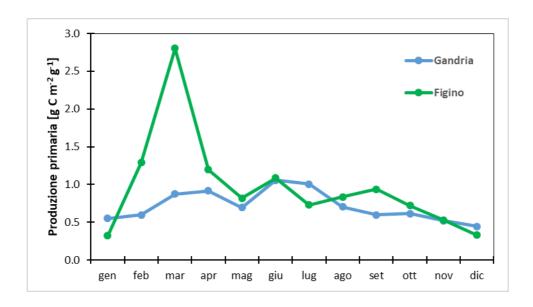


Figura 6.3.1. Lago di Lugano, 2021: valori giornalieri (media mensile) della produzione primaria per unità di superficie.

7. Zooplancton a crostacei

7.1. Biomassa e composizione tassonomica

Le biomasse medie annue dello zooplancton a crostacei sono state pari a 1.6 g PS m⁻² sia a Gandria che a Figino (Tabella 7.1). Nel contesto delle serie storiche a disposizione (1983-2021) si tratta di valori eccezionalmente bassi —il terzo valore più basso per Gandria e il minimo per Figino. I valori di biomassa del 2021 si iscrivono quindi bene nella tendenza alla diminuzione in atto da circa due decenni (Capitolo 8).

Tabella 7.1. Lago di Lugano, 2021: biomassa media annua dei raggruppamenti tassonomici dello zooplancton a crostacei (in g PS m⁻² e in percento rispetto al totale) nelle stazioni di Gandria (bacino nord) e Figino (bacino sud).

	Gai	ndria_	<u>Figino</u>		
	biomassa		biomassa		
	[g PS m ⁻²]	%	[g PS m ⁻²]	%	
Copepoda Cyclopoida	0.45	29	0.71	45	
Copepoda Calanoida	0.58	37	0.42	27	
Cladocera Daphniidae	0.35	22	0.33	21	
Cladocera Bosminidae	0.09	6	0.06	4	
Cladocera Sididae	0.05	3	0.00	0	
Cladocera Leptodoridae	0.01	1	0.01	0	
Cladocera Cercopagididae	0.03	2	0.05	3	
Totale	1.55		1.57		

In termini di composizione, lo zooplancton è stato dominato dai copepodi (Tabella 7.1), che hanno contribuito almeno i due terzi (66-72%) della biomassa media annuale in entrambe le stazioni. Entro questo raggruppamento, i ciclopoidi e i calanoidi hanno fornito contributi essenzialmente simili. Tra i cladoceri hanno nuovamente dominato le dafnie (rappresentate da *Daphnia longispina s.l.*), comunque poco abbondanti relativamente al passato. E' significativo che la biomassa di *Daphnia* sia stata mediamente più bassa di quella dei copepodi calanoidi, un gruppo tendenzialmente più competitivo in laghi poveri in nutrienti. Sono stati nuovamente scarsi i piccoli cladoceri filtratori (*Diaphanosoma brachyurum* e, soprattutto, *Bosmina* spp.) e i cladoceri predatori (*Leptodora kindtii* e *Bythotrephes longimanus*).

Gli andamenti mensili delle biomasse suddivise per raggruppamento tassonomico (Figura 7.1) sono stati caratteristici, segnati da valori relativamente costanti per i copepodi e variazioni maggiori per i cladoceri (capaci di accrescimenti demografici più veloci grazie alla riproduzione asessuata). Le variazioni dei cladoceri sono state determinate da due picchi di sviluppo di *Daphnia longispina s.l.* (primaverile ed estivo) e, in minor misura, da sviluppi transitori di cladoceri predatori (*Bythotrephes longimanus*) e piccoli cladoceri filtratori (*Bosmina* spp. e *Diaphanosoma brachyurum* a Gandria, principalmente *Bosmina* spp. a Figino).

7.2. Struttura trofica

In termini di struttura trofica (distribuzione della biomassa tra le diverse categorie trofiche), rispetto al 2020, in cui avevano predominato gli omnivori, il 2021 è stato caratterizzato da una ripresa degli erbivori, tornati ad essere dominanti a Gandria e co-dominanti a Figino (Tabella 7.2, Figura 7.1). Questa ripresa fa sottendere una maggiore disponibilità di fitoplancton edibile e una rete trofica più diversificata, fondata sia sul consumo diretto di produzione algale (da parte dello zooplancton erbivoro), sia sul circuito microbico e il consumo diretto di detrito (da parte dello zooplancton omnivoro). Come nel 2020, l'abbondanza dei carnivori è stata ridotta al minimo.

Tabella 7.2. Lago di Lugano, 2021: biomassa media annua dei gruppi trofici dello zooplancton a crostacei (in g PS m⁻² e % rispetto al totale).

	<u>Gandria</u>		<u>Figino</u>	
	Biomassa		Biomassa	
	[g PS m ⁻²]	%	[g PS m ⁻²]	%
Erbivori	0.65	42	0.56	36
Erbivori-Omnivori	0.50	32	0.36	23
Omnivori	0.36	23	0.59	38
Carnivori	0.04	3	0.06	4

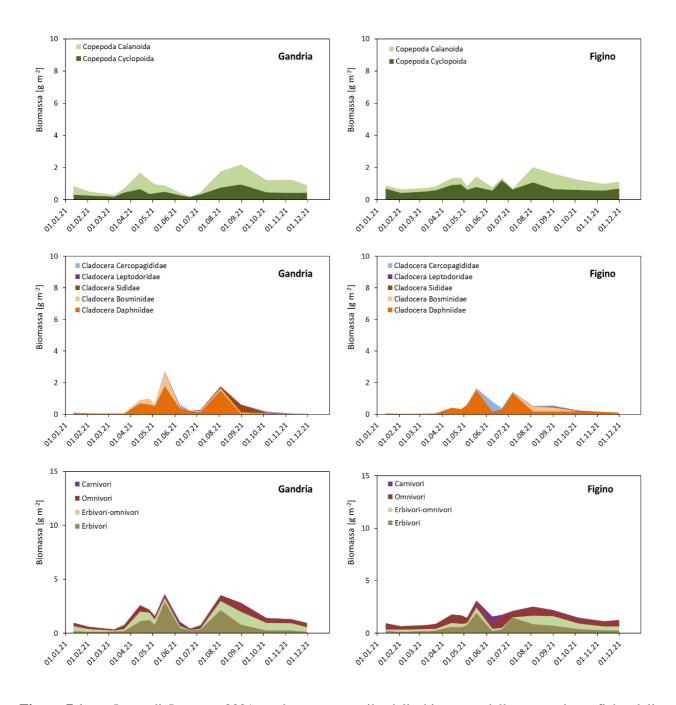


Figura 7.1. Lago di Lugano, 2021: andamento mensile della biomassa delle categorie trofiche dello zooplancton a crostacei pelagico [g PS m⁻²].

8. Sintesi pluriennale

I processi di risanamento trofico di un lago sono spesso lenti e possono essere frenati dallo sviluppo da fattori contrastanti, quali il rilascio di carichi interni di fosforo o i cambiamenti climatici. La valutazione dei risultati deve essere quindi svolta regolarmente, per verificare che non siano sorti ostacoli, e deve fondarsi sul lungo periodo. Il programma di ricerche sul Lago di Lugano promosso dalla CIPAIS, che prosegue ininterrottamente dall'inizio degli anni 1980, offre un'occasione privilegiata per compiere questa valutazione. Di seguito vengono esaminati alcuni indicatori principali dello stato delle acque per valutare a quale punto è giunto il lago lungo l'attesa traiettoria di risanamento.

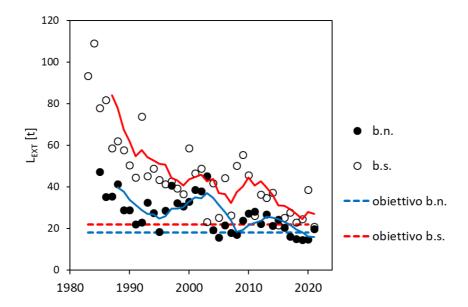


Figura 8.1. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: carichi esterni di fosforo, L_{EXT}, gravanti sui bacini nord e sud del lago [t anno⁻¹]. Le linee interpolate sono delle medie mobili (periodo: 5 anni).

8.1. Corsi d'acqua: carichi di fosforo

L'analisi a lungo termine dei carichi esterni di fosforo totale (L_{EXT}) si è avvalsa di una serie di dati che si estende dal 1984 al 2021. I valori dei carichi esterni sono stimati a partire dai carichi veicolati dai tributari maggiori (valori misurati), a cui vengono sommate stime dei carichi prodotti da (i) abitanti non allacciati, (ii) bacini non campionati e (iii) deposizioni atmosferiche (valori stimati, dettagli in Appendice II). Per omogeneizzare le serie, i contributi

dovuti ai bacini non campionati sono stati ricalcolati per tutto il periodo utilizzando un metodo comune (Appendice II), per cui i valori sono leggermente diversi da quelli presentati nei rapporti annuali.

Durante il periodo 1984-2021, il carico esterno di fosforo ($L_{\rm EXT}$) è sostanzialmente diminuito in entrambi i bacini del lago (Figura 8.1). Nel bacino nord, tra l'inizio e la fine del periodo (quinquenni 1984-1988 e 2017-2021), il carico medio è passato da 37.6 t a 16.3 t anno⁻¹, diminuendo di un fattore 2×. Nel bacino sud, il carico è passato da 77.8 t a 26.9 t anno⁻¹, diminuendo di un fattore 3×. Secondo queste stime, il carico esterno è attualmente conforme agli obiettivi di risanamento nel bacino nord (obiettivo=18 t), ma non ancora nel bacino sud (obiettivo=22 t).

Tabella 8.2. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: tasso di variazione a lungo termine (1983-2021) della temperatura (in $^{\circ}$ C decennio⁻¹) di epilimnio (0-5 m) e ipolimnio (50 m-fondo). *=P<0.05; **=P<0.01; ***=P<0.001.

		<u>Inverno</u>	<u>Primavera</u>	<u>Estate</u>	<u>Autunno</u>	<u>Marzo</u>
Bacino nord						
	0-5 m	+0.2***	+0.8***	+0.6***	+0.8***	
	50 m-fondo					+0.2***
Bacino	o sud					
	0-5 m	+0.3***	+0.8***	+0.8***	+0.5***	
	50 m-fondo					+0.3***

8.2. Lago: evoluzione dello stato fisico

L'analisi della temperatura delle acque lacustri ricalca quella effettuata da Lepori & Roberts (2015), a cui si rimanda per la descrizione dei dati e dei metodi analitici. In breve, la temperatura è stata esaminata per il periodo 1983-2021 separatamente per due strati fissi: lo strato 0-5 m, che rappresenta l'epilimnio, e lo strato 50 m-fondo, che rappresenta l'ipolimnio. Per ciascuno di questi strati le temperature mensili sono state trasformate in anomalie per sottrazione di valori tipici ottenuti mediante regressioni sinusoidali. Per lo strato 0-5 m, le anomalie mensili sono state usate per calcolare anomalie medie stagionali. Per lo strato 50 m-fondo, che non mostra variazione stagionale, si è considerata solo l'anomalia del mese di

marzo. Infine, il tasso di variazione lineare delle anomalie stagionali (strato 0-5 m) o dell'anomalia di marzo (strato 50 m–fondo) è stato stimato mediante regressioni semplici.

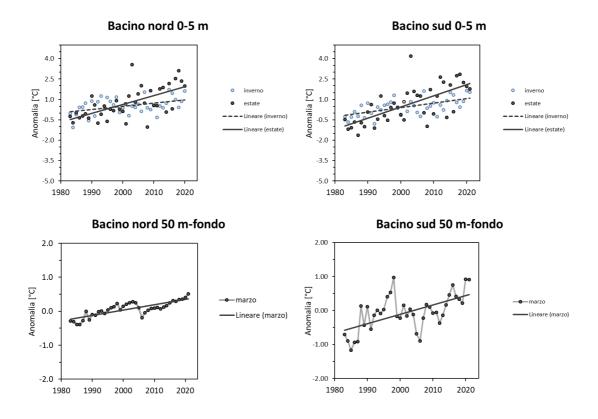


Figura 8.2.1. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: temperature (anomalie rispetto al valore tipico pluriennale, in °C) dello strato 0-5 m e dello strato 50 m-fondo, per bacino lacustre (nord e sud).

L'analisi della variazione a lungo termine (Tabella 8.2, Figura 8.2.1) ha messo in luce un'evidente tendenza al riscaldamento delle acque di entrambi i bacini, particolarmente accentuata nell'epilimnio e tra primavere e autunno. Nello strato epilimnico (0-5 m), la tendenza al riscaldamento è risultata significativa in ogni stagione e in entrambi i bacini del lago, con tassi di riscaldamento compresi tra +0.2-0.3°C decennio⁻¹ in inverno e +0.5-0.8°C decennio⁻¹ nelle altre stagioni (Tabella 8.2). Per quel che riguarda lo strato ipolimnetico, i risultati illustrano tendenze più complesse (Figura 8.2.1), in cui si sovrappongono un'evoluzione a zig-zag, dovuta ad accumulo di calore in anni caldi e parziale ritorno a temperature inferiori a seguito di inverni freddi, e una tendenza lineare a lungo termine dovuta al riscaldamento climatico. Rispetto all'ultima analisi (Rapporto triennale 2018), diversi tassi di riscaldamento sono apparsi in crescita e la significatività statistica delle tendenze è migliorata, principalmente perché due degli ultimi tre anni sono stati eccezionalmente caldi.

