

Commissione internazionale
per la protezione delle acque italo-svizzere



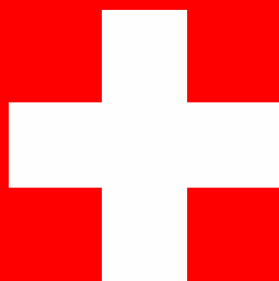
PROGRAMMA TRIENNALE 2022-2024

CAMPAGNA 2022

**RICERCHE SULL'EVOLUZIONE DEL LAGO DI LUGANO
ASPETTI LIMNOLOGICI**

a cura di
Fabio Lepori

Mendrisio, 2023



Commissione Internazionale
per la protezione delle acque italo-svizzere

RICERCHE SULL'EVOLUZIONE DEL
LAGO DI LUGANO

Sezione Limnologia

Programma triennale 2022–2024
Campagna 2022

DACD-SUPSI
Sede di Mendrisio

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

DACD SUPSI. 2023. Ricerche sull'evoluzione del Lago di Lugano. Aspetti limnologici. Programma triennale 2022-2024. Campagna 2022. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 83 pp.

SOMMARIO

INTRODUZIONE.....	5
Sintesi.....	6
Summary	8
Inquadramento geografico e stazioni di campionamento.....	10
1. INQUADRAMENTO METEOROLOGICO	12
1.1 Sintesi annuale	12
2. CORSI D'ACQUA: QUALITÀ E CARICHI DI NUTRIENTI	14
2.1 Portate	14
2.2. Qualità delle acque.....	15
2.3. Carichi	17
2.3.1. Carichi veicolati dai tributari maggiori e dall'emissario.....	17
2.3.2. Carichi totali.....	18
3. LAGO: CARATTERISTICHE FISICHE	20
3.1. Livello lacustre.....	20
3.2. Trasparenza e luce.....	20
3.3. Temperatura	22
3.4. Profondità di mescolamento e stabilità	24
4. LAGO: CARATTERISTICHE CHIMICHE	26
4.1. Alcalinità e pH	26
4.2. Ossigeno disciolto e sostanze ridotte	26
4.3. Macronutrienti (fosforo e azoto)	27
4.4. Golfi secondari.....	39
5. FITOPLANCTON	42
5.1. Biomassa e composizione tassonomica.....	42
5.2. Pigmenti fotosintetici	45
5.3. Produzione primaria	47
5.4. Golfi secondari	48
5.5. Cianotossine	49
6. ZOOPLANCTON A CROSTACEI	52
6.1. Biomassa e composizione tassonomica.....	52
6.2. Struttura trofica	53
7. IMMAGINI SATELLITARI	55
7.1. Temperature superficiali	55
7.2. Clorofilla <i>a</i>	55

8. MONITORAGGIO DI DETERMINANTI GENICI DI RESISTENZA IN ALCUNI CORSI D'ACQUA	58
8.1. Programma 2022	58
8.2. Resistenza agli antibiotici in ambiente acquatico: aspetti generali e ruolo degli impianti di depurazione	58
8.3. Punti di campionamento e prelievi.....	59
8.4. Identificazione e quantificazione di determinanti genici di resistenza agli antibiotici. 60	
8.4.1. Presenza/assenza di determinati genici di resistenza e del gene intI.....	60
8.4.2. Abbondanza assoluta e abbondanza relativa dei geni di resistenza e del gene intI	60
8.5. Indagini batteriologiche	62
8.5.1. Conte totali e isolamento batteri multi-resistenti	62
8.6 Confronto con parametri chimico-fisici	64
8.7 Conclusioni	66
CONCLUSIONI.....	72
ALLEGATI.....	74
ELENCO DEGLI AUTORI E COLLABORATORI.....	83

INTRODUZIONE

Il presente rapporto illustra i risultati emersi dalle ricerche sul Lago di Lugano realizzate dal Dipartimento ambiente, costruzioni e design della SUPSI (DACD-SUPSI) nel corso del 2022 per conto della Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere (CIPAIS).

Le ricerche 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 segnata da un processo di eutrofizzazione (seconda metà del Novecento) e da una successiva fase di risanamento, i principali aspetti da sorvegliare comprendono i carichi di fosforo, l'ossigenazione e lo stato di trofia delle acque. D'altro canto, l'attività di ricerca mira a mettere integralmente in luce la complessità delle problematiche ambientali che gravano sul lago. Per rappresentare almeno parzialmente queste problematiche, le ricerche si sono progressivamente diversificate, estendendosi a coprire, per esempio, le conseguenze dei cambiamenti climatici, le fioriture di alghe potenzialmente nocive e la presenza di batteri antibiotico-resistenti.

I risultati delle ricerche illustrati nel rapporto confluiscono negli indicatori e nelle linee guida descritte nel Pannello di Controllo e nel Piano d'Azione CIPAIS (www.cipais.org). In particolare, i risultati di seguito riportati afferiscono alle seguenti linee di ricerca della Sezione 1 (Limnologia):

- indagini sugli indicatori chimici della qualità dei corsi d'acqua e sugli apporti di nutrienti veicolati dal bacino al lago (carichi esterni);
- indagini sugli indicatori dello stato fisico del lago;
- indagini sugli indicatori dello stato chimico del lago;
- indagini sugli indicatori concernenti il fitoplancton, i pigmenti algali e la produzione primaria;
- indagini sugli indicatori concernenti lo zooplancton a crostacei;
- analisi delle temperature e delle concentrazioni di clorofilla superficiali a partire da immagini satellitari;
- analisi della presenza e distribuzione di batteri antibiotico-resistenti nelle acque dei tributari.

Sintesi

Vengono presentati i risultati raccolti nel 2022 nell'ambito delle ricerche limnologiche sul bacino del Lago di Lugano. Le ricerche sono state realizzate dal DACD-SUPSI su mandato della CIPAIS.

Il 2022 è stato un anno eccezionalmente caldo e secco. A Lugano, la temperatura media annuale (14.4°C) ha superato di 1.4°C la norma (media 1991-2020). I periodi più secchi sono stati l'inverno 2021-22 e la primavera 2022, con precipitazioni ridotte al 23-38% della norma.

La qualità chimica dei corsi d'acqua è risultata carente. Solo in tre degli otto corsi d'acqua monitorati tutti gli indicatori sono risultati almeno sufficienti (Cassarate, Magliasina e Tresa). Negli altri cinque (Livone, Bolletta, Laveggio, Cuccio e Vedeggio), la qualità è risultata cattiva (almeno un indicatore assegnato a qualità cattiva).

Gli apporti esterni di fosforo sono stati stimati pari a 11 t per il bacino nord e 17 t per il bacino sud. Questi valori relativamente bassi si iscrivono in una tendenza pluriennale alla diminuzione (si veda per esempio il rapporto pluriennale 2022).

Le indagini sulla fisica lacustre hanno evidenziato una migliorata trasparenza delle acque e delle circolazioni superiori alla norma per profondità o durata. Nel bacino nord, la circolazione tardo-invernale si è spinta fino a 73 m di profondità, un valore che supera di quasi 10 m la media di lungo termine. Nel bacino sud, la circolazione ha raggiunto il fondo già a fine gennaio e il mescolamento si è protratto, insolitamente, per almeno un mese. Un secondo aspetto inconsueto delle circolazioni del 2022 riguarda la temperatura dello strato mescolato, risultata sensibilmente più alta del solito (6.5-6.6°C).

Grazie alle buone circolazioni, il lago si è riossigenato fino a 60-70 m nel bacino nord e fino sul fondo nel bacino sud. Ciononostante, il consumo ipolimnetico di ossigeno ha riportato condizioni di ipossia o anossia negli strati più profondi a partire dall'estate. Il rifornimento di fosforo nello strato produttivo (0-20 m) alla circolazione ha determinato picchi di 15 µg P_{tot} L⁻¹ nel bacino nord e 34 µg P_{tot} L⁻¹ nel bacino sud.

Il fitoplancton è stato dominato dalle cianofite, seguite dalle diatomee, mentre è stato poco evidente il classico sviluppo estivo delle clorofite. Tra le cianofite è stata dominante *Planktothrix rubescens*, accompagnata da altri generi filamentosi. La distribuzione della clorofilla *a* ha mostrato un picco primaverile esteso all'intera zona eufotica, seguito da un accumulo a ridosso del termocline in estate, dovuto alle cianofite metalimnetiche. La produzione primaria annuale è stata relativamente elevata, pari a 265 g C m⁻² anno⁻¹ a Gandria e 315 g C m⁻² anno⁻¹ a Figino (circa il doppio dell'obiettivo CIPAIS di 150 g C m⁻² anno⁻¹).

Uno nuovo studio sulla presenza di cianotossine (microcistine) nello strato produttivo del lago (0-20 m di profondità) ha evidenziato picchi di microcistine in primavera nel bacino sud e in estate nel bacino nord. In entrambi i bacini i massimi sono stati raggiunti tra i 10 e i 20 m di profondità, probabilmente dovuti a un accumulo di *P. rubescens*. Durante la circolazione, le microcistine sono scese fino alla profondità di 40 m, suggerendo un potenziale problema per la captazione di acqua potabile, che solitamente avviene a questa profondità.

Le biomasse medie dello zooplancton a crostacei sono state nuovamente basse (1.7 g PS m⁻² sia a Gandria che a Figino). I copepodi ciclopoidi sono stati numericamente dominanti, mentre sono stati insolitamente scarsi i cladoceri, che tendono a essere maggiormente colpiti da sviluppi di cianofite.

L'analisi di immagini satellitari ha mostrato fasi di riscaldamento e raffreddamento delle acque superficiali disomogenee nei diversi bacini lacustri. I valori ricostruiti di clorofilla *a* superficiale hanno evidenziato un contrasto fra i mesi autunnali-invernali, con concentrazioni elevate probabilmente dovute a sospensione delle cianofitiche metalimnetiche nella colonna d'acqua, e quelli primaverili-estivi, con concentrazioni piuttosto basse, coerenti con l'accumulo di biomassa fitoplanctonica nel metalimnio.