Le profondità massime di mescolamento durante la circolazione tardo-invernale ($Z_{\rm MIX}$) nelle stazioni di Gandria e Figino sono state tratte dalla serie storica CIPAIS (1983-2021). Nonostante la tendenza al riscaldamento delle acque in inverno documentata sopra, nel periodo considerato $Z_{\rm MIX}$ non ha mostrato chiare tendenze temporali (Figura 8.2.2). A Gandria, nel bacino nord, si sono verificate due ben documentate circolazioni complete negli anni 2005 e 2006, favorite da inverni freddi e ventosi (Holzner et al. 2009). Al di fuori di questi eventi, $Z_{\rm MIX}$ ha oscillato tra 36 m (nel 1988 e nel 2020) e 102 m (nel 2000). La profondità mediana di mescolamento è stata pari a 63 m. A Figino, nel bacino sud, il mescolamento ha raggiunto il fondo durante tutti gli anni salvo nove. La mediana è comunque pari alla profondità massima (94 m), mentre il valore minimo (21 m) è stato raggiunto durante la circolazione del 1988.

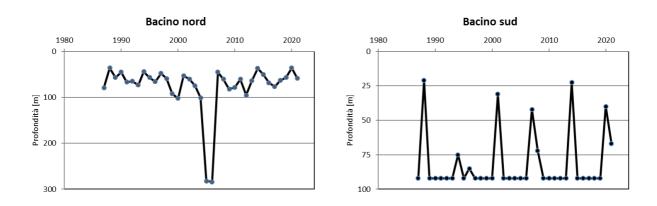


Figura 8.2.2. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: profondità massima di mescolamento [m] per bacino lacustre (nord e sud).

Anche se dalle serie esaminate non emergono chiare tendenze temporali, va considerato che la profondità massima di mescolamento dipende dalle condizioni meteorologiche invernali, tendendo a spingersi a maggiori profondità in seguito a inverni freddi (Lepori et al. 2018). Se il riscaldamento climatico dovesse proseguire facendo aumentare la frequenza di inverni miti, è verosimile che circolazioni deboli e parziali quali quelle irregolarmente osservate nel bacino sud diventino più frequenti in futuro. (Questa previsione vale fino a che continueranno a verificarsi inverni freddi, dopodiché il lago circolerebbe a temperature superiori).

8.3. Chimica delle acque lacustri

L'evoluzione delle condizioni chimiche del Lago di Lugano dal 1983 ad oggi è stata valutata tramite l'analisi dell'andamento pluriennale dei quattro parametri maggiormente correlati allo stato trofico: l'ossigeno disciolto, il fosforo, l'azoto e la silice. Le analisi sono state effettuate per lo strato produttivo e lo strato profondo, considerando le diverse tendenze evolutive che

caratterizzano questi due strati d'acqua, sulle due stazioni del lago rappresentanti il bacino nord e il bacino sud, Gandria e Figino rispettivamente. Su queste variabili limnologiche è stata eseguita un'analisi dei trend, valutandone la significatività mediante Mann-Kendall Test sull'intero periodo d'indagini (1984-2021).

Ossigenazione delle acque. Il bacino nord è tendenzialmente meromittico con conseguente anossia delle acque profonde, ma la circolazione completa straordinaria negli inverni del 2005 e del 2006 ha parzialmente rifornito di ossigeno lo strato profondo (100-284 m) (Figura 8.3). Con il successivo intensificarsi di deboli circolazioni tardo invernali, questa modesta ossigenazione (< 2 mg O₂ L⁻¹) è andata verso l'esaurimento, come confermato nell'ultimo triennio d'indagini. Al contrario, nello strato produttivo (0-20 m) la circolazione completa del 2005-2006 ha causato una riduzione dei livelli di ossigeno fino a valori prossimi alla criticità, frenando però solo parzialmente il trend in aumento sull'intero periodo (Tabella 8.3). Il bacino sud, meno profondo, è monomittico e le differenze tra lo strato produttivo (0-20 m) e lo strato profondo (20-93 m) sull'intero periodo sono state meno pronunciate (Figura 8.3). L'ultimo triennio ha rafforzato le tendenze sul lungo termine nello strato produttivo, dove il contenuto di ossigeno ha mostrato una tendenza all'aumento (Tabella 8.3). Invece, lo strato profondo, influenzato dalle deboli circolazioni invernali, è stato soggetto a maggiori oscillazioni e nel triennio corrente.

Concentrazione di fosforo totale. L'andamento del fosforo totale nel bacino nord è complessivamente diminuito nel corso dello studio (Tabella 8.3), ma è stato fortemente influenzato dalla circolazione completa del 2005 e del 2006. Nello strato produttivo, dopo una prima fase di diminuzione dovuta alla riduzione dei carichi esterni conclusasi verso la fine degli anni '90, il fosforo ha iniziato ad aumentare ad opera del carico interno, indotto da una parziale erosione del chemoclino negli anni precedenti alle circolazioni (Lepori 2019, Figura 8.3). Dopo le circolazioni complete del 2005-2006, che hanno portato ad una ridistribuzione del fosforo sull'intera colonna d'acqua, le concentrazioni sono diminuite nuovamente nello strato produttivo e aumentate nello strato profondo, come confermato nel triennio corrente. La riduzione dei carichi esterni ha portato complessivamente a una diminuzione del fosforo nel bacino nord, ma lo sviluppo del carico interno e l'instabilità delle circolazioni invernali possono ostacolare le misure di risanamento con conseguenze poco prevedibili. Al contrario, nel bacino sud, l'olomissi ha permesso una riduzione costante dei livelli di fosforo su tutta la colonna d'acqua, direttamente in parallelo alla diminuzione dei carichi esterni (Tabella 8.3). Il triennio corrente ha contribuito a rafforzare queste tendenze. La concentrazione di fosforo nello strato produttivo è il parametro che maggiormente controlla la produttività algale ed è quindi usato come indicatore dello stato trofico. Secondo la classificazione trofica OECD basata sui contenuti di fosforo totale (oligotrofia TP < 10 μg P L⁻¹; mesotrofia 10 μ g P L⁻¹< TP < 35 μ g P L⁻¹; eutrofia TP > 35 μ g P L⁻¹) il bacino nord è

passato da condizioni di eutrofia nei primi anni '80, alla mesotrofia. Il carico interno e la circolazione del 2005-2006 ha riportato il bacino nord in condizioni di eutrofia, ma come osservato nel triennio precedente, si è osservata una stabilizzazione su condizioni di mesotrofia. Invece, sul lungo termine il bacino sud è passato gradualmente dall'iper-eutrofia a condizioni (medie) al limite della mesotrofia nell'ultimo triennio.

Concentrazione di azoto totale. Nel Lago di Lugano i livelli di azoto totale nello strato produttivo risultano più omogenei allo strato profondo, perché in eccesso rispetto alla domanda biologica, e mostrano complessivamente un trend in aumento sull'intero periodo d'indagini. Non essendo un fattore limitante alla produzione algale, in entrambi i bacini la concentrazione di questo nutriente dipende direttamente dall'apporto dei carichi esterni mostrando tendenze comparabili. Nel bacino nord l'andamento dell'azoto sull'intera colonna d'acqua ha avuto una prima fase di aumento fino all'erosione del chemoclino negli anni precedenti le circolazioni complete del 2005-2006 (Figura 8.3). I livelli sono diminuiti velocemente, per poi tornare a crescere negli anni successivi alle circolazioni. Nel triennio corrente si è osservata un arresto di questa tendenza con una fase di stabilizzazione dei contenuti di azoto (Tabella 8.3). Nel bacino sud l'iniziale fase di crescita dei livelli di azoto è stata molto più rapida, per poi assestarsi su valori più costanti, come confermato dal triennio corrente.

Concentrazione di silice. La silice è un nutriente essenziale per lo sviluppo delle diatomee. Durante lo sviluppo vegetativo viene assimilata nello strato produttivo per la costituzione del frustolo, e alla loro morte precipita nello strato profondo formando depositi di silice organica. Nel bacino nord la silice nello strato profondo, dopo un periodo iniziale costante, è diminuita in modo marcato per l'erosione del chemoclino negli anni precedenti alle circolazioni del 2005-2006. In concomitanza, il flusso di silice verso gli strati superficiali ha portato ad un aumento nello strato produttivo (Figura 8.3). Questo trend è stato interrotto dalle circolazioni, che hanno portato ad un'omogeneizzazione della silice sull'intera colonna d'acqua. Dopo le circolazioni è iniziata una fase in tendenza opposta, con riduzione nello strato produttivo e accumulo nello strato profondo, continuata fino all'ultimo triennio d'indagini. Nel bacino sud le differenze tra lo strato produttivo e lo strato profondo sono meno marcate. Si è osservata una tendenza all'aumento sull'intero periodo d'indagine nello strato profondo, sebbene con un andamento caratterizzato da forti oscillazioni (Tabella 8.3). Tuttavia, il triennio corrente è stato caratterizzato complessivamente da una riduzione della silice rispetto al periodo precedente.

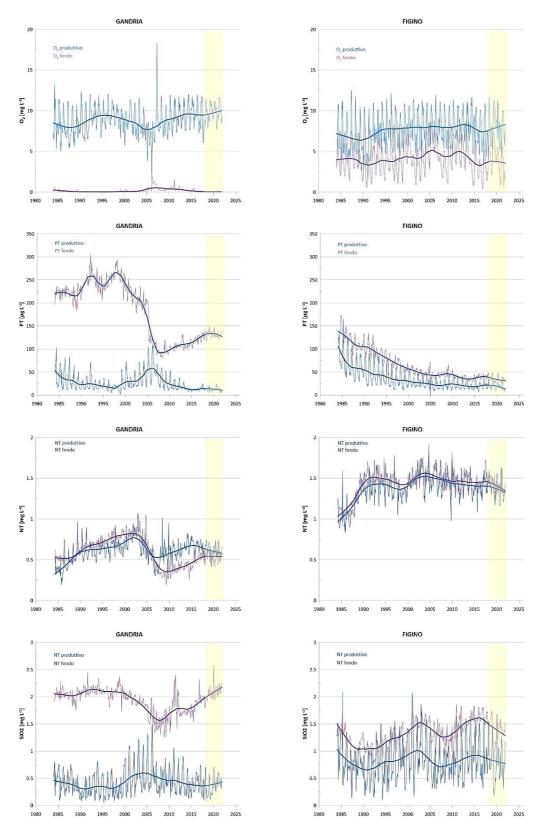


Figura 8.3. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: concentrazioni di ossigeno (a), fosforo totale (b), azoto totale (c) e silice (d) a Gandria (bacino nord) e Figino (bacino sud) durante il periodo 1984-2021, nello strato produttivo (0-20 m) e nello strato profondo (Gandria 100-284 m; Figino 20-93 m). In grafico sono rappresentati i valori mensili ed una funzione di smoothing interpolata (LOESS, linea). Il periodo 2019-2021 è evidenziato in giallo.

Tabella 8.3. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: risultati dell'analisi dei trend mediante Mann-Kendall Test di alcune variabili limnologiche (O₂ ossigeno, PT fosforo totale, NT azoto totale, SiO₂ silice) nello strato produttivo (0-20 m) e nello strato profondo a Gandria (bacino nord, 100-284 m) e Figino (bacino sud, 20-93 m), per il periodo 1984-2021. p: significatività (↗↗৴: <0.001); ৴: trend positivo; ゝ: trend negativo.

GANDRIA produttivo		02	PT	NT	SiO ₂
1984-2021	р	777	תתת	777	-
	S	17469	-27768	20477	4741
	Z	5.201	-8.2952	6.176	1.4159
GANDRIA fondo		O ₂	PT	NT	SiO ₂
1984-2021	р	-	<i>א</i>	<i>א</i>	<i>א</i>
	S	5910	-41333	-12152	-24989
	Z	1.8336	-12.426	-3.6889	-7.5125

FIGINO produttivo		02	PT	NT	SiO ₂
1984-2021	р	מממ	<i>א</i>	777	-
	S	13516	-52620	22398	3598
	Z	4.037	-15.77	6.7554	1.0779
FIGINO fondo		02	PT	NT	SiO ₂
1984-2021	р	-	ע עע	מממ	מממ
	S	2053	-83516	14835	35680
	Z	0.61493	-25.109	4.4888	10.727

8.4. Evoluzione dei popolamenti fitoplanctonici

L'analisi dell'evoluzione a lungo termine dei popolamenti fitoplanctonici si è concentrata sulla variazione della composizione tassonomica e sui principali indicatori della struttura trofica, quali biomassa totale, clorofilla *a* e produzione primaria.

Nel Lago di Lugano, nell'intero periodo d'indagine la comunità fitoplanctonica è stata dominata da diatomee e cianobatteri (Figura 8.4.1). A differenza del primo gruppo, la cui abbondanza relativa dagli anni '80 ha subito minime variazioni (ca. 30-35%), la percentuale di cianobatteri si è ridotta drasticamente alla fine degli anni '80, passando da valori attorno al 50% al 30%. Nell'ultimo triennio di indagini (2019-2021) è stato osservato un nuovo incremento, in continuità con il triennio precedente, che ha portato quasi a raddoppiare la percentuale di cianobatteri rispetto al periodo precedente (2006-2018). Questo aumento è attribuibile all'aumento delle temperature e alle deboli circolazioni tardo-invernali che favoriscono la stratificazione estiva. Questo fenomeno è stato più evidente nel bacino nord, dove le specie metalimnetiche (Oscillatoriales), maggiormente favorite da queste condizioni ambientali, sono dominanti. Anche generi che necessitano di calde temperature estive, come *Microcystis*, sono stati favoriti da questi cambiamenti e hanno prodotto fioriture importanti specialmente nel bacino sud, anche se gli effetti sulla biomassa totale sono stati meno evidenti.

L'analisi dell'ultimo triennio di indagini mostra inoltre come ci sia stata una ripresa delle diatomee rispetto al triennio precedente, quando era mancato il classico sviluppo primaverile.

La forte riduzione dei cianobatteri alla fine degli anni '80 ha lasciato spazio ad altri gruppi fitoplanctonici (criptoficee, cloroficee, peridinee), che hanno mostrato una tendenza all'aumento. Tuttavia rispetto al triennio precedente, la percentuale di cloroficee tra il 2019 e il 2021 si è ridotta notevolmente, fino a dimezzarsi, a causa di una scarsa crescita estiva. Alla fine degli anni '80 non solo è cambiata la composizione tassonomica del fitoplancton, ma si è osservata anche una riduzione netta della biomassa totale in entrambi i bacini (da 3-4 a 1-1.5 mg m⁻³; Figura 8.4.2). Nell'ultimo triennio i valori registrati hanno confermato una complessiva stabilizzazione rispetto al trend in aumento dell'ultimo decennio.

L'analisi della clorofilla *a* (strato 0-20 m), usata come indice dello stato trofico, ha messo in evidenza lo stesso andamento, anche se più graduale (Figura 8.4.3). Nell'ultimo triennio i valori medi di clorofilla a sono stati pari a 6.8 mg m⁻³ nel bacino nord e 7.2 mg m⁻³ nel bacino sud, di poco differenti dai valori medi nel periodo estivo a causa dello scarso sviluppo delle cloroficee (6.7 mg m⁻³ nel bacino nord e 7.6 mg m⁻³ nel bacino sud), evidenziando come, al di là della variabilità inter-annuale, le condizioni trofiche del lago si attestino ancora al limite tra eutrofia e mesotrofia.

Il miglioramento dello stato trofico sul lungo periodo è sostenuto dalla tendenza alla diminuzione della produzione primaria dagli anni '80 (Figura 8.4.4). Nonostante un'elevata variabilità inter-annuale, negli ultimi anni si è osservata una complessiva stabilizzazione di questo parametro. Tuttavia l'ultimo triennio, ha mostrato una riduzione della produzione primaria, specialmente nel bacino nord dove hanno dominato i cianobatteri metalimnetici e le cloroficee sono state scarsamente presenti.

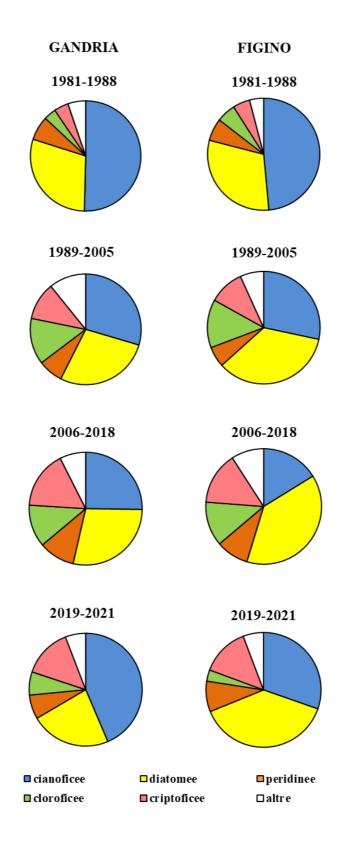


Figura 8.4.1. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: evoluzione della composizione percentuale della biomassa fitoplanctonica nelle stazioni di Gandria (bacino nord) e Figino (bacino sud).

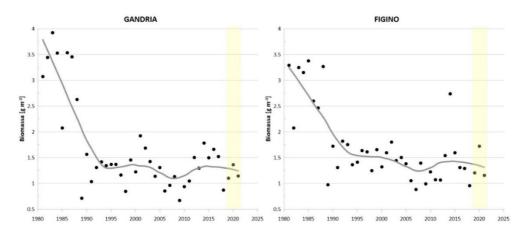


Figura 8.4.2. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: andamento della biomassa fitoplanctonica nello strato produttivo nelle stazioni di Gandria (bacino nord) e Figino (bacino sud). In grafico sono rappresentati i valori annuali ed una funzione di smoothing interpolata (LOESS, linea), che indica le tendenze a lungo termine. Il periodo 2019-2021 è evidenziato in giallo.

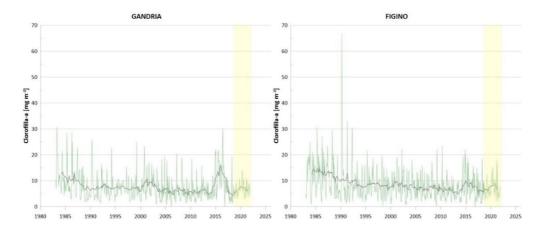


Figura 8.4.3. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: andamento della clorofilla a nello strato produttivo nelle stazioni di Gandria (bacino nord) e Figino (bacino sud). In grafico sono rappresentati i valori mensili e la media mobile (linea, ordine 30), che indica le tendenze a lungo termine. Il periodo 2019-2021 è evidenziato in giallo.

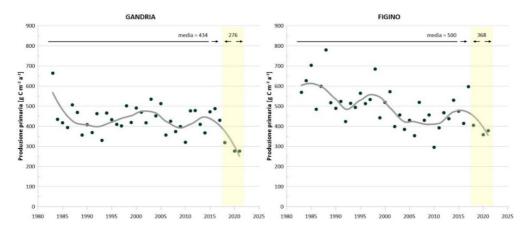


Figura 8.4.4. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: produzione primaria per unità di superficie nello strato produttivo a Gandria (bacino nord) e Figino (bacino sud). In grafico sono rappresentati i valori annuali ed una funzione di smoothing interpolata (LOESS, linea), che indica le tendenze a lungo termine. Il periodo 2019-2021 è evidenziato in giallo.

8.5. Evoluzione dei popolamenti zooplanctonici

L'analisi dell'evoluzione a lungo termine dei popolamenti zooplanctonici si è concentrata sullo zooplancton a crostacei, che include copepodi (sottoclasse Copepoda) e cladoceri (ordine Cladocera). Per l'analisi quantitativa, inoltre, ci si è concentrati su alcuni indicatori principali della struttura tassonomica e trofica dei popolamenti, comprendenti la biomassa totale, la biomassa di cladoceri e copepodi, e la biomassa delle principali categorie trofiche (erbivori, omnivori e predatori). Oltre a esaminare le tendenze temporali, si è analizzata la relazione tra questi indicatori e la concentrazione di fosforo totale nello strato produttivo (0-20 m), per verificare se eventuali tendenze rivelate dall'analisi temporale siano attribuibili a variazioni del livello di trofia. I metodi di raccolta e analisi dello zooplancton sono descritti in Appendice II. La biomassa è stata stimata moltiplicando l'abbondanza di ciascuna unità tassonomica per il peso medio di un individuo (tratto da archivi del Laboratorio studi ambientali e dell'IST-SUPSI, dati non pubblicati).

Studi precedenti sull'evoluzione dello zooplancton del Ceresio (Lepori & Roberts 2017, Lepori 2019) hanno evidenziato un cambiamento netto avvenuto tra il 1988 e il 1989, riguardante sia la composizione tassonomica (arrivo del calanoide alloctono *Eudiaptomus gracilis*, forte espansione di *Daphnia longispina s.l.*), sia la biomassa totale (netto aumento). Questo cambiamento è coinciso con l'arrivo di *Eudiaptomus* e un forte calo dell'ittiofauna planctivora, in particolare dell'alborella, che ha verosimilmente permesso l'espansione di zooplancton di grandi dimensioni e quindi vulnerabili alla predazione (Lepori 2019). Poiché questo cambiamento ha modificato i meccanismi di regolazione della biomassa planctonica (Lepori 2019), l'analisi della relazione tra zooplancton e fosforo si è concentrata sul secondo periodo (1989-2018). Analizzare insieme i due periodi avrebbe parzialmente offuscato i risultati, mentre la scarsità di dati non permette un'analisi separata per il primo periodo (1983-1988).

L'analisi dell'andamento della biomassa totale del macro-zooplancton (Figura 8.5.1) suggerisce il susseguirsi di tre fasi. La prima fase comprende il periodo 1983-1989 ed è contrassegnata da valori di biomassa contenuti. La seconda fase, che si estende dal 1990 alla metà degli anni 2000, è caratterizzata da biomasse mediamente più elevate, anche se altalenanti. Infine, la terza fase, che include il periodo rimanente, fino al 2021, indica un ritorno a biomasse mediamente basse, seppur nuovamente instabili. Gli andamenti delle biomasse dei gruppi tassonomici (Figura 8.5.1) mostrano che questo andamento è stato determinato principalmente dai copepodi, divenuti particolarmente abbondanti —oltre che dominanti rispetto ai cladoceri— durante la seconda fase. I cladoceri, a confronto, hanno mostrato una forte variabilità temporale —priva di tendenze a lungo termine a Gandria e sovraimposta a una leggera tendenza alla diminuzione a Figino.

L'aumento di biomassa dello zooplancton a crostacei osservato nei primi due decenni va attribuito in gran parte all'arrivo di Eudiaptomus e, verosimilmente, alla diminuzione dei pesci planctivori (vedi sopra). In confronto, la diminuzione di biomassa tra la seconda e la terza fase, nella seconda metà degli anni 2000, riflette con ogni probabilità un cambiamento di trofia, per due ragioni. Primo, la fine degli anni 2000 segna il passaggio a concentrazioni di fosforo medie annuali inferiori a 30 µg L⁻¹ nello strato eufotico, che possono essere interpretate come un confine tra eutrofia e mesotrofia (la letteratura pone il confine tra 22-35 μg L⁻¹; Nürnberg 1996). Secondo, la biomassa totale (oltre a quella delle maggior parte degli indicatori della struttura del popolamento macro-zooplanctonico) un'associazione positiva con le concentrazioni di fosforo (Figura 8.5.2). (Fanno eccezione la biomassa dei carnivori, che ha mostrato una tendenza opposta, e la biomassa degli omnivori a Figino, che ha descritto un arco unimodale, raggiungendo il massimo in corrispondenza di concentrazioni medie di fosforo).

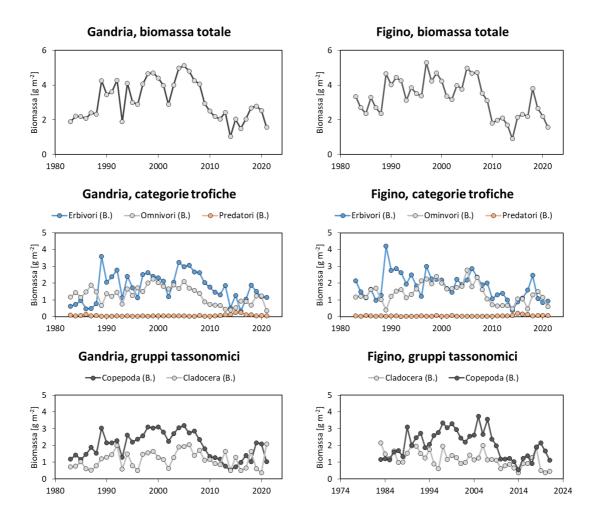


Figura 8.5.1. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: andamenti temporali della biomassa dello zooplancton a crostacei nel periodo 1983-2018 alle stazioni di Gandria e Figino.

Anche se una diminuzione di biomassa può avvenire per diverse ragioni (predazione da parte dei pesci, abbondanza di fitoplancton inedibile), l'associazione tra abbondanza o biomassa dello zooplancton e stato trofico concentrazioni di fosforo è comprovata da diversi studi (per esempio: Jeppesen et al. 2005; Ejsmont-Karabin & Karabin 2013).

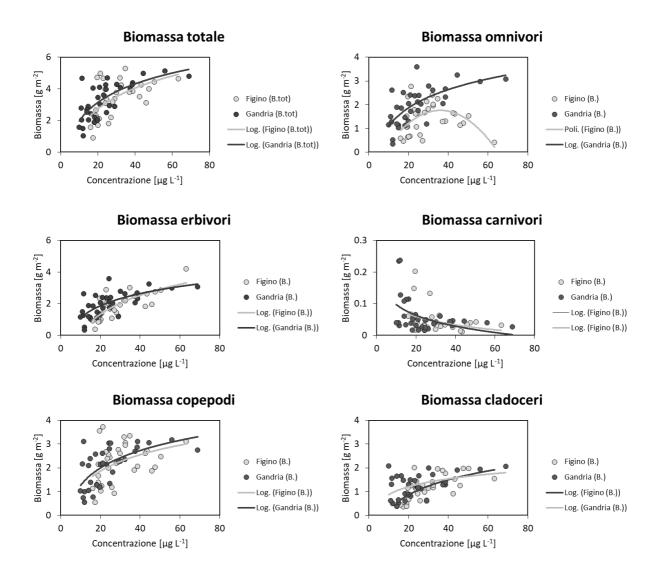


Figura 8.5.2. Lago di Lugano, sintesi pluriennale: rapporto tra biomassa di zooplancton a crostacei e concentrazione di fosforo totale nello strato produttivo (0-20 m), nel periodo 1989-2018, alle stazioni di Gandria e Figino.

9. Conclusioni

Nel 2021, dopo un biennio eccezionalmente caldo (2019-2020), le condizioni meteorologiche, seppur ancora segnate da temperature elevate in alcuni mesi, sono rientrate nei pressi della norma. Anche i regimi di mescolamento, dopo le circolazioni indebolite del 2020, sono tornati quelli caratteristici dei due bacini, contraddistinti dal mescolamento del mixolimnio (fino a *ca*. 60 m) nel bacino nord e dell'intera colonna d'acqua nel bacino sud, perlomeno nel sottobacino di Figino. Proprio grazie all'apparente tregua climatica, i risultati del 2021 e le sintesi pluriennali offrono una buona occasione per esaminare il progresso compiuto verso il risanamento trofico del lago senza l'interferenza degli effetti potenzialmente confondenti dovuti ad annate eccezionalmente calde.