Le indagini sull'antibiotico-resistenza confermano che i corsi d'acqua situati in zone fortemente antropizzate possono rappresentare serbatoi di geni di resistenza agli antibiotici e di batteri resistenti. L'abbondanza dei geni di resistenza e dei batteri resistenti è risultata maggiore a valle degli impianti di depurazione, dimostrando l'importanza di questi impianti nella diffusione delle resistenze in ambiente.

Nell'ottica di un bilancio annuale, si evidenziano la diminuzione del carico di nutrienti e la migliorata trasparenza delle acque tra gli aspetti positivi, e la dominanza di cianobatteri tossici, l'insufficiente ossigenazione delle acque profonde e la diffusione di geni di antibiotico-resistenza tra quelli che richiederanno particolare attenzione in futuro.

Summary

This report presents the results of limnological research on Lake Lugano watershed carried out in 2022 by DACD-SUPSI on behalf of CIPAIS.

The year 2022 was exceptionally warm and dry. In Lugano, the average annual air temperature (14.4°C) exceeded the long-term average (1991-2020) by 1.4°C. The driest seasons were winter (2021-22) and spring (2022), with precipitation reduced to 23-38% of the long-term respective averages.

The water quality of the watercourses was unsatisfactory. Only in three of eight monitored watercourses were all water-quality indicators at least sufficient (Cassarate, Magliasina and Tresa). In the other five watercourses (Livone, Bolletta, Laveggio, Cuccio and Vedeggio), water quality was poor (at least one indicator assigned to poor quality). The estimated external phosphorus loadings were 11 t for the north basin and 17 t for the south basin. These relatively low values are consistent with a long-term downward trend observed in previous analyses (see for example the multiannual 2022 report).

The analysis of physical lake indicators pointed to an improvement in water clarity (transparency) and above-average turnovers (in terms of depth or duration). In the north basin, the late-winter turnover reached 73 m, which is almost 10 m deeper than the long-term average. In the south basin, the turnover reached the lake bottom as early as late-January and mixing lasted uninterruptedly for at least a month. Another unusual characteristic of the 2022 turnovers concerns the temperature of the mixed layer, which was higher than usual (6.5-6.6°C).

Due to the deep and long turnovers, the lake waters were reoxygenated down to 60-70 m in the north basin and to the bottom in the south basin. Nonetheless, the hypolimnetic oxygen consumption brought back hypoxic or anoxic conditions in the deeper lake layers from summer onwards. Phosphorus upwelling into the productive layer (0-20 m) during the turnovers resulted in peak spring concentrations of 15 µg P_{tot} L⁻¹ in the north basin and 34 µg P_{tot} L⁻¹ in the south basin.

Phytoplankton was dominated by cyanobacteria, followed by diatoms. The dominant cyanobacteria included *Planktothrix rubescens* and other filamentous genera. Chlorophyll *a* (a proxy for phytoplankton biomass) showed a spring peak across the entire euphotic zone, followed by an accumulation in the metalimnion in summer, consistent with the abundance of metalimnetic cyanobacteria. Primary production was relatively high, amounting to 265 g C m⁻² year⁻¹ at Gandria and 315 g C m⁻² year⁻¹ at Figino (about twice as high as the CIPAIS target of 150 g C m⁻² year⁻¹).

A new study on the occurrence of cyanotoxins (microcystins) showed peaks in microcystin concentration in spring in the south basin and summer in the north basin. In both basins, maxima were reached at depths between 10 and 20 m, probably due to an accumulation of *P. rubescens*. During the late-winter turnover, microcystins reached a depth of 40 m, suggesting potential issues for the withdrawal of drinking water, which usually occurs around this depth.

The abundance of crustacean zooplankton biomasses was low (1.7 g PS m⁻² at both Gandria and Figino). Cyclopoid copepods were numerically dominant, whereas cladocerans, which tend to be more affected by cyanobacteria, were unusually scarce.

An analysis of satellite images showed that heating and cooling phases of the lake's surface followed slightly different patterns among the different lake basins. The reconstructed surface chlorophyll *a* values highlighted a contrast between fall-winter, with higher concentrations (probably due to suspension of metalimnetic cyanobacteria in

the water column), and spring-summer, with lower concentrations (consistent with the accumulation of phytoplanktonic biomass in the metalimnion).

A survey of antibiotic resistance confirmed that streams located in heavily urbanized watersheds (like the tributaries of Lake Lugano) can represent reservoirs of antibiotic-resistance genes and resistant bacteria. The abundance of resistance genes and resistant bacteria was greatest downstream of sewage treatment plants, demonstrating the important role played by these plants in the environmental spread of antibiotic resistance.

In summary, we highlight the decrease in nutrient loading and the improved water clarity among the positive aspects, and the dominance of toxic cyanobacteria, the insufficient deep-water oxygenation and the spread of antibiotic-resistance genes among the aspects that will require more attention in the future.

Inquadramento geografico e stazioni di campionamento

SUDDIVISIONI AMMINISTRATIVE DEL BACINO IMBRIFERO

Cantoni (CH): Ticino

Province (I): Varese, Como (Lombardia)

COORDINATE GEOGRAFICHE DELLE STAZIONI (UTM WGS84 32T)

Stazioni limnologiche

<u>Bacino</u>	<u>ID</u>	<u>Stazione</u>	<u>Profondità</u>	<u>Latitudine [°]</u>	<u>Longitudine [°]</u>
Nord	GA	Gandria	286 m	46.0107	9.0206
	LU	Lugano	100-110 m	45.9969	8.9561
	CL	Capolago	65 – 70 m	45.9182	8.9735
	ME	Melide	84 m	45.9395	8.9582
Sud	FI	Figino	95 m	45.9586	8.8937
	AG	Agno	70 – 75 m	45.9846	8.9038
	PT	Ponte Tresa	40 – 50 m	45.9641	8.8673
	PC	Porto Ceresio	40 – 45 m	45.9093	8.9026

Stazioni fluviali

<u>Bacino</u>	<u>Corso d'acqua</u>	<u>Località</u>	<u>Latitudine [°]</u>	<u>Longitudine [°]</u>	<u>Area bacino [km²]</u>
Nord	Cassarate	Pregassona	46.0177	8.9624	73.9
Nord	Cuccio	Porlezza	46.0307	9.1306	53.8
Nord	Livone	Osteno	46.0080	9.0847	30.6
Sud	Bolletta	Porto Ceresio	45.9063	8.8957	19.5
Sud	Laveggio	Riva San Vitale	45.8960	8.9736	28.9
Sud	Magliasina	Magliaso	45.9820	8.8790	34.3
Sud	Scairolo	Figino	45.9513	8.9064	9.7
Sud	Tresa	Ponte Tresa	45.9720	8.8524	614.5
Sud	Vedeggio	Bioggio	45.9979	8.9088	106.0

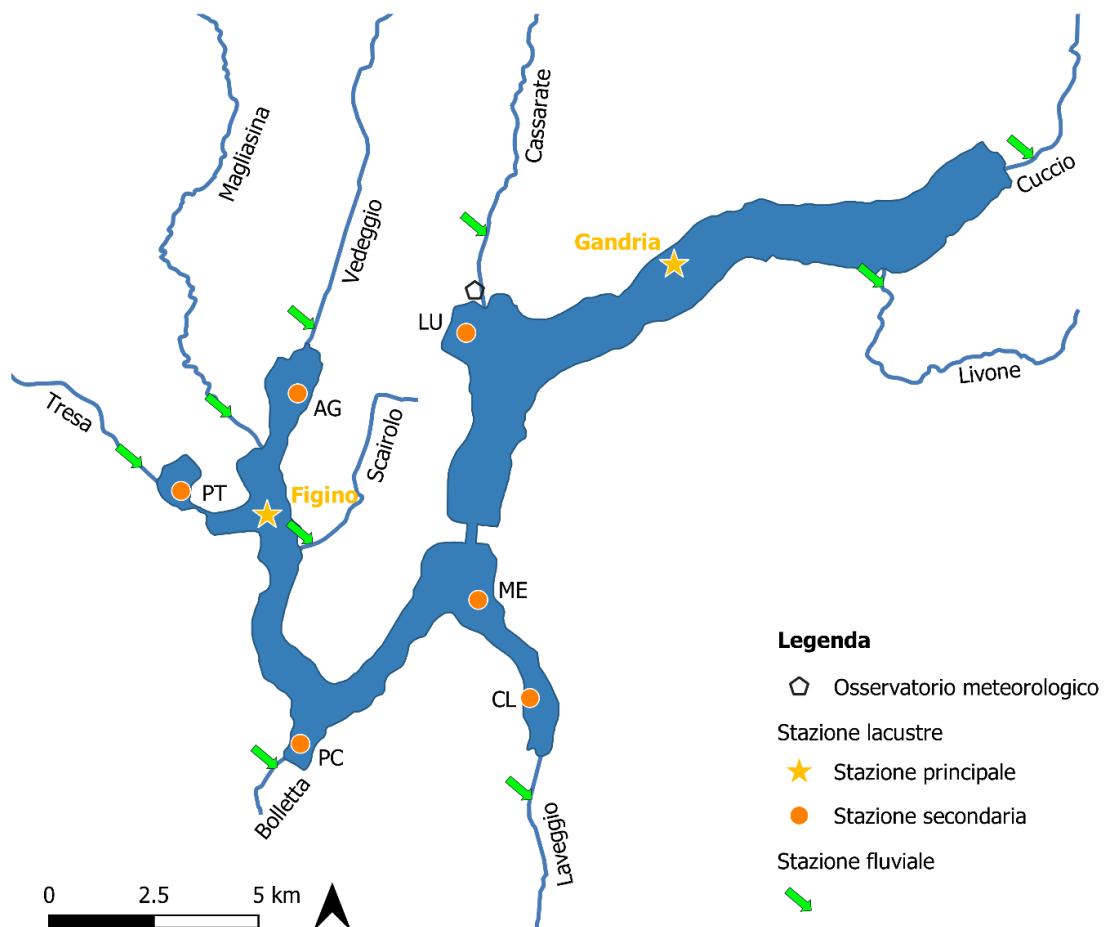
CARATTERISTICHE DELLA CONCA LACUSTRE

<u>Bacino</u>		<u>Nord</u>	<u>Sud</u>	<u>P. Tresa</u>
Quota media	m			
Area bacino lacustre	km ²	27.5	20.3	1.1
Volume bacino lacustre	km ³	4.69	1.14	0.03
Deflusso annuo emissario	km ³	0.38	0.77	0.78
Tempo teorico di rinnovo delle acque	anni	12.3	1.4	0.04
Profondità media	m	171	55	33
Profondità massima	m	288	95	50

CARATTERISTICHE DEL BACINO IMBRIFERO

Altitudine massima	2116 m s.l.m.	Larghezza media (dal lago)	1,05 km
Altitudine media	m s.l.m.	Indice di compattezza [†]	0,07
Area (lago incluso)	618 km ²	Rapporto tra aree di bacino imbrifero e lago	12,6

[†] basato sulla formula del quoziente isoperimetrico (Osserman 1978).



Mappa del Lago di Lugano con le stazioni di campionamento. Stazioni secondarie (golfi), in senso antiorario: AG: Agno, PT: Ponte Tresa, PC: Porto Ceresio, CL: Capolago, ME: Melide, LU: Lugano.

Bibliografia

Osserman, R. (1978). The isoperimetric inequality. *Bulletin of the American Mathematical Society*, 84(6), 1182-1238. <https://doi.org/10.1090/S0002-9904-1978-14553-4>

1. INQUADRAMENTO METEOROLOGICO

Fabio Lepori

Per l'inquadramento meteorologico si riportano informazioni su temperatura, soleggiamento e precipitazioni, i parametri che maggiormente influenzano le dinamiche lacustri. I dati provengono dall'Ufficio Federale di meteorologia e climatologia MeteoSvizzera.

1.1 Sintesi annuale

A scala nazionale svizzera il 2022 è stato un anno eccezionalmente caldo, il più caldo dall'inizio delle misure nel 1864. A Lugano, la temperatura media annuale (14.4°C) ha superato di 1.4°C la norma (media pluriennale 1991-2020; Tabella 1.1). L'eccezionale mitezza si è manifestata in tutte le stagioni, tutte risultate tra le più calde delle relative serie storiche (Tabella 1.1, Figura 1.1). Un secondo aspetto saliente del 2022 è stata la scarsità di precipitazioni. A Lugano, l'inverno 2021-22 e la primavera 2022 sono stati periodi siccitosi, con precipitazioni ridotte al 23-38% della norma. Anche l'estate è stata relativamente asciutta, ma con deficit stagionale di precipitazioni (-23% della norma a Lugano) meno estremo che nelle stagioni precedenti. Tuttavia, anche in estate, nel Ticino meridionale (Mendrisiotto, una regione costituente una parte importante del bacino imbrifero del bacino sud del lago) sono stati registrati localmente deficit stagionali sostanzialmente maggiori, fino a circa il -60% della norma. Le precipitazioni si sono poi riallineate alle medie pluriannuali in autunno e a fine anno. La fine dell'anno (dicembre) è stata caratterizzata dall'alternanza tra una prima parte fredda, con nevicate fino a basse quote, e una seconda parte eccezionalmente calda causata dall'arrivo di aria calda di origine subtropicale.

Tabella 1.1. Lago di Lugano, 2022: temperatura, soleggiamento e precipitazioni a Lugano (stazione della rete di MeteoSvizzera) rispetto alla norma 1991-2020. I valori rappresentano le medie mensili (media dei valori giornalieri) per la temperatura o valori cumulati per soleggiamento e precipitazioni (somma dei valori giornalieri entro le stagioni indicate). Le stagioni sono definite come: inverno=dic-gen-feb; primavera=mar-apr-mag; estate=giu-lug-ago; autunno=set-ott-nov. Per dicembre 2022 è indicato solo il valore mensile. dev = deviazione.

	Temperatura		Soleggiamento		Precipitazioni	
	media [°C]	dev [°C]	somma [h]	dev [%]	somma [mm]	dev [%]
Inverno 2021-22	5.9	+1.4	520	139	46	22
Primavera	13.1	+0.6	661	115	150	38
Estate	24.0	+2.3	871	126	339	67
Autunno	14.5	+1.3	512	117	509	106
Dicembre 2021	5.4	+0.8	83	78	74	92
Media 2022 [†]	14.4	+1.4	-	-	-	-
Somma 2021 [†]	-	-	2514	119	1096	70

[†] escluso dicembre 2021, che è invece compreso nell'inverno 2021-2022.

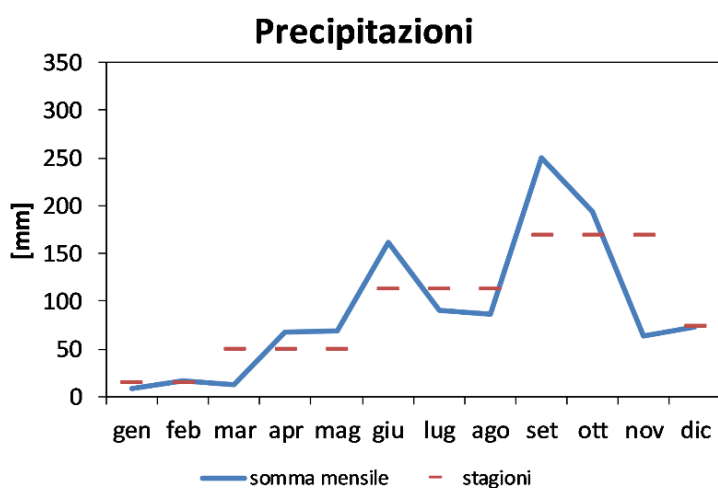
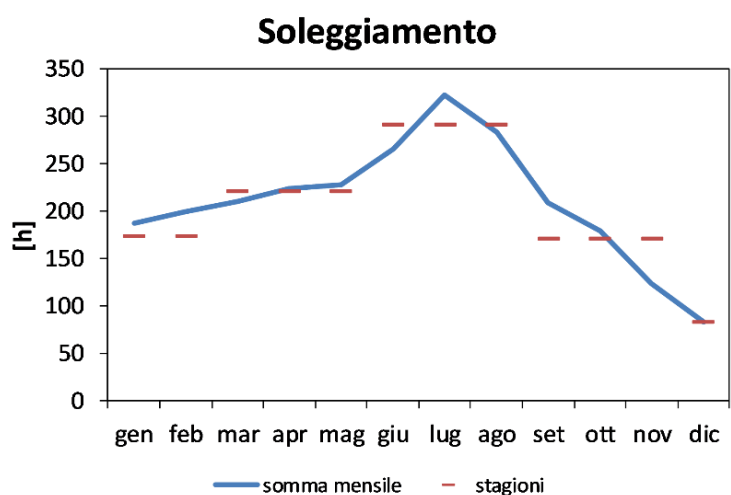
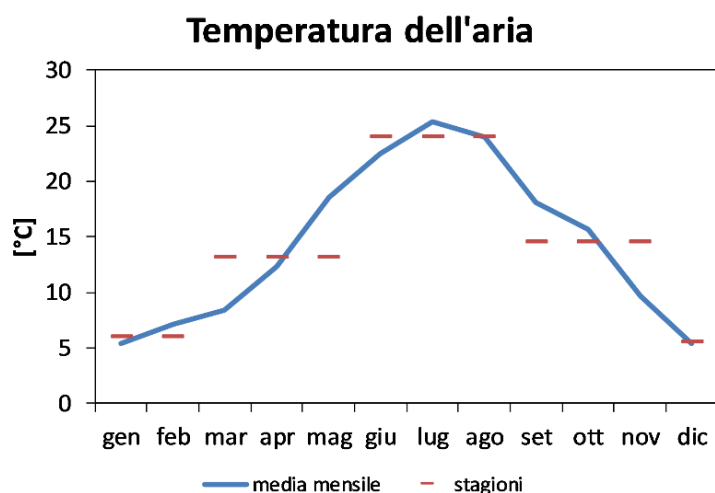


Figura 1.1. Lago di Lugano, 2022: temperatura, soleggiamento e precipitazioni a Lugano (stazione della rete di MeteoSvizzera). Sono rappresentati sia i valori mensili (temperatura: media dei valori giornalieri, soleggiamento e precipitazioni: somma dei valori giornalieri), sia i valori medi stagionali (medie dei valori mensili entro ciascuna stagione). Si veda la Tabella 1.1 per la definizione delle stagioni.

2. CORSI D'ACQUA: QUALITÀ E CARICHI DI NUTRIENTI

Fabio Lepori, Aron Castelli

Il capitolo inquadra le caratteristiche idrologiche e lo stato chimico delle acque dei principali tributari e dell'emissario del lago nell'anno 2022. Riporta inoltre le stime dei carichi esterni dei principali nutrienti (P_{tot} e N_{tot}) gravanti sul lago. Si è attinto a dati idrologici prodotti dall'IST-SUPSI e dall'UFAM, ai risultati di un campionamento mensile dei corsi d'acqua svolto dall'UMAM e all'analisi di campioni integrali provenienti da auto-campionatori (IST e UMAM).

2.1 Portate

A causa delle scarse precipitazioni (Capitolo 1), nel 2022 le portate medie dei tributari maggiori e dell'emissario del lago sono state nettamente inferiori (circa la metà) rispetto alle medie pluriannuali (Tabella 2.1). Eventi di piena sono stati osservati solo in settembre e ottobre, in corrispondenza delle precipitazioni autunnali più intense.

Tabella 2.1. Lago di Lugano 2022: portate dei maggiori tributari e dell'emissario (Tresa). giorn.: valori giornalieri annuali; camp: valori giornalieri relativi alle giornate di campionamento (n=12). DS: deviazione standard.