Un primo segnale che possiamo cogliere dai risultati esposti —ed è senz'altro un segnale positivo— riguarda il fosforo. Nel 2021, i carichi sono apparsi nuovamente in calo e inferiori alla stima dei valori massimi tollerabili per entrambi i bacini. Ancor più significativo è il fatto che, nonostante le circolazioni normali, i rifornimenti di fosforo dovuti alla circolazione siano stati modesti (Capitolo 5), soprattutto nel bacino nord. Se negli scorsi anni dei valori di fosforo alla circolazione così bassi potevano essere spiegati da circolazioni deboli, i risultati del 2021 si spiegano principalmente con la riduzione dei carichi esterni, dimostrata in modo chiaro dalle serie storiche (Capitolo 8). Grazie a questa riduzione, nel 2021 anche le concentrazioni medie annuali di fosforo (Gandria: 19 mg P m⁻³, Figino: 25 mg P m⁻³) sono apparse per la prima volta in linea con gli obiettivi CIPAIS (30 mg P m⁻³) in entrambi i bacini. Questi risultati avvalorano una delle principali assunzioni del programma di risanamento del lago, cioè che mediante una riduzione del carico esterno di fosforo è possibile ridurre in modo relativamente veloce e prevedibile (Barbieri & Mosello 1992, Lepori 2019) la concentrazione a lago.

La risposta dell'ecosistema pelagico alla riduzione dei carichi e delle concentrazioni di fosforo è apparsa tuttavia variegata. Nonostante alcuni segnali positivi, riguardanti per esempio il calo della biomassa algale osservato nel 2021, la produzione primaria è rimasta elevata, continuando a mostrare valori tipici di laghi eutrofici. Anche l'ossigenazione delle acque profonde è rimasta critica. Questa risposta (o assenza di risposta) non deve sorprendere. Sia modelli classici di eutrofizzazione (Vollenweider et al. 1974), sia studi sinottici recenti (Mueller et al. 2019) mostrano che la produzione primaria e il consumo di ossigeno ipolimnetico (causa della deossigenazione critica delle acque profonde) seguono delle risposte essenzialmente a soglia, cioè non diminuiscono sostanzialmente fino a che la concentrazione (o il carico) di fosforo rimane al di sopra di una certa soglia. Per di più, questi stessi modelli e studi indicano che le soglie sono basse, attorno a 20 mg P m⁻³ in termini di concentrazione (Smith 1979) e 0.54 g P m⁻² in termini di carico (Mueller et al. 2019). Una riduzione delle concentrazioni di concentrazioni di fosforo da elevate a moderate (cioè attorno

a 20-35 mg m⁻³), come quella finora compiuta nel Lago di Lugano, non implica quindi ancora sostanziali miglioramenti in termini di produzione algale e ossigenazione delle acque.

Se la produzione primaria e il consumo di ossigeno —due processi ecosistemici— sono variati poco nel tempo, lo stesso non si può dire in riferimento alla struttura della comunità planctonica, che appare in continua trasformazione. Anche in questo contesto di variabilità stanno però emergendo dei motivi ricorrenti, messi in luce dalle sintesi pluriennali ed esemplificati anche dai risultati del 2021. I risultati mostrano come, con la recente riduzione del fosforo a valori moderati, le abbondanze relative dei diversi gruppi fitoplanctonici si modificano. Tendono a diminuire le piccole diatomee centriche, in passato attori principali delle fioriture primaverili, e le alghe verdi, una componente principale del fitoplancton estivo, mentre aumentano i cianobatteri filamentosi, grazie a un vantaggio competitivo sugli altri gruppi in queste condizioni. Queste modifiche influiscono negativamente sullo sviluppo di zooplancton, perché comportano una perdita di specie edibili (diatomee centriche e, parzialmente, alghe verdi) e un aumento di specie non solo poco edibili, ma anche potenzialmente tossiche o dannose (cianobatteri filamentosi). Ne risulta un popolamento fitoplanctonico debolmente controllato da parte dello zooplancton, che può mostrare valori di biomassa relativamente elevati per unità di fosforo, non necessariamente inferiori a quelli dei popolamenti di laghi eutrofici (Lepori et al. 2022).

I risultati del 2021, insieme a quelli di anni recenti, aiutano a mettere a fuoco come si stanno riconfigurando i processi ecosistemici e la struttura della comunità planctonica a fronte del calo delle concentrazioni di fosforo da elevate a moderate. In base ai risultati finora emersi pare sempre più chiaro che per riportare il lago alle condizioni di ossigenazione, produzione primaria e biomassa algale indicate nel Piano d'Azione CIPAIS e conformi ai quadri normativi italiani e svizzeri, non basterà riportare le concentrazioni di fosforo a livelli moderati. Bisognerà probabilmente scendere sotto le soglie che determinano la transizione tra laghi produttivi e meno produttivi, situate attorno a 20 mg P m⁻³ (concentrazione) o 0.54 g P m⁻² (carico areale). I risanamenti previsti (Rio Bolletta, progressiva separazione tra canalizzazioni nere e meteoriche, eliminazione degli scaricatori di piena), i progressi recenti, e la stretta relazione tra carichi e concentrazioni di fosforo osservata nel lago suggeriscono che anche questo ulteriore passo verso il risanamento potrebbe essere compiuto in un futuro non distante.

10.Bibliografia

- Barbieri, A., & Mosello, R. (1992). Chemistry and trophic evolution of Lake Lugano in relation to nutrient budget. Aquatic Sciences, 54, 219-237.
- Ejsmont-Karabin, J., & Karabin, A. (2013). The suitability of zooplankton as lake ecosystem indicators: crustacean trophic state index. Polish Journal of Ecology, 61, 561-573.
- Holzner, C.P., Aeschbach-Hertig, W., Simona, M., Veronesi, M., Imboden, D.M., & Kipfer, R. (2009). Exceptional mixing events in meromictic Lake Lugano (Switzerland/Italy), studied using environmental tracers. Limnology and Oceanography, 54, 1113-1124.
- Imboden, D.M. (1992). Possibilities and limitations of lake restoration: Conclusions for Lake Lugano. Aquatic Sciences, 54, 381-390.
- Istituto Scienze della terra (IST-SUPSI). (2020). Ricerche sull'evoluzione del Lago di Lugano. Aspetti limnologici. Programma triennale 2019-2021. Campagna 2019. Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere (Ed.); 80 pp.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Jensen, J.P., Havens, K.E., Anneville, O., Carvalho, L., Coveney, M.F., Deneke, R., Dokulil, M.T., Foy, B.O.B., & Gerdeaux, D. (2005). Lake responses to reduced nutrient loading—an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. Freshwater biology, 50, 1747-1771.
- Lepori, F. (2019). Il risanamento del Lago di Lugano: tendenze pluridecennali dei carichi e delle concentrazioni di fosforo. Bollettino della Società Ticinese di Scienze Naturali 107, 13-19.
- Lepori, F., & Roberts, J.J. (2015). Past and future warming of a deep European lake (Lake Lugano): what are the climatic drivers? Journal of Great Lakes Research, 41, 973-981.
- Lepori, F., & Roberts, J.J. (2017). Effects of internal phosphorus loadings and food-web structure on the recovery of a deep lake from eutrophication. Journal of Great Lakes Research, 43, 255-264.
- Lepori, F., Capelli, C., & Foresti, D. (2022). Changes in phytoplankton composition hinder the recovery from eutrophication in a perialpine lake (Lake Lugano, Switzerland and Italy). Journal of Plankton Research, 44, 22-35.
- Lepori, F., Roberts, J.J., & Schmidt, T.S. (2018). A paradox of warming in a deep peri-Alpine lake (Lake Lugano, Switzerland and Italy). Hydrobiologia, 824, 215-228.
- Liechti, P. (2010). Méthodes d'analyse et d'appréciation des cours d'eau. Analyses physico-chimiques, nutriments. L'environnement pratique n°1005. Office fédéral de l'environnement, Berne. 44 p.
- Müller, B., Steinsberger, T., Schwefel, R., Gächter, R., Sturm, M., & Wüest, A. (2019). Oxygen consumption in seasonally stratified lakes decreases only below a marginal phosphorus threshold. Scientific reports, 9, 1-7.
- Nürnberg, G.K. (1996). Trophic state of clear and colored, soft-and hardwater lakes with special consideration of nutrients, anoxia, phytoplankton and fish. Lake and Reservoir Management, 12, 432-447.
- Schwefel, R., Gaudard, A., Wüest, A., & Bouffard, D. (2016). Effects of climate change on deepwater oxygen and winter mixing in a deep lake (L ake G eneva): Comparing observational findings and modeling. Water Resources Research, 52(11), 8811-8826.
- Schwefel, R., Müller, B., Boisgontier, H., & Wüest, A. (2019). Global warming affects nutrient upwelling in deep lakes. Aquatic Sciences, 81, 1-11.
- Smith, V.H. (1979). Nutrient dependence of primary productivity in lakes 1. Limnology and Oceanography, 24, 1051-1064.
- Vollenweider, R.A. (1982). Eutrophication of waters: monitoring, assessment and control. Organisation for Economic Co-operation and Development, Washington, DC.
- Vollenweider, R.A., Munawar, M., & Stadelmann, P. (1974). A comparative review of phytoplankton and primary production in the Laurentian Great Lakes. Journal of the Fisheries Board of Canada, 31, 739-762.

PARTE II: Ricerca e monitoraggio di determinanti genici di resistenza agli antibiotici nelle acque del Lago Ceresio

Federica Mauri

Istituto Microbiologia, Scuola Universitaria Professionale della Svizzera Italiana, DACD Mendrisio

1. Introduzione

1.1. Programma 2021

Per l'anno 2021 sono stati eseguiti i campionamenti in diversi punti del Lago di Lugano a cadenza stagionale per la ricerca di determinanti molecolari coinvolti nello sviluppo di antibiotico resistenza: il gene per l'integrasi *intI* e i geni *sulII*, *tetA*, *qnrS*, e *ermB* che conferiscono resistenza, rispettivamente, a sulfamidici, tetracicline, fluorochinoloni e macrolidi; antibiotici largamente utilizzati in medicina umana e veterinaria. Lo screening quantitativo di tutti i geni è stato eseguito tramite qPCR e le concentrazioni dei geni di resistenza sono state poi rapportate al gene 16S rDNA, quantificato come indicatore della popolazione batterica totale. Gli stessi geni di resistenza sono stati ricercati, tramite PCR convenzionale, nei batteri multi-resistenti isolati su piastre selettive. I metodi sono dettagliati in Appendice III.

1.2. Resistenza agli antibiotici – aspetti generali e ambiente acquatico

La presenza di antibiotici nelle acque è uno dei problemi ambientali emergenti che possono mettere a rischio la salute dell'uomo e degli ecosistemi. Infatti, queste sostanze, anche se in concentrazioni sub-letali e difficilmente quantificabili, possono sul lungo termine promuovere direttamente o indirettamente l'insorgenza di antibiotico-resistenza nei batteri. L'acqua può perciò diventare un serbatoio di popolazioni batteriche resistenti agli antibiotici e di geni di resistenza. È già stato dimostrato che questi ultimi possono essere trasferiti a batteri patogeni che in ambiente ospedaliero sono causa di decine di migliaia di decessi l'anno in Europa e USA con ingenti costi per i sistemi sanitari nazionali (Martins & Rabinowitz 2020; WHO 2020). L'incremento dell'antibiotico resistenza può essere controllato unicamente attraverso un'azione coordinata che consideri l'educazione ad un utilizzo corretto degli antibiotici e lo sviluppo di nuove sostanze attive ma anche la conoscenza della diffusione dell'antibiotico resistenza nell'ambiente e delle strategie attuabili per la sua

riduzione. Il monitoraggio ambientale è perciò fondamentale per il controllo della diffusione dell'antibiotico resistenza (Huijbers et al. 2019). Inoltre, la continuità nel tempo di questo tipo di indagine permette di acquisire un'immagine complessiva della diffusione dell'antibiotico resistenza nell'ecosistema e fornisce anche dati con evidenti applicazioni pratiche quali, ad esempio, l'impatto delle strategie messe in atto per la riduzione dei microinquinanti.

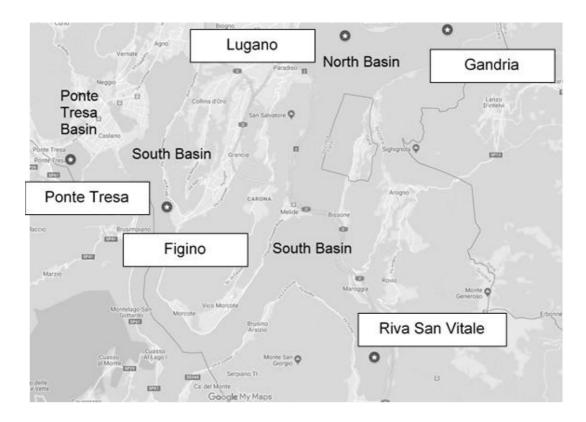


Figura 1. Illustrazione dell'ubicazione dei cinque punti del Lago Ceresio (stelle) considerati nel monitoraggio 2021.