	2022 media, giorn $m^3 s^{-1}$	2022 DS, giorn --	2022 media, camp $m^3 s^{-1}$	2022 DS, camp --	Pluriannuale media* $m^3 s^{-1}$
Bolletta	0.3	0.2	0.2	0.1	0.6
Cassarate	1.1	1.4	0.9	0.5	2.4
Cuccio	1.1	1.7	0.9	0.5	2.2
Laveggio	0.4	0.3	0.3	0.1	1.2
Livone†	0.5	0.7	0.4	0.2	--
Magliasina	0.5	1.0	0.3	0.2	1.2
Scairolo	0.2	0.2	0.1	0.0	0.3
Vedeggio	2.0	2.6	1.7	1.0	3.7
Tresa	9.2	7.9	8.8	4.3	21.4
Bacino nord†	4.4	3.8	4.3	2.1	--

† portata stimata

* periodo di riferimento: Bolletta: 2017-2021, Cassarate: 1980-2021, Cuccio: 2000-2021; Laveggio: 1990-2021; Magliasina: 1980-2021, Scairolo: 2000-2021; Vedeggio: 2004-2021; Tresa: 1980-2021.

Le portate misurate nei 12 giorni di campionamento mensile sono state mediamente simili alle portate medie annuali. Per contro, la variabilità osservata entro questi giorni (rappresentata dalla deviazione standard in Tabella 2.1) è stata sostanzialmente inferiore (ca. $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{2}$) rispetto alla variabilità intra-annuale. Il campione dei giorni di campionamento rappresenta quindi adeguatamente condizioni di portata media, ma non il ventaglio delle condizioni idrologiche verificatesi durante l'anno. Nei corsi d'acqua, le condizioni più critiche si verificano spesso in condizioni idrologiche estreme (periodi di secca o piene). Inoltre, la maggior parte del carico annuale di nutrienti (fino a oltre l'80-90%) viene riversata in condizioni di portata elevata (meno del 10% dei

giorni). Le valutazioni della qualità delle acque e dei carichi devono quindi tener conto della mancata rappresentanza delle condizioni fuori media. In futuro, una migliore rappresentanza della variabilità idrologica intra-annuale potrebbe essere ottenuta mediante una maggior frequenza di campionamento, aggiungendo al campionamento sistematico mensile la raccolta di campioni in condizioni di piena, come prescritto dal protocollo svizzero per l'analisi dei corsi d'acqua (Liechti 2010), oppure aggiungendo auto-campionatori ai corsi d'acqua che ne sono privi.

2.2. Qualità delle acque

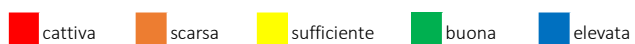
Lo stato chimico è stato valutato sulla base dei 12 campioni istantanei raccolti e analizzati dall'Amministrazione del Canton Ticino. Per la valutazione si è usato il metodo proposto dall'Ufficio Federale dell'Ambiente (Liechti 2010), che assegna una classe di qualità a ciascuno di otto indicatori chimici (PO_4 , P_{tot} , NO_3 , N_{tot} , NH_4 , NO_2 , BOD_5 e DOC) in base alla distribuzione delle concentrazioni osservate, usando il 90° percentile come riferimento. Tra questi indicatori, PO_4 , P_{tot} , NO_3 e N_{tot} rappresentano i principali macronutrienti, NH_4 e NO_2 i composti azotati potenzialmente nocivi, e BOD_5 e DOC l'inquinamento organico. Lo stato complessivo del corso d'acqua viene determinato dall'indicatore assegnato alla classe di qualità inferiore.

Come illustrato in Tabella 3.2, la qualità chimica dei corsi d'acqua monitorati è risultata elevata per Cassarate e Magliasina, sufficiente per Tresa, scarsa per Scairolo e cattiva per Livone, Bolletta, Laveggio, Cuccio e Vedeggio. I 2/3 dei corsi d'acqua sono stati caratterizzati da almeno un indicatore al di sotto della sufficienza.

Tra le tipologie di inquinamento ha nuovamente prevalso l'arricchimento in macronutrienti, un problema riscontrato in più della metà dei corsi d'acqua. Inoltre, in due tributari del bacino sud (Laveggio e Vedeggio) e in uno del bacino nord (Cuccio) si è riscontrato inquinamento dovuto a composti azotati nocivi. Non è stata invece rilevata nessuna criticità per quanto attiene l'inquinamento organico. Come nel 2021, i corsi d'acqua più inquinati sono stati nuovamente il Laveggio, il Livone e il Rio Bolletta, rispettivamente con 4, 2 e 2 indicatori assegnati a qualità cattiva.

Tabella 2.2. Lago di Lugano, 2022: 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 riportato anche il 90° percentile dell'indice di qualità normalizzato (X_N).

Fasce di qualità



		Macronutrienti				Composti azotati potenzialmente nocivi		Indicatori di carico organico		STATO
		PO ₄	P _{tot}	NO ₃	N _{tot}	NH ₄	NO ₂	BOD ₅	DOC	
		[µg P L ⁻¹]	[µg P L ⁻¹]	[mg N L ⁻¹]	[mg N L ⁻¹]	[mg N L ⁻¹]	[mg N L ⁻¹]	[mg O ₂ L ⁻¹]	[mg C L ⁻¹]	
Bacino Nord	Cassarate	2 (8)	11 (16)	1.04 (1.27)	1.23 (1.50)	0.01 (0.01, 0.10 _N)	0.00 (0.00, 0.21 _N)	0.73 (1.33)	0.87 (0.98)	
	Cuccio	16 (31)	35 (63)	0.86 (1.06)	1.04 (1.40)	0.02 (0.07, 2.57 _N)	0.00 (0.02, 0.98 _N)	0.70 (1.92)	0.81 (1.01)	
	Livone	96 (128)	117 (146)	2.78 (3.22)	3.02 (3.49)	0.01 (0.02, 0.09 _N)	0.00 (0.01, 0.12 _N)	0.70 (1.04)	1.15 (1.36)	
Bacino Sud	Bolletta	96 (157)	180 (449)	3.38 (3.99)	3.99 (5.17)	0.09 (0.26, 0.88 _N)	0.03 (0.06, 0.61 _N)	2.29 (5.41)	1.91 (2.24)	
	Laveggio	13 (45)	54 (188)	17.36 (25.13)	19.81 (28.14)	0.02 (0.04, 2.18 _N)	0.01 (0.07, 0.68 _N)	1.33 (3.56)	2.47 (3.03)	
	Magliasina	4 (7)	12 (19)	1.22 (1.49)	1.31 (1.65)	0.01 (0.02, 0.10 _N)	0.00 (0.00, 0.15 _N)	0.66 (0.83)	0.88 (1.17)	
	Scairolo	4 (9)	18 (27)	7.03 (9.98)	9.40 (12.40)	0.02 (0.07, 0.88 _N)	0.01 (0.07, 0.68 _N)	0.81 (1.12)	1.77 (2.11)	
	Vedeggio	20 (47)	48 (115)	4.58 (7.37)	5.42 (9.03)	0.25 (1.26, 8.60 _N)	0.05 (0.16, 1.55 _N)	1.28 (2.76)	1.66 (2.81)	
	Tresa	5 (10)	12 (31)	1.01 (1.08)	1.25 (1.39)	0.03 (0.05, 0.20 _N)	0.01 (0.02, 1.08 _N)	0.63 (1.09)	1.49 (1.75)	

2.3. Carichi

I carichi veicolati dai tributari sono calcolati in base alle concentrazioni di nutrienti e alle portate dei tributari usando il ‘Beale ratio estimator’. In tre tributari (Cassarate, Laveggio e Vedeggio) i carichi sono stati inoltre misurati partendo da campioni integrati mensili (con frequenza di campionamento proporzionale alla portata) raccolti da auto-campionatori. I carichi totali comprendono, oltre ai carichi veicolati dai tributari maggiori, altre fonti non quantificate (abitanti rivieraschi non allacciati, scaricatori di piena, deposizioni atmosferiche, tributari minori non campionati). Per offrire una valutazione obiettiva e robusta del carico totale nonostante l’incertezza dovuta a queste fonti, si è cambiato il metodo di stima. Piuttosto che usare stime euristiche delle fonti non quantificate, come in passato, si è preferito usare un modello di budget del fosforo nel lago (Vollenweider 1969). Grazie a questo modello, il carico annuale in entrata viene calcolato partendo da valori misurati (concentrazione del fosforo, volume e area del lago, portate dell’emissario) e parametri calibrabili su dati storici (velocità di sedimentazione apparente del fosforo, un parametro già calibrato per il Lago di Lugano; Lepori 2019). I metodi sono riportati in maggior dettaglio negli annessi.

2.3.1. Carichi veicolati dai tributari maggiori e dall’emissario

I carichi di fosforo e azoto veicolati dai singoli corsi d’acqua calcolati in base ai 12 campioni mensili (Tabella 2.3) appaiono insolitamente bassi rispetto ai valori delle serie storiche, anche recenti. Al confronto, i valori misurati mediante auto-campionatori sui tributari Cassarate, Laveggio e Vedeggio sono più elevati (fino a circa 4 volte), oltre che maggiormente allineati ai valori del recente passato.

Tabella 2.3. Lago di Lugano, 2022: 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%.

	P_{tot}	P_{tot}	N_{tot}	N_{tot}
	C.I.	A.C.	C.I.	A.C.
	[t a ⁻¹]	[t a ⁻¹]	[t a ⁻¹]	[t a ⁻¹]
Cassarate	0.4 (0.1)	2.6	44 (6)	58
Cuccio	1.1 (0.3)		36 (5)	
Livone [†]	2.0 (0.3)		51 (6)	
Ponte-diga Melide [†]	1.5 (0.3)		66 (11)	
Bolletta	2.1 (1.1)		37 (6)	
Laveggio	1.2 (0.5)	1.7	227 (40)	152
Magliasina	0.2 (0.0)		22 (2)	
Scairolo	0.1 (0.0)		42 (5)	
Vedeggio	2.0 (1.8)	7.6	261 (184)	376
Tresa	4.2 (1.0)		358 (42)	

[†]: valori di portata stimati

Considerato che nel 2022 i giorni di campionamento non hanno rappresentato adeguatamente condizioni di piena, riteniamo che i carichi stimati a partire da campioni mensili siano delle sottostime, da prendere con cautela. Come osservato in precedenza, per un calcolo più accurato dei carichi sarebbero necessarie frequenze di campionamento maggiori e una migliore copertura di episodi di elevata portata, che hanno maggior peso delle condizioni medie nel determinare il carico cumulato annuale.