1.3. Punti di campionamento e prelievi

Il monitoraggio delle acque è iniziato nel mese di aprile del 2021, I prelievi sono stati effettuati a cadenza stagionale (primavera, autunno, inverno). A causa di problemi tecnici alla barca non è stato possibile eseguire il campionamento estivo. La figura 1 mostra tutti i punti di campionamento considerati per le indagini del 2021. Per ogni campionamento è stato prelevato 1 litro di acqua e i campioni sono stati mantenuti a 4°C ed analizzati entro otto ore dal prelievo. I cinque punti sono stati scelti per il diverso tipo di impatto antropico a cui sono sottoposti. Ponte Tresa, campione integrato da zero a 20 metri, sito semilitorale vicino alla frontiera italiana situato a 45°58'02.1 "N e 8°51'56.9 "E, (bacino di Ponte Tresa). Sito pelagico di Figino vicino all'impianto di captazione di acqua potabile di Casoro, Barbengo (bacino sud) a 45°57'18.4 "N 8°54'09.4 "E, questo sito riceve anche le acque del fiume Scairolo. Riva San

Vitale sito pelagico a 45°54'59.7 "N e 8°58'40.1 "E, (bacino sud) il campione è stato prelevato a 33 metri di profondità dove in futuro verrà costruito un nuovo impianto di captazione di acqua potabile. Lugano sito semi-litorale vicino all'area delle acque di balneazione (Lido) a 45°59'56.5 "N e 8°58'01.6 "E, (bacino nord) il campione di acqua è stato prelevato a 40 metri di profondità dove si trova l'impianto di captazione di acqua potabile. Acqua pelagica di Gandria a 46°00'01.8 "N e 9°00'17.5 "E, (bacino nord) campione integrato da zero a 20 metri.

Per la raccolta dei campioni integrati, è stato usato un campionatore integrale (Züllig AG, Rheineck) che prende una colonna d'acqua dalla superficie alla profondità desiderata. Per la raccolta degli altri campioni, è stato utilizzato un campionatore d'acqua attivato da un messaggero (modello PWS, Hydrobios, Kiel, D). Per raggiungere la profondità corretta è stato utilizzato un argano.

2. Identificazione e quantificazione di determinanti genici di resistenza agli antibiotici

2.1. Presenza/assenza di determinati genici di resistenza e del gene intl

I risultati del monitoraggio del 2020 mostrano che i geni ricercati erano presenti in tutti i punti del Lago di Lugano in quantità basse e spesso al di sotto dei limiti. Oltre al gene *intI* per l'integrasi, i geni di resistenza più diffusi sono stati *sulII* e *tetA*. Il gene *qnrS* è stato trovato solo a Ponte Tresa e Figino, e il gene *ermB* anche a Lugano e Gandria (Figura 2).

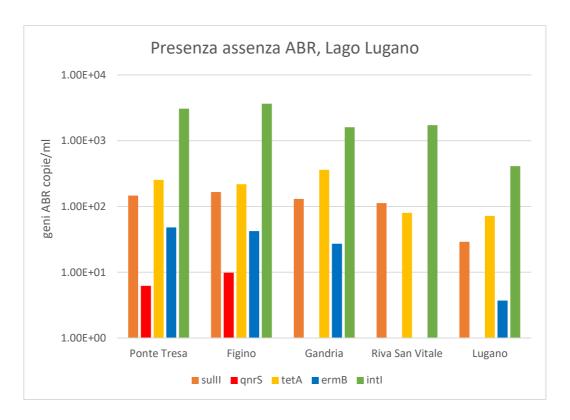


Figura 2: Presenza/assenza nel Lago Lugano dei geni di resistenza (geni ABR) e del gene *intI*. La presenza è espressa in copie del gene per ml di acqua campionata su scala logaritmica.

2.2. Abbondanza assoluta dei geni di resistenza e del gene intl

Le abbondanze assolute dei vari geni possono essere considerate un indice del grado di contaminazione dei diversi campioni (Su et al. 2020). Per quanto riguarda i nostri risultati, l'abbondanza assoluta dei determinanti genici di resistenza (figura 3 B e tabella A2 in allegato) e del gene 16S rDNA (figura 3 A e tabella A1 in allegato) nei cinque punti di campionamento del Lago mette in evidenza delle differenze riconducibili al diverso grado di antropizzazione a cui sono sottoposti.

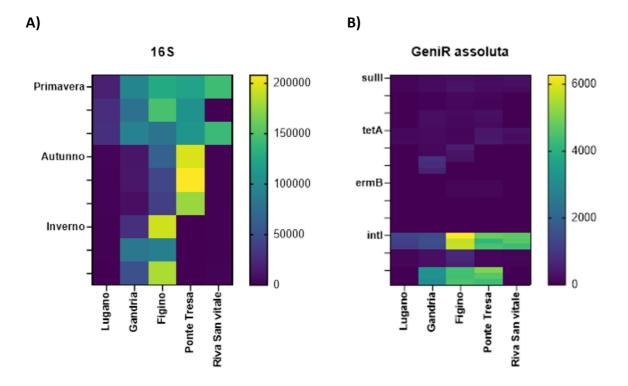


Figura 3: Heat maps raffiguranti l'abbondanza assoluta del gene *16S rDNA* (A) e dei geni di resistenza (B) (compreso il gene *intI*). La quantità è espressa in copie del gene per ml di acqua campionata.

Come si evince dalla figura 4, la popolazione batterica totale è più abbondante nei punti di Figino e Ponte Tresa (media stagionale $1*10^5$ e $1.5*10^5$ copie/ml) rispetto alle zone più lontane dalla riva come Gandria (media $5*10^4$ copie/ml) e ai due punti vicino alle captazioni per l'acqua potabile di Lugano ($8.4*10^3$ copie/ml) e Riva San vitale ($3.7*10^4$ copie/ml) (Tabelle A1 e A3 in allegato). Per quanto riguarda le quantità di determinanti genici di resistenza, le differenze sono meno marcate (figura 4 e tabelle A2 e A3 in allegato). Nei punti di Figino e Ponte Tresa vi maggiore abbondanza del gene *intI* (rispettivamente $3.6*10^3$ e $3.1*10^3$ copie/ml) ed è stato possibile quantificare il gene *ermB* a differenza degli altri punti dove risultava assente o non quantificabile. Il gene *qnrS* è risultato non quantificabile o assente. Il punto di campionamento di Lugano è risultato avere una minore abbondanza di geni di resistenza (figura 4 e tabelle A2 e A3 in allegato).

2.3. Abbondanza relativa dei geni di resistenza e del gene intl

L'abbondanza relativa è espressa come rapporto tra la quantità assoluta di copie di un gene rispetto al numero totale di microorganismi presenti nel campione che è dato dalla quantità assoluta del gene *16S rDNA*. Esprimendo i dati come quantità relative, le differenze tra i punti di campionamento diventano meno significative (figura 5). La figura 5 e la tabella A4 (in allegato) riassumono i valori di abbondanza relativa dei geni indagati espressi in percentuale.

La maggior parte dei geni è compresa tra lo 0 e il 4%, solo il gene *intl* ha superato talvolta il 5% a Lugano, Gandria e Figino e ha raggiunto il 24% nel campionamento autunnale di Riva San Vitale.

Abbondanza assoluta geni, Lago Lugano

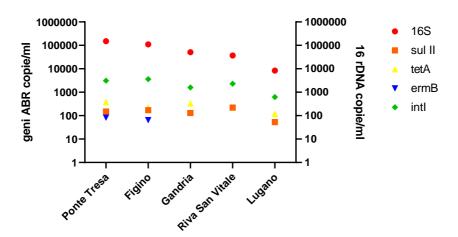


Figura 4: Medie stagionali dell'abbondanza assoluta del gene *16S rDNA*, dei geni di resistenza e del gene *intl*. La quantità è espressa in copie del gene per ml di acqua campionata su scala logaritmica.

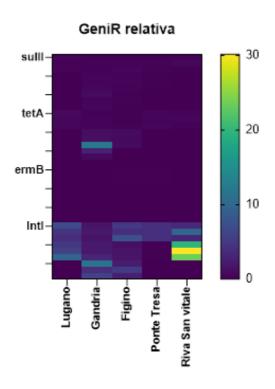


Figura 5: Heat map delle medie stagionali dell'abbondanza relativa dei geni di resistenza e del gene *int1* in relazione al gene *16S rDNA*. La quantità è espressa in percentuale.

3. Indagini batteriologiche

3.1. Conte batteriche totali

Il numero totale di batteri nel Lago è risultato essere molto basso. Il numero più alto di unità formati colonie per millilitro è stato trovato a Figino in autunno (62 UFC/ml) il più basso a Riva San Vitale in primavera (15 UFC/ml). I campioni raccolti in inverno non hanno prodotto alcuna crescita. Non si evidenziano né differenze stagionali né particolari differenze tra i diversi punti di campionamento (tabella 1).

Tabella 1. Conte totali mensili dei batteri presenti nei campionamenti del Lago, espresse in unità formanti colonie per millilitro (UFC/ml).

	Lugano	<u>Gandria</u>	<u>Figino</u>	Ponte Tresa	<u>Riva San Vitale</u>
Primavera	20	56	17	51	15
Autunno	16	42	62	42	52

3.2. Isolamento e identificazione di batteri resistenti agli antibiotici

Il numero totale di batteri multi-resistenti è stato determinato sommando le colonie cresciute sui vari terreni contenenti le combinazioni di antibiotici (vedi metodi). Anche in questo caso non si evidenziano differenze stagionali e nei campioni invernali non sono stati isolati batteri resistenti (figura 6). Il numero più alto di resistenti è stato trovato a Figino (8 UFC/ml in primavera e 11 UFC/ml in autunno), a Riva San Vitale (9 UFC/ml in primavera) e a Lugano (7 UFC/ml in primavera).

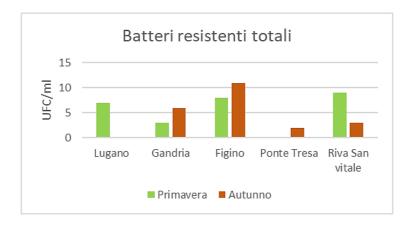


Figura 6: Conte totali stagionali dei batteri multi-resistenti presenti nei cinque punti di campionamento del Lago, espresse in unità formanti colonie per ml (UFC/ml).

Dall'identificazione delle colonie dei batteri multi-resistenti è emerso che le specie più diffuse sono *Acinetobater* e *Stenotrophomonas*. Il maggior numero di isolati è stato trovato nei punti di Gandria, Figino e Riva San Vitale (tabella 2).

Tabella 2: Distribuzione delle colonie di batteri multi-resistenti totali e degli isolati identificati nei diversi punti di campionamento. Il dato è espresso in UFC/mL

	<u>Lugano</u>	<u>Gandria</u>	<u>Figino</u>	Ponte Tresa	Riva San vitale
Comamonas	1	0	2	0	0
Acinetobacter	1	6	6	0	13
Brevundimonas	1	0	0	0	0
Stenotrophomonas	0	4	10	3	5
Pseudomonas	0	0	1	0	0
Aeromonas	0	0	0	1	0
Numero totale di colonie di batteri multi-resistenti	3	10	19	4	18

La ricerca dei geni di resistenza è stata eseguita tramite PCR sull'estratto di DNA ottenuto dal mix di colonie appartenenti allo stesso genere o famiglia cresciute sui terreni contenenti le varie combinazioni di antibiotici. La tabella 3 riassume la distribuzione dei determinanti di resistenza evidenziati nei pool batterici suddivisi secondo i campionamenti.

Tabella 3: Distribuzione dei determinanti genici di resistenza negli isolati identificati nei diversi punti di campionamento.

	<u>Figino</u>	<u>Gandria</u>	Ponte Tresa
	intl	intl	intl
Acinetobacter	x	x	
Aeromonas			X

Nel ceppo di *Aeromonas* isolato a Ponte Tresa e nei pool di *Acinetobacter* isolati da Figino e Gandria è stato trovato il gene per l'integrasi (*intI*). Nei campioni isolati non è stata rilevata la presenza dei geni di resistenza presi in considerazione in questo studio.

4. Confronto dei risultati delle analisi quantitative nel Lago (2016, 2019 e 2021)

Il confronto tra gli anni 2016, 2019 e 2021 è stato fatto per i campionamenti di primavera, autunno e inverno in quanto nel 2021 non è stato possibile eseguire il campionamento estivo. L'andamento del punto di prelievo di Figino è stato confrontato solo tra 2019 e 2021 poiché nel 2016 non era prevista la raccolta di campioni in questa zona e anche l'andamento del gene *intl* è stato confrontato solo tra 2019 e 2021 poiché per il 2016 non era prevista la quantificazione di questo target. Anche per quanto riguarda le analisi batteriologiche sono stati confrontati solo gli anni 2019 e 2021 poiché nel 2016 non era previsto l'isolamento dei batteri multi-resistenti.

4.1. Quantificazione e tendenza annuale della quantità assoluta e relativa dei determinanti genici di resistenza

Come si vede dalla figura 7, il confronto dei risultati dell'abbondanza negli anni 2016, 2019 e 2021 del gene *16S rDNA* mostra una diminuzione significativa (decremento medio di 2 Log).

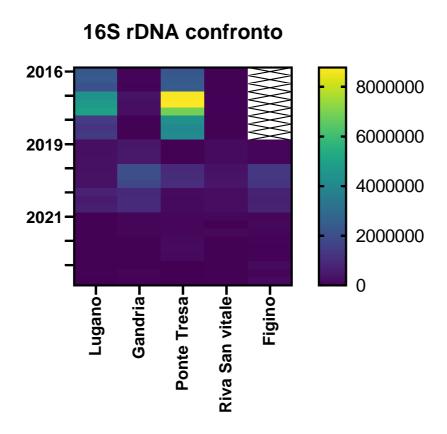


Figura 7: Heat map dell'andamento annuale dell'abbondanza del gene 16S rDNA, nel Lago. I valori sono espressi in copie/mL

Per quanto riguarda il confronto tra i geni di resistenza, in termini di abbondanza assoluta, c'è stato un aumento nel 2019 e una diminuzione nel 2021, soprattutto dei geni *sulII, tetA* e *ermB* (figura 8A), le differenze annuali sono meno marcate normalizzando le quantità dei geni di resistenza con il *16S rDNA* (figura 8B). Le differenze tra abbondanza assoluta e relativa dei geni di resistenza nel punto di Figino (confronto 2019 e 2021) non sono significative (figura A1 e A2 allegati).