I flussi di P_{tot} e N_{tot} in uscita dai principali impianti di depurazione sono rimasti simili a quelli del recente passato (Tabella 2.4). Seppur l'incertezza nella stima dei carichi non permette una valutazione quantitativa accurata, ci si attende che, a causa delle basse portate dei tributari, nel 2022 questi flussi abbiano rappresentato una fonte di carico proporzionalmente maggiore rispetto ad anni con piovosità normale.

2.3.2. Carichi totali

In base al nuovo metodo di stima, nel 2022 i carichi totali di fosforo sono risultati pari a 11 t per il bacino nord e 17 t per il bacino sud. Questi carichi sono tra i più bassi di quelli osservati dall'inizio del programma di ricerche (1983). I carichi sono inoltre conformi ai carichi massimi tollerabili stimati per entrambi i bacini (bacino nord: 18 t, bacino sud: 22 t), anche se queste soglie andrebbero rivalutate contestualmente alla revisione degli obiettivi delle concentrazioni di fosforo in atto presso la CIP AIS (Lepori et al. 2023).

In parte, i carichi bassi del 2022 vanno attribuiti alle portate inferiori alla norma (Tabella 2.1, Capitolo 1), anche se l'analisi delle serie pluriannuali (DACD 2022) indica inequivocabilmente una tendenza alla diminuzione nel tempo, al di là della variabilità contingente alle condizioni meteorologiche. Non disponendo per ora di un modello di budget calibrato per l'azoto per il Lago di Lugano, non è stato possibile stimare il carico totale annuale di questo nutriente.

Tabella 2.4. Lago di Lugano, 2022: 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 2.3).

Tributario ricettore		P_{tot}	P_{tot}	N_{tot}	N_{tot}
		[t a ⁻¹]	%	[t a ⁻¹]	%
L	Vedeggio	3.1 ^a	41%	214 ^a	57%
M	Laveggio	0.6 ^b	50%	125 ^b	55%
PS	Scairolo	0.1 ^c	100%	30 ^c	71%

Fonti: ^a: DT (2023); ^b: CDAM (2023); ^c: sig. C. Chiappa, CDAPS, *com. pers.*

Bibliografia

- Consorzio depurazione acque Mendrisio e dintorni (CDAM) (2023). *Rendiconto 2022*. https://www.cdamendrisio.ch/wp-content/uploads/2021/04/Rendiconto_2022.pdf
- Dipartimento del Territorio (DT) (2023). *Bioggio. Valutazione dell'efficienza dell'impianto e del rispetto dell'ordinanza OPAC*. BIO_RAP_VALUTAZ_OPAC_12 (cdaled.ch).
- 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., Lucchini, B., Capelli, C., Rotta, F. (2022) Mesotrophy is not enough: Re-assessing phosphorus objectives for the restoration of a deep Alpine lake (Lake Lugano, Switzerland and Italy). *Advances in Oceanography and Limnology*, 13(2). <https://doi.org/10.4081/aiol.2022.11061>
- Liechi, P. (2010). *Méthodes d'analyse et d'appréciation des cours d'eau. Analyses physico-chimiques, nutriments*. Berne : Office fédéral de l'environnement.
- Vollenweider, R.A. (1969) Möglichkeiten und Grenzen elementarer Modelle der Stoffbilanz von Seen. *Archiv für Hydrobiologie*, 66, 1-36.

3. LAGO: CARATTERISTICHE FISICHE

Fabio Lepori

Il capitolo analizza in sintesi l'andamento intra-annuale dei parametri fisici che caratterizzano l'ecosistema pelagico, concentrandosi sulle variazioni di livello, la trasparenza (profondità di Secchi) e la temperatura durante l'intero ciclo annuale. In aggiunta, per approfondire le dinamiche termiche, vengono esaminate le variazioni della profondità di mescolamento e della stabilità della colonna d'acqua.

3.1. Livello lacustre

A causa delle scarse precipitazioni (Capitolo 1), nel 2022 il livello del lago è stato inferiore al solito (Figura 3.1), in particolare durante la prima metà dell'anno, durante il quale il livello è calato di mezzo metro rispetto al valore normale di ca. 270.5 m (media 1965-2021). I livelli si sono poi parzialmente ristabiliti a partire dal maggio-giugno. Le precipitazioni autunnali hanno determinato una corrispondente fase di variazione temporale, esente comunque da picchi di rilievo (massimo annuale: 270.81 m).

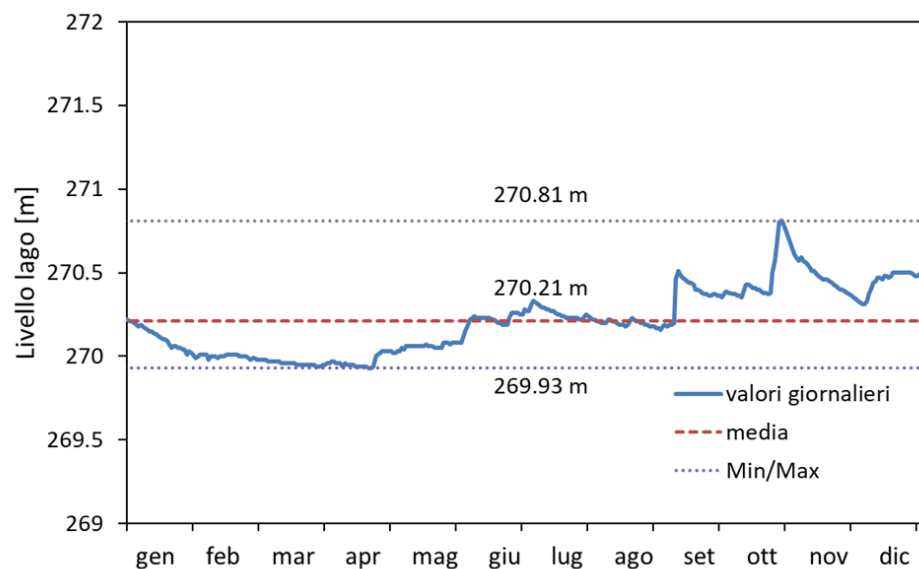


Figura 3.1. Lago di Lugano, 2022: livelli giornalieri misurati a Melide-Ferrera (dati UFAM).

3.2. Trasparenza e luce

La trasparenza delle acque, misurata come profondità di Secchi (Z_{SD}), è stata elevata relativamente al passato. Secondo la classificazione OECD (Vollenweider & Kerekes 1982), i valori registrati (medie annuali: Gandria=6.9 m, Figino=6.1 m; minimi annuali Gandria=3.0 m, Figino=1.6 m) indicherebbero uno stato di oligo-mesotrofia in entrambi i bacini. Gli andamenti mensili (Figura 3.2), mostrano una fase di intorbidimento

primaverile, culminata tra fine marzo e inizio aprile, a cui ha fatto seguito una chiarificazione notevolmente marcata. A metà maggio, infatti, la trasparenza ha raggiunto 10 m in entrambi i bacini, un valore insolitamente alto per la stagione. Anche in estate, nonostante un leggero calo (media estiva: Gandria=7.3 m; Figino=6.1 m), la trasparenza si è assestata su valori maggiori a 4 m, tipici di laghi oligotrofici (Nürnberg, 1996).

Alla notevole trasparenza ha corrisposto una proporzionale espansione della zona eufotica (Z_{EU} , profondità alla quale la luce è ridotta all'1% del valore misurato in superficie, Figura 3.2). Durante la fase di chiarificazione primaverile, questa zona si è spinta fino a circa 25 m di profondità in entrambi i bacini. La profondità della zona eufotica (media annuale: Gandria=17.3 m, Figino=15.2 m; media estiva Gandria=18.2 m, Figino 15.1 m) suggerisce condizioni di elevato irraggiamento fino oltre il termocline.

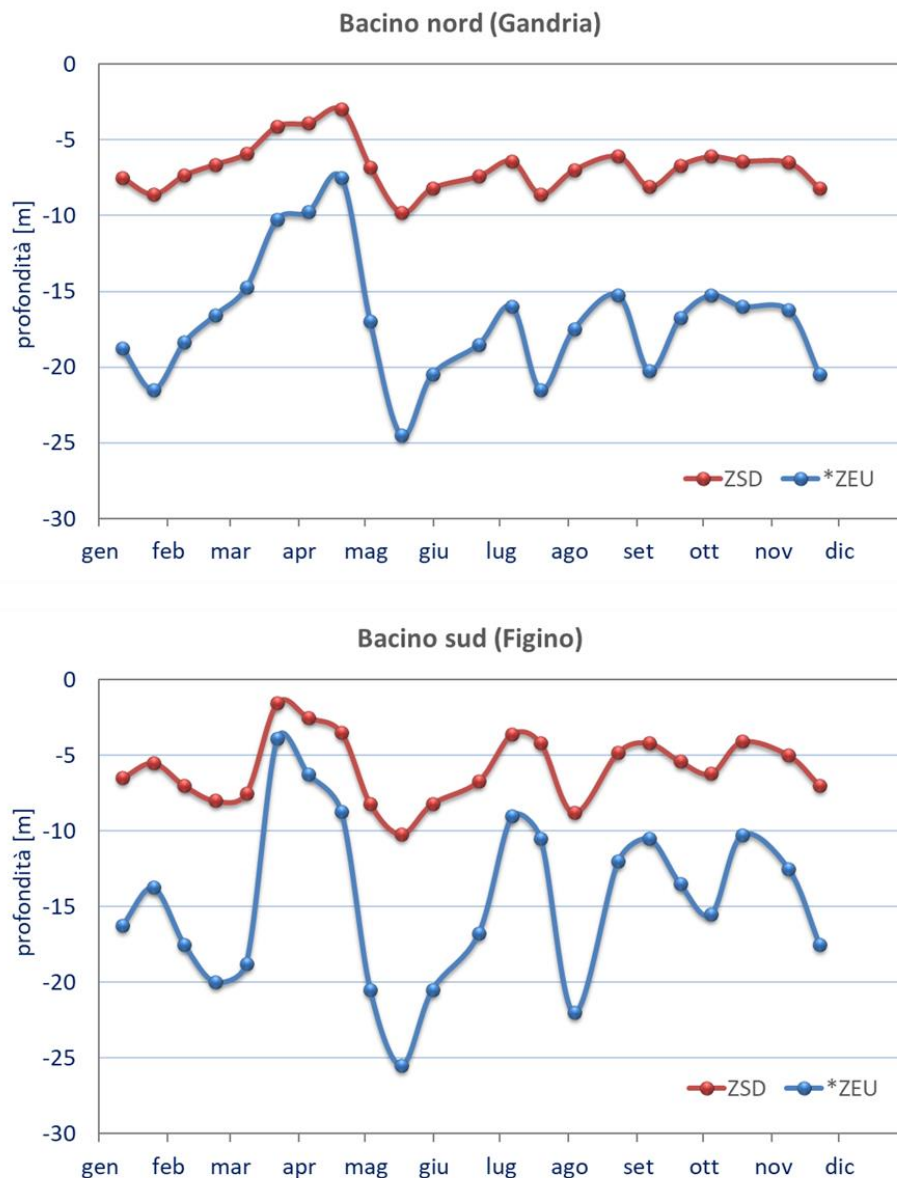


Figura 3.2. Lago di Lugano, 2022: andamento della profondità di Secchi, Z_{SD} (trasparenza), e della profondità della zona eufotica, $*Z_{EU}$ [m].

3.3. Temperatura

La temperatura viene descritta dai valori medi nello strato produttivo (0-20 m, T_{0-20}) e, per il bacino nord (stazione di Gandria), dal valore medio nello strato profondo (100-284 m, $T_{100-284}$). La temperatura media annuale dello strato produttivo è stata molto elevata, pari a 12.98°C a Gandria e 12.05°C a Figino. Gli andamenti mensili (Figure 3.3 e 3.4) indicano delle temperature più elevate del solito in tutte le stagioni, comprese la fine dell'inverno 2021-2022 e la primavera (il periodo entro il quale si verifica la circolazione tardo-invernale). Tra gennaio e marzo, infatti, le temperature non sono mai calate sotto 6.5°C .

A Gandria, nello strato profondo, la temperatura media annuale è stata pari a 6.1°C (Figure 3.3 e 3.4). Questo valore, cresciuto di 0.1°C rispetto allo scorso anno, è il più elevato dall'inizio delle misurazioni nel 1981 (quando, per confronto, fu registrato un valore di 5.1°C). Si è quindi ulteriormente consolidata la tendenza al riscaldamento delle acque profonde, manifestatosi soprattutto dopo le circolazioni eccezionali del 2005-2006.

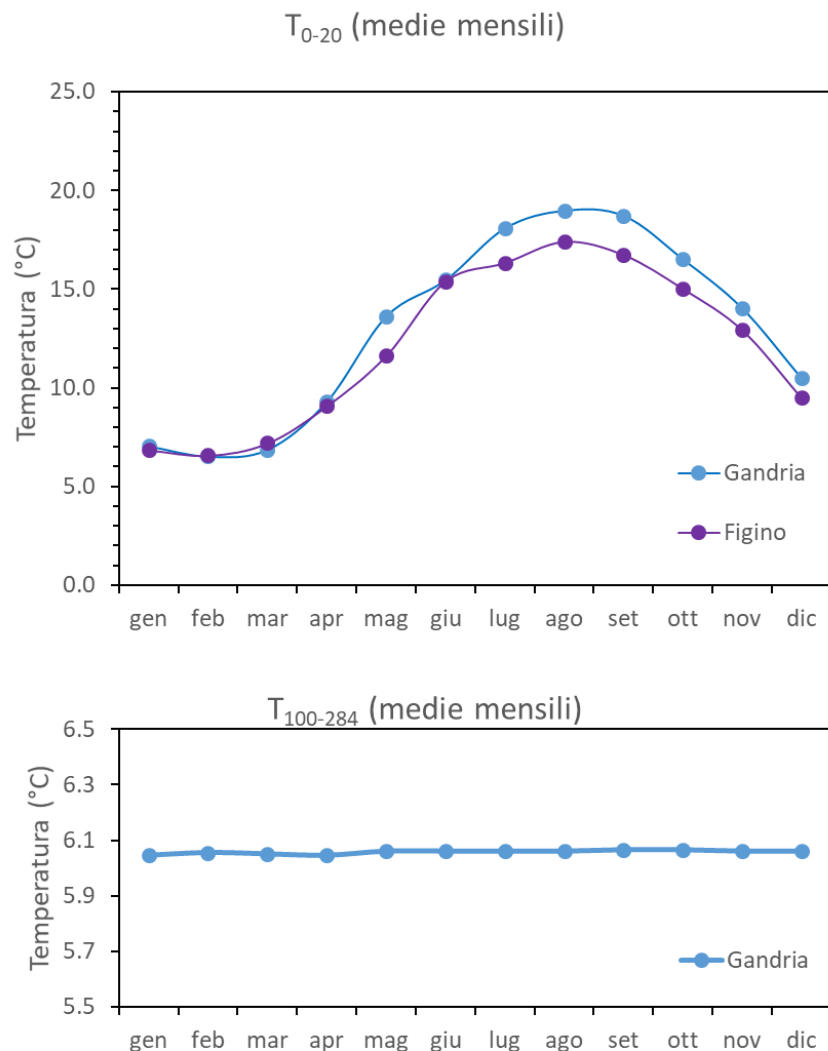


Figura 3.3. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della temperatura nello strato produttivo (0-20 m, in alto) e nello strato profondo (100-284 m, in basso) [$^{\circ}\text{C}$]. Le ordinate (temperatura) usano scale diverse.

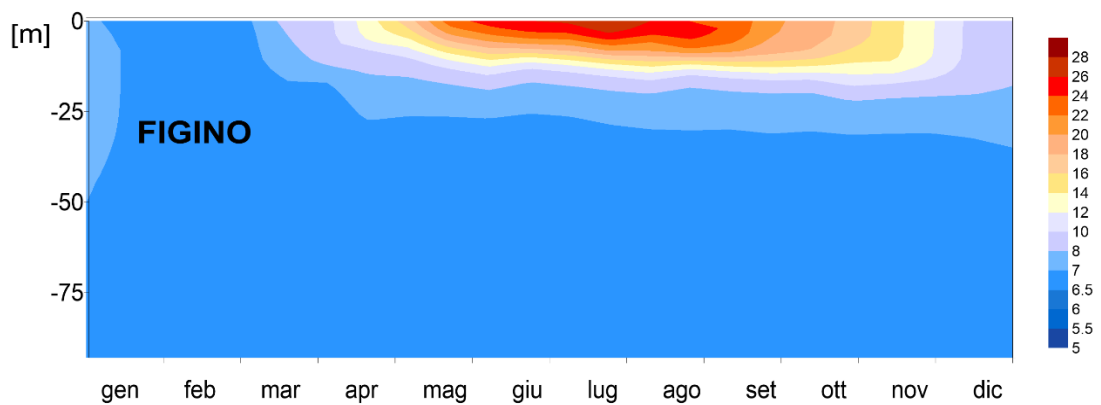
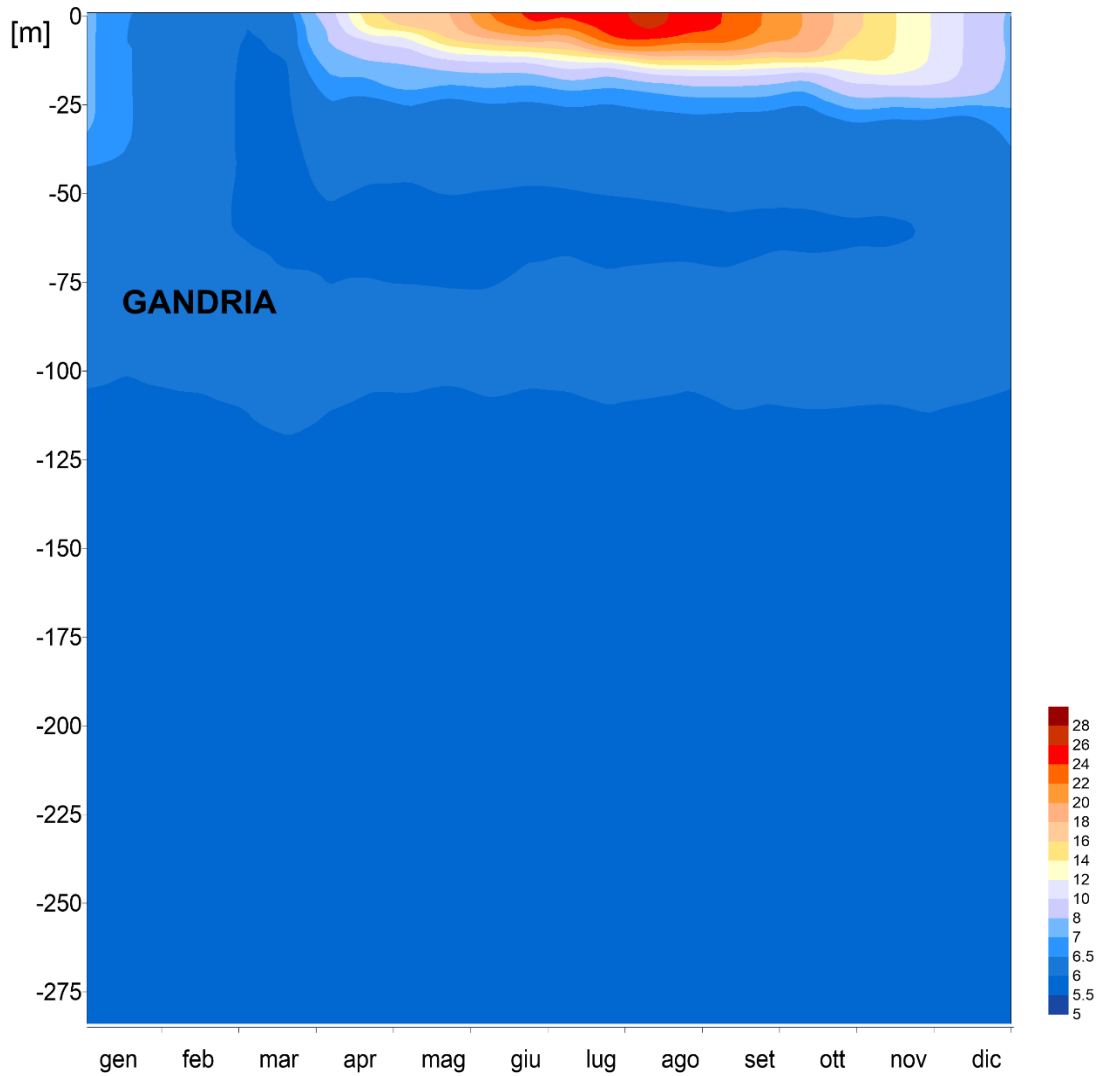