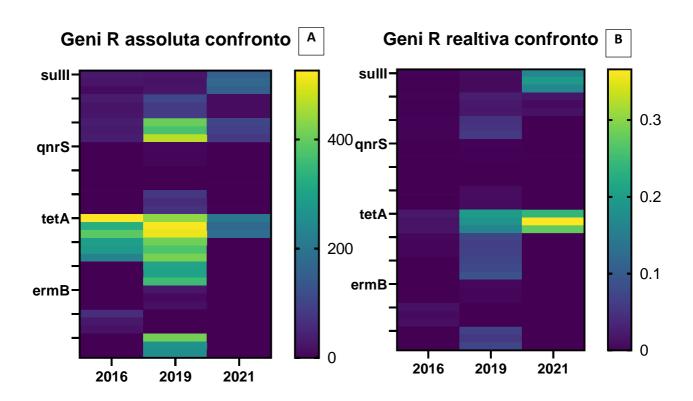


Figura 8: Andamento annuale dell'abbondanza assoluta (A) e relativa (B) dei geni di resistenza. Le quantità sono espresse in copie/ml (A) e in percentuale (B).

Per quanto riguarda il gene *intI* le differenze tra abbondanza assoluta e relativa sono molto evidenti. In termini di abbondanza assoluta non si evidenziano differenze significative tra i due anni (figura 9A). Al contrario la quantità relativa del gene *intI* nel 2021 è molto maggiore rispetto al 2019 (figura 9B). Una possibile spiegazione di questa discrepanza potrebbe essere che, nel 2021 si è verificata una forte diminuzione della popolazione batterica totale (gene 16S rDNA, figura 7) ma la quantità del gene *IntI* è rimasta invariata (figura 9 A).

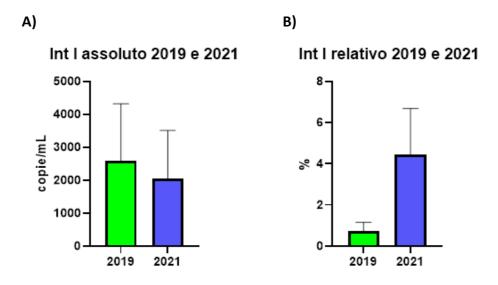


Figura 9: Andamento annuale (2019 e 2021) dell'abbondanza assoluta (A) e relativa (B) del gene *intl*. Le quantità sono espresse in copie/ml (A) e in percentuale (B). Le barre corrispondono alle deviazioni standard.

4.2. Confronto indagini batteriologiche 2019 e 2021

In linea con quanto risultato dalla quantificazione dei geni di resistenza e del gene *16S rDNA*, tra il 2019 e il 2021 c'è stata una significativa diminuzione dei batteri totali (figura 10A) e resistenti (figura 10B). Nei batteri multi resistenti isolati nel 2019 erano presenti più geni di resistenza (tabella A5).

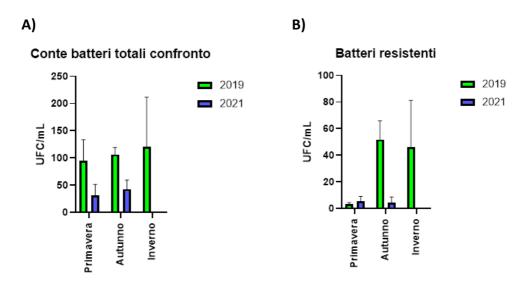


Figura 10: Confronto annuale (2019 e 2021) del numero totale di batteri (A) e di batteri resistenti (B). Le quantità sono espresse come unità formati colonie per mL. Le barre corrispondono alle deviazioni standard.

5. Conclusioni

Il Lago Lugano può essere considerato un serbatoio di geni di resistenza benché la quantità media dei geni non supera le 10³ copie/ml. I dati ottenuti mostrano il nesso tra resistenza agli antibiotici e impatto antropico. Infatti, i dati di presenza/assenza e quantificazione assoluta dei geni di resistenza nei diversi campioni analizzati dimostrano la maggiore positività dei campioni prelevati da acque sottoposte ad un maggior impatto antropico, nell'ordine Figino e Ponte Tresa che sono i due punti più influenzati dall'attività umana seguiti da Gandria e infine le due stazioni di captazione di acqua potabile Lugano e Riva San Vitale. Considerando il dato quantitativo normalizzato in base alla popolazione batterica totale (16S rDNA) le differenze diventano meno significative e in alcuni casi si è verificata un'inversione di tendenza con un aumento di resistenza (gene intI) nel punto di Riva San Vitale e una diminuzione nei punti di Figino e Ponte Tresa. Queste differenze sono dovute al fatto che, nel punto di prelievo di Riva San Vitale, a parità di copie/ml del gene intI si è verificata una diminuzione notevole del gene 16S rDNA. Potenzialmente potrebbero essere presenti meno batteri ma più resistenti. Il gene più diffuso in tutti i punti del Lago campionati e presente anche nei ceppi resistenti isolati è il gene intI. Questo gene è molto diffuso negli impianti di depurazione delle acque (Zheng et al., 2020) ed è stato trovato anche nei corsi d'acqua e nei laghi fortemente antropizzati (Di Cesare et al. 2020; Lyautey et al. 2021). Il gene intl, codifica per l'integrasi degli integroni clinici di classe 1 e che è un indicatore (proxy) di inquinamento di origine antropica (Gillings et al. 2015). I batteri che possiedono gli integroni sono in grado di reagire meglio in situazioni di stress acquisendo diversi geni dall'ambiente che gli consentono di esprimere nuove funzioni vantaggiose (Souque et al. 2021). Gli integroni hanno origine in clinica ma nel corso degli anni si sono diffusi in ambiente attraverso l'uomo (Gillings, 2018). I batteri isolati dal Lago Lugano che presentano il gene intl appartengono ai generi Aeromonas e Acinetobacter che sono considerati batteri prevalentemente ambientali ma in grado di acquisire e trasferire facilmente l'antibiotico-resistenza orizzontalmente a batteri, isolati nell'ambiente, ma presenti anche nella normale flora umana e animale con possibile rilevanza clinica (Manaia 2017). Stabilire una soglia di rischio d'infezione per l'uomo legato alla quantità di batteri resistenti nell'ambiente è probabilmente impossibile: la presenza di batteri resistenti al di sotto della dose infettiva non può essere associata ad un basso fattore di rischio perché i batteri sono in grado di moltiplicarsi velocemente nel corpo umano (Ben et al., 2019; Manaia, 2017; "Reflection Paper on Antimicrobial Resistance in the Environment: Considerations for Current and Future Risk Assessment of Veterinary Medicinal Products Reflection Paper on Antimicrobial Resistance in the Environment: Considerations for Current and Future," 2021).

Il confronto dei dati sulla diffusione dei determinanti di resistenza agli antibiotici delle tre campagne CIPAIS del 2016, del 2019 e del 2021 indica una sostanziale riduzione dei geni di

resistenza e dei batteri resistenti agli antibiotici in linea con il miglioramento della qualità delle acque, in termini di antibiotico resistenza, dei principali fiumi immissari (Vedeggio, Cassarate e Magliasina), come riportato nel rapporto CIPAIS 2020 (Rapporto CIPAIS 2020). L'andamento della resistenza nel corso dei tre anni risulta essere più significativo prendendo in considerazione la quantità assoluta dei determinati genici di resistenza. Questo dato conferma che, per provare a stabilire il rischio di trasmissione della resistenza in ambiente, non è sufficiente avere solo valori di abbondanza relativa o prevalenza ma è necessario considerare l'abbondanza assoluta. Infatti le cellule batteriche spesso si presentano in aggregati dove possono raggiungere dosi clinicamente rilevanti, anche se la loro abbondanza media in una data fonte è apparentemente bassa (Manaia 2017). A fini preventivi per la salute pubblica si dovrebbe perciò applicare il principio di precauzione e tendere al raggiungimento dei livelli più bassi possibili delle quantità di geni di resistenza e di batteri resistenti anche nell'ambiente acquatico. In una visione "One-Health", solo un monitoraggio continuo a medio-lungo termine permetterebbe di verificare i cambiamenti dello stato delle acque e di capire meglio il ruolo dell'ambiente nella diffusione di geni e di batteri resistenti.

6. Bibliografia

- Ben, Y., Fu, C., Hu, M., Liu, L., Wong, M. H., & Zheng, C. (2019). Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. Environmental Research, 169(July 2018), 483–493. https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.040
- Di Cesare, A., Eckert, E. M., Cottin, C., Bouchez, A., Callieri, C., Cortesini, M., Lami, A., & Corno, G. (2020). The vertical distribution of tetA and intI1 in a deep lake is rather due to sedimentation than to resuspension. *FEMS Microbiology Ecology*, *96*(2), 1–11. https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa002
- Gillings, M. R. (2018). DNA as a Pollutant: the Clinical Class 1 Integron. *Current Pollution Reports*, 4(1), 49–55. https://doi.org/10.1007/s40726-018-0076-x
- Gillings, M. R., Gaze, W. H., Pruden, A., Smalla, K., Tiedje, J. M., & Zhu, Y. G. (2015). Using the class 1 integron-integrase gene as a proxy for anthropogenic pollution. *ISME Journal*, 9(6), 1269–1279. https://doi.org/10.1038/ismej.2014.226
- Huijbers, P. M. C., Flach, C. F., & Larsson, D. G. J. (2019). A conceptual framework for the environmental surveillance of antibiotics and antibiotic resistance. *Environment International*, *130*(May), 104880. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.074
- Lyautey, E., Bonnineau, C., Billard, P., Loizeau, J. L., Naffrechoux, E., Tlili, A., Topp, E., Ferrari, B. J. D., & Pesce, S. (2021). Diversity, Functions and Antibiotic Resistance of Sediment Microbial Communities From Lake Geneva Are Driven by the Spatial Distribution of Anthropogenic Contamination. *Frontiers in Microbiology*, 12(October), 1–15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.738629
- Manaia, C. M. (2017). Assessing the Risk of Antibiotic Resistance Transmission from the Environment to Humans: Non-Direct Proportionality between Abundance and Risk. *Trends in Microbiology*, 25(3), 173–181. https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.11.014
- Martins, A. F., & Rabinowitz, P. (2020). The impact of antimicrobial resistance in the environment on public health. *Future Microbiology*, *15*(9), 699–702.
- Reflection paper on antimicrobial resistance in the environment: considerations for current and future risk assessment of veterinary medicinal products Reflection paper on antimicrobial resistance in the environment: considerations for current and futur. (2021). In *European medicine Agency*.
- Souque, C., Escudero, J. A., & Maclean, R. C. (2021). Integron activity accelerates the evolution of antibiotic resistance. *ELife*, *10*, 1–47. https://doi.org/10.7554/eLife.62474
- Su, S., Li, C., Yang, J., Xu, Q., Qiu, Z., Xue, B., Wang, S., Zhao, C., Xiao, Z., Wang, J., & Shen, Z. (2020). Distribution of antibiotic resistance genes in three different natural water bodies-a lake, river and sea. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(2), 1–12. https://doi.org/10.3390/ijerph17020552
- WHO. (2020). Antibiotic resistance Key Facts 2020.
- Zheng, W., Huyan, J., Tian, Z., Zhang, Y., & Wen, X. (2020). Clinical class 1 integron-integrase gene A promising indicator to monitor the abundance and elimination of antibiotic resistance genes in an urban wastewater treatment plant. *Environment International*, 135(December 2019), 105372. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105372

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano l'Ufficio federale dell'ambiente, l'Ufficio federale di meteorologia e climatologia (MeteoSvizzera) e i gestori degli impianti di depurazione di Lugano, Mendrisio e Pian Scairolo per la cortese fornitura dei dati. Particolari ringraziamenti vanno a Marco Simona per l'identificazione del fitoplancton e l'accompagnamento scientifico, a Giuseppe Ranieri e David Fontana del laboratorio dell'Ufficio del Monitoraggio Ambientale (UMAm) per la costante collaborazione, e a Rosa Maria Di Piazza e Mauro Veronesi per i commenti a una prima versione del rapporto.

AUTORI E COLLABORATORI

Autori

Camilla Capelli¹ Idrobiologa
Fabio Lepori¹ Idrobiologo
Federica Mauri² Microbiologa

Collaboratori

Stefano Beatrizotti Collaboratore tecnico

Christian Ciccarelli Laboratorista Paola Darold-Lanfranchi Laboratorista

Arturo Di Giacinto Collaboratore tecnico
David Fontana Capo laboratorista

Maurizio Pozzoni Idrologo Giuseppe Ranieri Chimico

Mirko Sargenti Laboratorista
Claudia Sartori Laboratorista
Marco Simona Idrobiologo
Manuela Simoni-Vassalli Laboratorista

Indirizzo degli autori

¹Istituto scienze della Terra, Dipartimento ambiente costruzioni e design, Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana (SUPSI), Campus Mendrisio, Via Flora Ruchat-Roncati 15, CH-6850 Mendrisio.

²Istituto microbiologia, Dipartimento ambiente costruzioni e design, Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana (SUPSI), Campus Mendrisio, Via Flora Ruchat-Roncati 15, CH-6850 Mendrisio.