Figura 3.4. Lago di Lugano, 2022: andamento della temperatura in profondità e nel tempo [°C]. I profili bisettimanali ottenuti mediante sonda multiparametrica sono stati interpolati usando il metodo del Kriegering.

3.4. Profondità di mescolamento e stabilità

Anche nel 2022 i regimi idrodinamici di stratificazione e de-stratificazione (mescolamento) delle acque sono stati conformi ai modelli di riferimento di meromissi per il bacino nord e olomissi per il bacino sud (Figura 3.5). Nel bacino nord, il mescolamento si è spinto fino alla profondità massima di 73 m a inizio marzo (8 marzo), un valore leggermente superiore alla media di lungo termine (64 m).

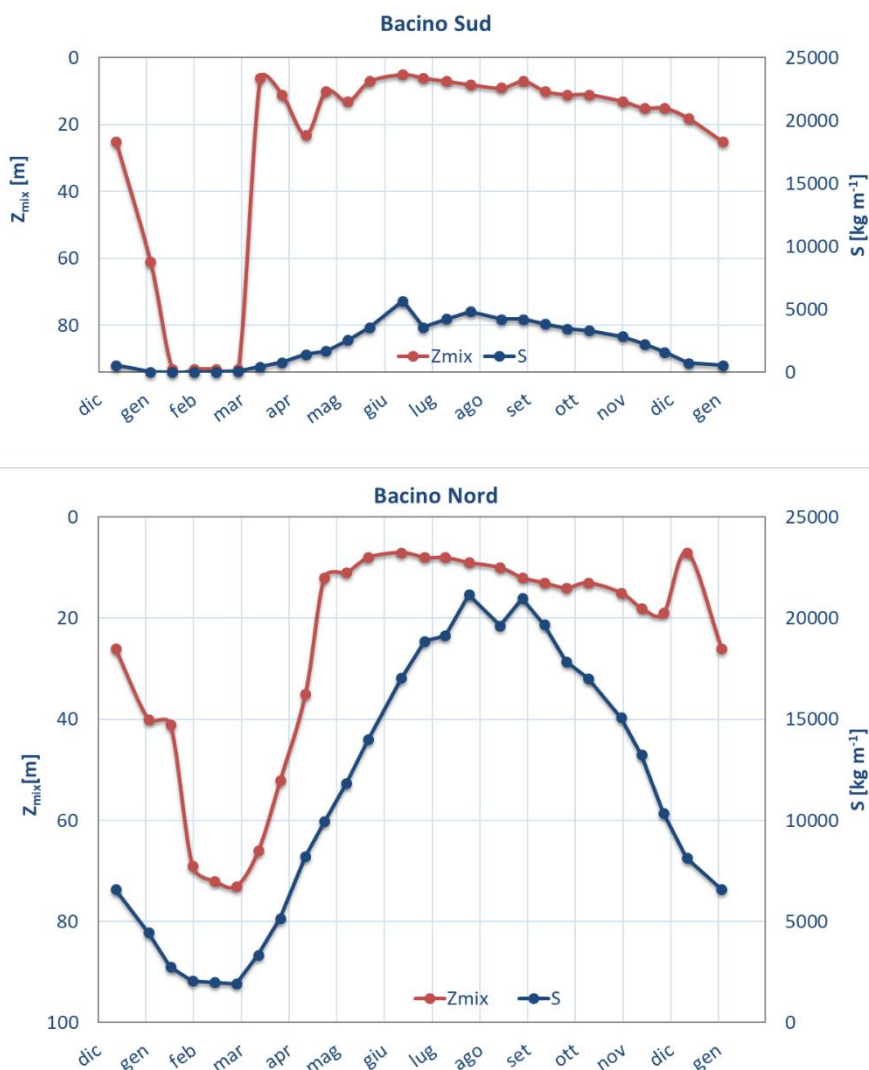


Figura 3.5. Lago di Lugano, 2022: andamento della profondità massima di mescolamento delle acque, Z_{mix} [m], e della stabilità colonna d'acqua, S [kg m^{-1}], alle stazioni di Figino (bacino sud) e Gandria (bacino nord).

Nel bacino sud, il mescolamento ha raggiunto il fondo (94 m) già a fine gennaio (26 gennaio). In questo bacino, la fase di mescolamento, che solitamente dura qualche giorno, si è protratta almeno fino al 9 marzo. Un secondo aspetto inconsueto delle circolazioni del 2022, osservato in entrambi i bacini, riguarda la temperatura

relativamente elevata (6.5-6.6°C) dello strato mescolato alla circolazione. Come già osservato lo scorso anno, un raffreddamento parziale delle acque superficiali (come quello avvenuto nell'inverno 2022-2023) non conduce necessariamente a circolazioni deboli o incomplete. Al contrario, può innescare circolazioni normali per profondità, timing e durata, ma che avvengono a temperature maggiori.

Dopo le circolazioni e un breve periodo di instabilità, il lago è entrato nella consueta fase di stratificazione (maggio-fine agosto), durante la quale la profondità dello strato mescolato si è assestata tra 5 e 10 m in entrambi i bacini. Nel 2022 la stratificazione è durata a lungo. La classica espansione autunnale dello strato mescolato è avvenuta in ritardo (da ottobre in avanti) ed è stata molto graduale.

Gli andamenti temporali della stabilità meccanica della colonna d'acqua (Figura 3.5) non presentano particolarità rispetto agli scorsi anni. Nel bacino nord, anche durante la massima de-stratificazione tardo-invernale dovuta a moti convettivi, la stabilità di Schmidt è rimasta sostanziale (ca. 2000 kg m⁻¹) a causa del maggior contenuto salino delle acque profonde (monimolimnio).

Bibliografia

- 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. <https://doi.org/10.1080/07438149609354283>
- Vollenweider, R.A. & Kerekes, J. (1982). *Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control*. Paris: Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD).

4. LAGO: CARATTERISTICHE CHIMICHE

Camilla Capelli

Le indagini sul chimismo dell'ambiente pelagico, come quelle concernenti gli aspetti fisici (Capitolo 5), si sono svolte mensilmente presso le stazioni di Gandria e Figino, situate rispettivamente nei pressi dei punti più profondi dei bacini nord e sud. Dal 2022 è stata introdotta anche un'indagine sul chimismo nello strato produttivo (0-20 m di profondità) nella stazione pelagica di Melide e nei golfi secondari (Lugano, Capolago, Porto Ceresio, Agno e bacino di Ponte Tresa). La nuova stazione di Porto Ceresio svolge un'importante funzione anche nel contesto del progetto Interreg Italia – Svizzera ACQuA Ceresio “Azioni di Cooperazione per la Qualità delle Acque del Lago Ceresio”. Il progetto, iniziato nel 2019, mira a migliorare la qualità delle acque del bacino sud del Lago di Lugano mediante interventi sulle reti fognarie dei comuni rivieraschi situati in territorio italiano. Il monitoraggio delle acque del lago a Porto Ceresio, insieme al monitoraggio del Rio Bolletta (Capitolo 2), consentirà quindi di documentare il progressivo recupero della qualità delle acque previsto a seguito alla realizzazione degli interventi. Le concentrazioni di ferro disciolto, fosforo reattivo e silice non sono riportate a causa di lacune nei dati o valori ritenuti inverosimili.

4.1. Alcalinità e pH

Nel 2022 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 4.1). Questo fenomeno è stato meno intenso rispetto all'anno precedente, soprattutto nel bacino nord.

Il pH, ha mostrato il classico andamento opposto a quello dell'alcalinità (Figura 4.2), con un aumento nelle acque superficiali che ha anticipato di un paio di mesi la riduzione dell'alcalinità.

4.2. Ossigeno disciolto e sostanze ridotte

L'andamento mensile delle concentrazioni di ossigeno disciolto (Figura 4.3) indica una circolazione superiore alla media sul lungo termine in entrambi i bacini, soprattutto nel bacino sud (cf. Capitolo 3). Nella stazione di Gandria (bacino nord) livelli di ipossia (concentrazione di ossigeno disciolto $< 4 \text{ mg L}^{-1}$) sono stati misurati a profondità maggiori di *ca.* 50 m e valori 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 (bacino sud) i livelli di ossigenazione nelle acque profonde sono stati nettamente maggiori rispetto all'anno precedente, con massimi quasi raddoppiati, pari a 6.9 mg L^{-1} (marzo). Tuttavia, la buona circolazione delle acque ha colmato solo parzialmente il deficit di ossigeno presente negli strati più profondi e condizioni anossiche si sono ristabilite già a partire dal mese di luglio.