COMMISSIONE INTERNAZIONALE PER LA PROTEZIONE DELLE ACQUE ITALO-SVIZZERE

Segretariato:

Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere c/o Regione Piemonte

Via Principe Amedeo, 17

I - 10123 Torino (Italia)

Tel: +39 011 432 16 12 Fax: +39 011 432 46 32

E-mail: cipais@regione.piemonte.it

www.cipais.org

APPENDICE I: Unità di misura

	prof.:		[m]
ı	m s.l.m. :	metri sul livello del mare	[m]
		secondi	[sec]
		ora	[h]
		giorno	[d]
		anno	[a]
	Q:	portata	$[m^3 s^{-1}]$
	Т:	temperatura	[°C]
		trasparenza	[m]
	torb :	torbidità	[FTU]
	C ₂₀ :	conducibilità elettrica specifica a 20°C	[µS cm ⁻¹]
	0 ₂ :	ossigeno disciolto	[mg L ⁻¹]
	BOD ₅ :	richiesta biochimica d'ossigeno	[mg L ⁻¹]
	pH:	concentrazione idrogenionica	[-]
	ALC:	alcalinità totale	[meq L ⁻¹]
	CO ₃ ²⁻ :	alcalinità da carbonati	[meq L ⁻¹]
	SRP:	fosforo reattivo disciolto	[µg L ⁻¹]
	TP:	fosforo totale	[µg L ⁻¹]
	SiO ₂ -Si:	silice reattiva	[mg L ⁻¹]
	NO ₂ -N:		[µg L ⁻¹]
	NO ₃ -N:	azoto nitrico	[mg L ⁻¹]
	NH ₄ +-N: TN:	azoto ammoniacale	[mg L ⁻¹]
	Fe ²⁺ :	azoto totale ferro disciolto	[mg L ⁻¹]
	re : Mn²+ :		[µg L ⁻¹]
	S ²⁻ :	manganese disciolto solfuro disciolto	[mg L ⁻¹]
	_		[µg L ⁻¹]
	CH₄ : DOC :	metano	[mg L ⁻¹]
	Cl ⁻ :	carbonio organico disciolto cloruro	[mg L ⁻¹] [mg L ⁻¹]
	Ci .	Cloruro	[IIIg L]
FITOPLANCTON		densità	[cellule L ⁻¹]
		biomassa (peso fresco)	[g PF m ⁻³]
		biomassa (peso secco)	[g PS m ⁻²]
	Chl <i>a</i> :	clorofilla a	[mg m ⁻³]
		produttività primaria volumetrica	[mg C m ⁻³ d ⁻¹]
		produzione primaria areale	[mg C m ⁻² d ⁻¹]
		produzione giornaliera	[g C $m^{-2} d^{-1}$]
		produzione annua	[g C m ⁻² a ⁻¹]
	PAR:	radiazione fotosintetica (400-700 nm)	$[\mu E m^{-2} s^{-1}] †$
		radiazione fotosintetica giornaliera	[E m ⁻² d ⁻¹] †
	e:	coefficiente d'estinzione della luce	[m ⁻¹]
	Z_{EUF} :	profondità della zona fotica	[m]
ZOOPLANCTON		biomassa dei crostacei (peso secco)	[g PS m ⁻²]
STATISTICA	%ile:	percentile	
† 1E (Einstein) ≡	1 mole di fo	otoni PAR s ⁻¹ m ⁻² ; 4.6 μmol s ⁻¹ m ⁻² (PAR) =	1 W m ⁻² (PAR)

⁸¹

APPENDICE II: Approfondimenti metodologici (Parte I)

Capitolo 3. I carichi dei maggiori nutrienti (Ptot e Ntot) veicolati dai tributari e dagli emissari dei bacini nord e sud sono stati stimati a partire da concentrazioni istantanee e valori di portata mensili (Beale 1962). I carichi dei bacini non campionati (bacino nord = 104 km², bacino sud = 87 km²) sono stati stimati in base ai carichi areali ("export coefficients") di due tributari essenzialmente privi di IDA, la Magliasina e il Livone, ritenuti rappresentativi di tutti i bacini scarsamente urbanizzati. I contributi dovuti agli abitanti rivieraschi (ARSPL) sono stati stimati in base al numero di abitanti non connessi a sistemi di depurazione e a valori medi di produzione annuale di Ntot e Ptot per abitante (Ferrario 2009). I contributi dovuti alle deposizioni atmosferiche sono stati calcolati in base alle deposizioni totali di azoto e alla media geometrica delle deposizioni di Ptot in Europa (0.033 g m-² a-¹; Tipping et al. 2014), assunta simile alla deposizione sul bacino lacustre. I flussi di Ntot e Ptot tra i due bacini del lago (veicolati dal canale che collega i due bacini a Melide) sono stati calcolati in base alle concentrazioni di Ntot e Ptot nel bacino nord (media valori a 0.4 m e 5 m di profondità) e a una stima della portata.

Capitolo 4. I dati riguardanti il livello del lago a Melide-Ferrera sono stati forniti da MeteoSvizzera. La temperatura è stata misurata quindicinalmente durante la campagna di indagini mediante una sonda multiparametrica. La trasparenza [m] è stata misurata con la stessa frequenza mediante il disco di Secchi. La profondità dello strato ben mescolato Z_{mix} delle acque del lago [m] è stata calcolata come la profondità alla quale la densità dell'acqua (calcolata a partire da conducibilità e temperatura) differisce di almeno 0.1 kg m⁻³ dal valore di superficie (Wilson et al. 2020). I dati di conducibilità sono stati raccolti durante la presente campagna. La stabilità (S) di un lago [J m⁻²] è il lavoro che sarebbe necessario applicare per mescolare la colonna d'acqua uniformemente, ossia per annullare i gradienti di temperatura e/o di salinità presenti tra la superficie e il fondo. Il calcolo è stato eseguito usando la seguente equazione:

 $S = 1/A_0 \int (z-z_g) A_z(\rho_z - \rho_m) dz$ [integrale tra superficie e profondità massima]

dove:

 $A_0 = \text{superficie del lago} \\ z = \text{profondità (misurata dal fondo)} \\ z_g = \text{profondità del centro di volume (misurata dal fondo)} \\ A_z = \text{area alla profondità z} \\ \rho_z = \text{densità dell'acqua alla profondità z} \\ \rho_m = \text{densità della colonna interamente mescolata} \\$

Capitolo 5. Le analisi chimiche del lago vengono effettuate dal laboratorio dell'Ufficio del Monitoraggio Ambientale dell'amministrazione del Canton Ticino. I parametri analizzati e i relativi limiti di quantificazione sono indicati nella Tabella A2.1.

Capitolo 6. I campionamenti di fitoplancton sono stati eseguiti con frequenza mensile durante tutto l'anno, e quindicinale da marzo a giugno. Il fitoplancton viene analizzato da un campione integrato nello strato compreso tra 0 e 20 m di profondità (comprendente la zona eufotica) raccolto con una bottiglia di Schröder. Due sub-campioni (*ca.* 200 mL) vengono fissati immediatamente con soluzione di Lugol e formalina (1%). Il conteggio del fitoplancton viene effettuato con un microscopio invertito (ingrandimento 100-400X) secondo il metodo Utermöhl.

La clorofilla α viene misurata sia su campione integrato nello strato 0-20 m raccolto con frequenza quindicinale mediante bottiglia di Schröder, sia su 11 campioni raccolti a profondità discrete nello strato 0-20 m con bottiglia di Niskin con frequenza mensile da novembre a febbraio e quindicinale tra marzo ed ottobre. La concentrazione di clorofilla α viene determinata in laboratorio mediante analisi spettrofotometrica (estrazione in etanolo).

La clorofilla a viene misurata inoltre mediante lettura fluorimetrica $in\ vivo$ con la sonda TriLux (Chelsea Technology Groups) installata sulla sonda multiparametrica Idronaut, con frequenza quindicinale. Con lo stesso sensore viene determinata la concentrazione di ficocianina, attraverso una stima del contributo relativo della ficocianina alla fluorescenza della clorofilla a. Questo indice si basa sul principio che l'energia assorbita dai diversi pigmenti fotosintetici viene rapidamente trasferita alla clorofilla a, e una parte dell'energia viene poi riemessa come fluorescenza con un picco di 685nm.

La produzione primaria viene misurata con il metodo della bottiglia chiara-bottiglia scura, attraverso la determinazione del tasso di assimilazione di carbonio radioattivo (¹⁴C) con scintillazione liquida. Un riassunto dei metodi utilizzati per lo studio del fitoplancton è presentato di seguito in Tabella A2.2.

Tabella A2.1. Limiti di quantificazione (L.Q.) e metodi usati nella determinazione dei parametri chimici.

	<u>Parametro</u>	L.Q.	<u>Unità</u>	<u>Metodo</u>
Cationi	Ammonio, NH ₄ + (come N)	12	μg/L	Spettrometria UV-Vis
	Ferro disciolto	1	μg/L	ICP-MS
	Manganese disciolto	0.1	μg/L	ICP-MS
Anioni	Nitrato (come N)	0.02	mg/L	Cromatografia ionica
	Nitrito (come N)	0.2	μg/L	Cromatografia ionica
	Ortofosfato (come P)	2	μg/L	Cromatografia ionica
	Solfato	0.08	mg/L	Cromatografia ionica
Altro	Alcalinità totale	0.001	meq/L	Potenziometria
	Alcalinità da carbonati	0.001	meq/L	Potenziometria
	Carbonio organico disciolto (DOC)	0.05	mg/L	Ossidazione a combustione catalitica
	Conduttività (25°C)	1	μS/cm	Potenziometria
	Azoto totale (come N)	0.15	mg/L	Spettrometria UV/Vis
	Fosforo totale (come P)	6	μg/L	Spettrometria UV/VisS
	Silice (come Si)	0.06	mg/L	ICP-MS
	Ossigeno disciolto	0.5	mg/L	Potenziometria
	BOD₅	1.0	mg/L	Potenziometria
	Metano	0.2*	μg/L	Gas cromatografia
	Idrogeno solforato	6	μg/L	Spettrometria UV/VIS

Note: * concentrazioni indicative poiché dipendenti dalle condizioni atmosferiche al momento della preparazione. Il limite va ricalcolato in base al volume effettivo quindi risulta variabile.

Capitolo 7. Lo zooplancton viene campionato mediante pescate verticali realizzate con un retino (maglia 100 µm) tra 50 m di profondità e la superficie. I campionamenti vengono effettuati con cadenza bisettimanale tra marzo e giugno, quando si attendono picchi di abbondanza stagionali, e mensile durante il resto dell'anno. L'analisi dei campioni raccolti comprende un conteggio delle specie e una stima della loro biomassa (Tabella A2.3). L'abbondanza delle singole specie per unità di superficie viene calcolata moltiplicando il numero di individui campionati per il volume di acqua filtrato dal retino. Per ottenere una stima della biomassa, per ogni categoria tassonomica identificata viene misurata la lunghezza corporea di 20 individui mediante una scala oculare micrometrica. Successivamente, le lunghezze vengono usate per calcolare biomasse individuali mediante modelli lunghezza-peso (Bottrell et al. 1976). La biomassa di ogni taxon viene infine calcolata moltiplicando l'abbondanza per la biomassa media individuale. Per esaminare la struttura tassonomica,

i crostacei zooplanctonici sono stati suddivisi in famiglie. Per esaminare la struttura trofica, gli stessi organismi sono stati suddivisi in erbivori, carnivori, omnivori ed erbivori-omnivori (Tabella A2.4).

Tabella A2.2. Metodi applicati nello studio del fitoplancton.

	<u>Biomassa</u>	Clorofilla a		Produzione primaria
Profondità di campionamento	campione integrato (0-20m)	campioni discreti (11 profondità tra 0- 20m)	campione integrato (0-20 m)	campioni discreti (11 profondità tra 0-20 m)
Frequenza di campionamento	16	20	24	12
	(1 campionamento al mese da luglio a febbraio; 2 campionamenti al mese da marzo a giugno)	(1 campionamento al mese da novembre a febbraio; 2 campionamenti al mese da marzo ad ottobre)	(2 campionamenti al mese)	(1 campionamento al mese)
Metodo di campionamento	Bottiglia di Schröder (0-20m)	Bottiglia di Niskin (5 L)	Bottiglia di Schröder (0-20m)	Metodo bottiglia chiara/bottiglia scura
Metodo di analisi	Quantitativo con microscopio invertito su campioni fissati in Lugol o Formalina (1%)	Spettrofotometria	Spettrofotometria	Scintillazione liquida (¹⁴ C)
Riferimento bibliografico	UNI EN 15204:2006 (Tecnica UTERMÖHL)	ISO-10260 1992 E	ISO-10260 1992 E	Nielsen ES. 1952 Schindler et al. 1972

Tabella A2.3. Metodi applicati nello studio dello zooplancton.

		Abbondanza e biomassa
Profondità campionamento	di	Campione integrato (0-50 m)
Frequenza	di	16 volte all'anno
campionamento		(1 campionamento al mese da luglio a febbraio; 2 campionamenti al mese da marzo a giugno)
Metodo di campioname	ento	Pescata verticale con retino da plancton (maglia100 μm)
Metodo di analisi		Conteggio e misura allo stereoscopio su campioni fissati in etanolo

Tabella A2.3. Categorie trofiche dei maggiori gruppi (o specie) di zooplancton da crostacei.

<u>Taxon</u>	Categoria trofica
Copepodi ciclopoidi	
Nauplii	erbivori†
copepoditi CI-CII	erbivori†
copepoditi CIII-CV	Omnivori
Adulti	Omnivori
Copepodi calanoidi	
Nauplii	erbivori†
copepoditi CI-CII	erbivori†
copepoditi CIII-CV	erbivori-omnivori
adulti di <i>Eudiaptomus gracilis</i>	erbivori-omnivori
Cladoceri	
Bosmina longicornis	erbivori†
Daphnia longispina-galeata	erbivori†
Diaphanosoma brachyurum	erbivori†
Leptodora kindtii	Carnivori
Bythotrephes longimanus	Carnivori

[†]Nell'erbivoria viene incluso anche il consumo di protozoi non-fotosintetici.

Bibliografia (Appendice II)

- Beale, E.M.L., 1962. Some uses of computers in operational research. Industrielle Organisation 31, 27-28.
- Bottrell, H.H., Duncan, A., Gliwicz, Z.M., et al. 1976. A review of some problems in zooplankton production studies. Norwegian Journal of Zoology 24, 419-456.
- Ferrario, L., 2009. Quantificazione e caratterizzazione dei carichi di nutrienti in entrata al lago di Lugano (Svizzera-Italia). Tesi di Laurea. Università degli Studi dell'Insubria. 135 pp.
- ISO 10260:1992. Water quality Measurement of biochemical parameters Spectrometric determination of the chlorophyll-*a* concentration.
- Nielsen, E.S. 1952. The use of radio-active carbon (¹⁴C) for measuring organic production in the sea. Journal du Conseil Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer 18, 117-140.
- Schindler, D.W., Schmidt, R.V. and Reid, R.A. 1972. Acidification and bubbling as an alternative to filtration in determining phytoplankton production by the ¹⁴C method. Journal of the Fisheries Board of Canada 29, 1627-1631.
- Tipping E., Benham S., Boyle J.F., et. al. 2014. Atmospheric deposition of phosphorus to land and freshwater. Environmental Science: Processes & Impacts; 16, 1608-17.
- UNI EN 15204, 2006. Water quality- Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique).
- Wilson, H.L., Ayala, A.I., Jones, I.D., et al. 2020. Variability in epilimnion depth estimations in lakes. Hydrol. Earth Syst. Sci., 24, 5559–5577. https://doi.org/10.5194/hess-24-5559-2020

APPENDICE III: Approfondimenti metodologici (Parte II)

Analisi molecolari per l'identificazione e la quantificazione dei geni di resistenza e del gene intl.

La Tabella A3.1 riassume i geni indagati durante il 2021 in tutti i campioni. Si tratta di 5 geni che danno resistenza alle classi di antibiotici maggiormente utilizzate in medicina umana e veterinaria. Oltre ai geni di resistenza è stato quantificato anche il gene *intl* che codifica per l'integrasi degli integroni di classe I, potenziali marcatori molecolari dell'impatto antropico sulle popolazioni batteriche ambientali e coinvolti anche nella diffusione delle resistenze (Gillings et al., 2015; Nardelli et al., 2012; Stalder et al., 2012; Zheng et al., 2020).

Tabella A3.1 Classi degli antibiotici e relativi geni che conferiscono resistenza analizzati nello studio. Per ogni gene è indicato anche il meccanismo che induce resistenza all'antibiotico e la localizzazione.

Classe antibiotico	Gene indagato	Meccanismo di resistenza e localizzazione	Localizzazione
Fluorochinoloni	qnrS	Codifica per una forma mutata della proteina bersaglio che non viene riconosciuta dall'antibiotico.	Plasmidio
Sulfamidici	sulII	Codifica per una forma alternativa della proteina bersaglio che non viene riconosciuta dall'antibiotico.	Plasmidio
Tetracicline	tetA	Codifica per una pompa a efflusso che elimina l'antibiotico dalla cellula.	Plasmidio
Macrolidi	ermB	Codifica per una metilasi che modifica la proteina bersaglio rendendola irriconoscibile dall'antibiotico.	Cromosoma o plasmidio

I metodi utilizzati per le analisi molecolari, conformi a quelli implementati dal Water Research Institute di Verbania, sono sostanzialmente gli stessi impiegati nel 2020 (rapporto CIPAIS 2020). Il DNA dei controlli positivi di ogni gene (standard) è stato purificato e quantificato per creare la curva di calibrazione (Di Cesare et al., 2013). Il limite di quantificazione (LOQ: limit of quantification), che corrisponde alla concentrazione minima degli standard che lo strumento è in grado di quantificare, è stato determinato come descritto da Czekalski et al. (Czekalski et al., 2014). Nella Tabella A.3.2 sono riportati i valori di LOQ (copie/ml) per i geni considerati in questo studio.

Lo strumento per l'analisi quantitativa dei campioni è il termociclatore 7500/7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems) e la quantificazione è effettuata attraverso marcatura con Fast SYBRTM Green Master Mix (Applied Biosystems). I risultati sono espressi sia come abbondanza assoluta (copie del gene per ml di acqua filtrati) sia come abbondanza relativa (tramite normalizzazione al numero di copie del gene 16S rDNA, utilizzato come indicatore del numero totale di cellule batteriche). I campioni nei quali la presenza di un gene non era quantificabile sono stati valutati unicamente per presenza/assenza del determinante di resistenza

Indagini batteriologiche

Per la carica batterica totale (Total Viable Count), o conta dei germi aerobi mesofili, è stata utilizzata la tecnica delle membrane filtranti che consiste nel filtrare un volume conosciuto di campione attraverso una membrana di cellulosa di porosità 0,45 µm che viene poi posta in una piastra contenete il terreno PCA (Plate Count Agar). Dopo incubazione in termostato a 30°C per 48 ore vengono contate tutte le colonie batteriche che si sono sviluppate. La quantità di batteri è espressa in unità formanti colonie per ml di acqua filtrata (UFC/ml). Per determinare la presenza di batteri multi-resistenti nei campioni d'acqua è stata utilizzata la stessa tecnica ma le membrane sono state poste su piastre selettive

contenenti diverse combinazioni di antibiotici. Di seguito sono riportate le combinazioni scelte: CIP: CTX (ciprofloxacina : cefotaxime) $2:4\ \mu g/ml$; NOR: CEF (norfloxacina : cepfodoxime) $4:8\ \mu g/ml$; CLR: TE (claritromicina : tetraciclina) $4:8\ \mu g/ml$. Da ogni piastra sono state isolate da un minimo di 5 a un massimo di 30 colonie la cui identificazione, a livello di genere o specie, è stata effettuata mediante MALDI-TOF MS. Dai batteri multi-resistenti, raggruppati in base alla famiglia, genere o specie, è stato estratto il DNA per determinare la presenza di geni di resistenza mediante PCR. I geni ricercati sono stati gli stessi quantificati nei campioni d'acqua (Tabella 1), compreso il gene per l'integrasi. Lo scopo è stato di cercare di individuare quali batteri possono fungere da serbatoi/vettori di geni di resistenza

Tabella A3.2 Limite di quantificazione dei geni presi in considerazione in questo studio; i valori sono espressi in copie/ml. È indicato anche il valore di R² ricavato dalla retta standard.

Standard	R ²	LOQ (copie/ml)
16SrRNA	0.99	53
sulli	0.99	23
qnrS	0.98	60
ermB	0.99	43
tetA	0.98	33

Bibliografia (Appendice III)

- Czekalski, N., Gascón Díez, E., & Bürgmann, H. (2014). Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake. ISME Journal, 8(7), 1381–1390. https://doi.org/10.1038/ismej.2014.8
- Di Cesare, A., Luna, G. M., Vignaroli, C., Pasquaroli, S., Tota, S., Paroncini, P., & Biavasco, F. (2013). Aquaculture Can Promote the Presence and Spread of Antibiotic-Resistant Enterococci in Marine Sediments. PLoS ONE, 8(4), e62838. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062838
- Gillings, M. R., Gaze, W. H., Pruden, A., Smalla, K., Tiedje, J. M., & Zhu, Y. G. (2015). Using the class 1 integron-integrase gene as a proxy for anthropogenic pollution. ISME Journal, 9(6), 1269–1279. https://doi.org/10.1038/ismej.2014.226Nardelli, M., Scalzo, P. M., Ramírez, M. S., Quiroga, M. P., Cassini, M. H., & Centrón, D. (2012). Class 1 integrons in environments with different degrees of urbanization. PloS One, 7(6), e39223. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039223
- Stalder, T., Barraud, O., Casellas, M., Dagot, C., & Ploy, M.-C. (2012). Integron involvement in environmental spread of antibiotic resistance. Frontiers in Microbiology, 3(April), 119.
- Zheng, W., Huyan, J., Tian, Z., Zhang, Y., & Wen, X. (2020). Clinical class 1 integron-integrase gene A promising indicator to monitor the abundance and elimination of antibiotic resistance genes in an urban wastewater treatment plant. Environment International, 135(December 2019), 105372. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105372

Allegati Parte II

Tabella A1. Triplicati stagionali qPCR della quantità assoluta del gene 16S rDNA per ogni punto di campionamento. In estate non è stato possibile raccogliere il dato per problemi tecnici.

	Lugano	Gandria	Figino	Ponte Tresa	Riva San vitale
	18600	94000	126000	120000	143000
Primavera	25600	78000	147000 106000		46600
	28300	92000	78600	109000	141000
	1330	11100	63000	196000	200
Autunno	1140	11800	43100	208000	220
	840	7150	37800	176000	191
	52	28500	193000	0	755
Inverno	54	81800	87600	0	327
	0	51300	182000	0	1070

Tabella A2. Triplicati stagionali qPCR della quantità assoluta dei geni di resistenza e del gene per l'integrasi *intl*, per ogni punto di campionamento. In estate non è stato possibile raccogliere il dato per problemi tecnici.

		Lugano	Gandria	Figino	Ponte Tresa	Riva San vitale
	Primavera	49	151	205	162	246
		51	152	286	196	245
		60	158	299	177	159
		0	31	114	79	0
sulII	Autunno	0	30	111	40	0
		0	30	83	57	0
		0	214	169	240	0
	Inverno	0	222	119	198	0
		0	185	109	172	0
		118	153	60	354	265
	Primavera	118	165	89	361	182
		123	164	92	411	209
		0	100	472	0	0
tetA	Autunno	0	113	305	0	0
		0	864	289	0	0
	Inverno	0	754	0	0	0
		0	576	0	0	0
		0	0	0	0	0
		0	0	51	85	0
	Primavera	0	0	88	89	0
		0	0	57	75	0
		0	0	0	0	0
ermB	Autunno	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
	Inverno	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0
		1260	1400	6270	4820	4720
	Primavera	1160	1490	5700	4170	4630
		1060	1390	5710	4440	4300
		64	223	708	56.9	39
intl	Autunno	66	214	654	92.7	66
		80	216	565	82.5	45
		0	3240	4380	5070	0
	Inverno	0	3220	4370	4620	0
		0	3000	4490	4320	0

Tabella A3. Medie (M) stagionali e deviazioni standard (SD) delle quantità assolute del gene 16S rDNA, dei geni di resistenza e del gene per l'integrasi *intl*, per ogni punto di campionamento.

	16S rL	ONA	sul	II .	tet	4		ermB	intl	
	М	SD	M	SD	M	SD	М	SD	M	SD
Ponte Tresa	150000	2800	150	3	380	4	83	0.4	3100	55
Figino	110000	13000	170	10	220	79	65	3	3600	63
Gandria	51000	8200	130	9.2	330	18	0	4	1600	190
Riva San Vitale	37000	22000	220	17	220	54	0	11	2300	150
Lugano	8400	32000	53	28	120	22	0	0	620	120

Tabella A4. Abbondanza relativa dei geni di resistenza e del gene per l'integrasi *intl*, espressa come percentuale in relazione al gene 16S rDNA.

		Lugano	Gandria	Figino	Ponte Tresa	Riva San vitale
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Primavera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
sulli	Autunno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
	Inverno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
	Primavera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
tetA	Autunno	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
		0.00	0.12	0.01	0.00	0.00
		0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
	Inverno	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Primavera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ermB	Autunno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Inverno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.07	0.01	0.05	0.04	0.03
	Primavera	0.05	0.02	0.04	0.04	0.10
		0.04	0.02	0.07	0.04	0.03
		0.05	0.02	0.01	0.00	0.20
intl	Autunno	0.06	0.02	0.02	0.00	0.30
		0.10	0.03	0.01	0.00	0.23
		0.00	0.11	0.02	0.00	0.00
	Inverno	0.00	0.04	0.05	0.00	0.00
		0.00	0.06	0.02	0.00	0.00

Figino geni R assoluto

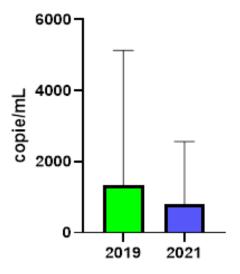


Figura A1 Abbondanza assoluta dei geni di resistenza nel punto di Figino. Confronto 2019 e 2021.

Figino geni R realtivo

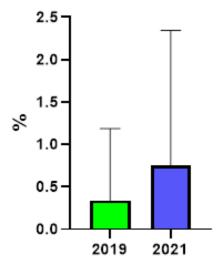


Figura A2. Abbondanza relativa dei geni di resistenza nel punto di Figino. Confronto 2019.

Tabella A5: Distribuzione dei determinanti di resistenza negli isolati identificati nei campionamenti del Lago nel 2019

															LAGO														
			Lugano	ano					Gandria	dria					Figino					Pon	Ponte Tresa					Riva San Vitale	Vitale		
	bla co.n.	II Jos	durs	blocx w sull qnrS tetA emB intl	erm B	imt	blacom sull	II Ins	durs	tetA	erm B	imt	bla co.m.	ll lns	qnrS te	tet A em	erm B in	imt bk	blo cox m	II qurS	S tet A	l erm B	3 intl	bla coss	blactxm suf II	qurS	tetA	ermB	intl
Stenotrophomonas spp.			-				-	-		-		-								-		-		•	-		-	-	
Acinetobacter spp.																		-		•	٠								
Flavobacteriaceae					,									,						•	•	•		•					
Aeromonas spp.					,							+			,			-		+	+	+	+			+			+
Brevundimonas spp.				,	,					,	,	,		,	,	· •	•		•	•	'	•		•				,	
Enterobatteriacee ambientali	+	•	•			,	•			,	,			,	,	·			'	'	'	•	,	•	•		,	,	
E. coli	٠	٠																			+	٠	+	٠					
Klebsiella spp.										+										•	٠	٠							
Citrobacter spp.																				٠	•	٠							