Nelle acque profonde del bacino nord condizioni riducenti 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 m. Nel bacino sud, sono state rilevate sostanze ridotte durante i periodi di anossia precedenti la circolazione

(gennaio) o seguenti la stratificazione estiva (da luglio), in questo caso segnalate primariamente dalla presenza di metano e da manganese disciolto (Figure 4.4-6).

4.3. Macronutrienti (fosforo e azoto)

Le dinamiche delle concentrazioni di fosforo totale (P_{tot} ; Figura 4.7) hanno mostrato, come di consueto, differenze tra i due bacini del lago. Nel bacino nord il rifornimento epilimnetico di fosforo, nonostante la circolazione tardo-invernale leggermente superiore alla norma (Capitolo 3), è stato comunque modesto e la concentrazione media di P_{tot} nello strato produttivo (0-20 m) alla circolazione (febbraio-marzo) ha raggiunto i $15 \mu\text{g P L}^{-1}$. Nel bacino sud, le concentrazioni di P_{tot} nello strato produttivo a Figino hanno raggiunto un valore più che doppio ($34 \mu\text{g P L}^{-1}$ a marzo).

La concentrazione dell'azoto totale (N_{tot} , Figura 4.8), in linea con gli anni precedenti, ha mostrato differenze tra il bacino nord, più povero (media annua nello strato produttivo 0.5 mg N L^{-1}), e il bacino sud (media annua nello strato produttivo 1.3 mg N L^{-1}), arricchito dal maggiore carico esterno (Capitolo 2). Come di consueto, nel bacino nord l'azoto totale è apparso particolarmente scarso nell'area attorno ai 100 m di profondità, dove viene rimosso da processi di denitrificazione e Anammox (anaerobic ammonium oxidation; Figura 4.8). L'azoto nitroso è stato osservato in particolare nelle acque profonde del bacino sud (Figura 4.9). Durante il periodo primaverile-estivo, si è osservata una lieve riduzione dell'azoto nitrico nello strato produttivo in entrambi i bacini per assimilazione da parte del fitoplancton (Figura 4.10), mentre sul fondo sono aumentati i prodotti della mineralizzazione dei sedimenti organici, tra cui l'ammonio, favoriti dalla scarsa ossigenazione degli strati profondi (Figura 4.11).

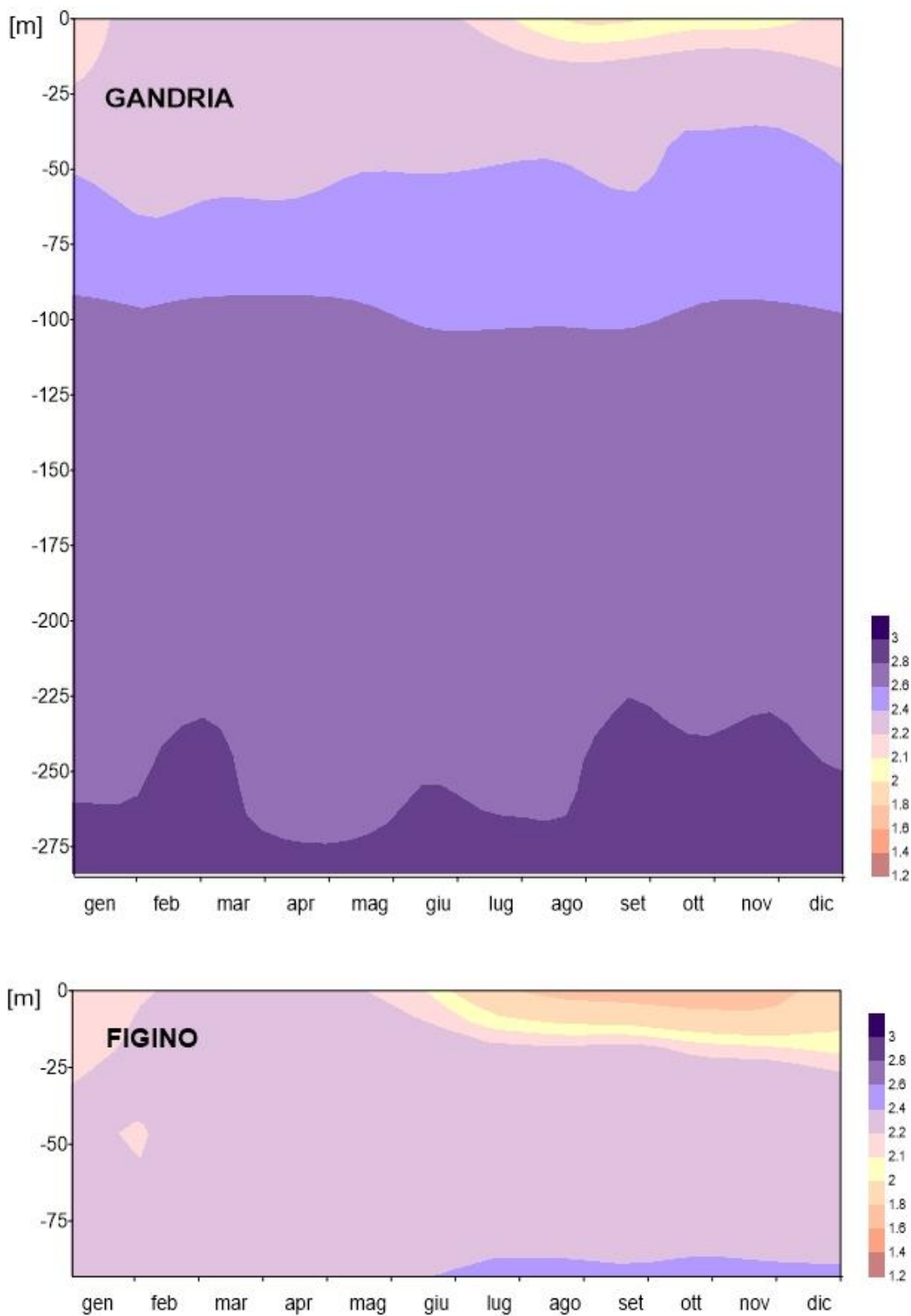


Figura 4.1. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile dell'alcalinità in profondità e nel tempo [meq L⁻¹].

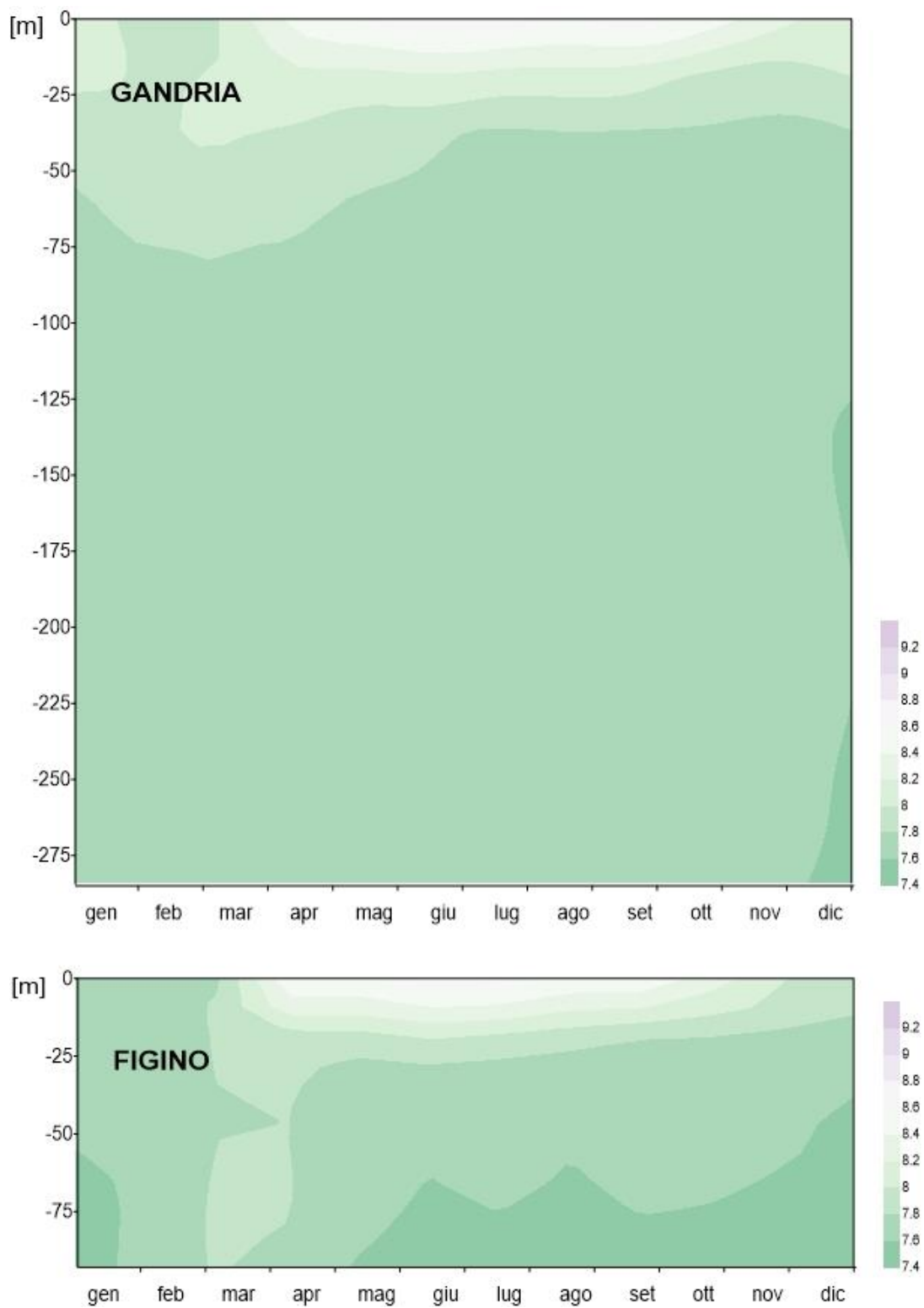


Figura 4.2. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile del pH in profondità e nel tempo [unità pH].

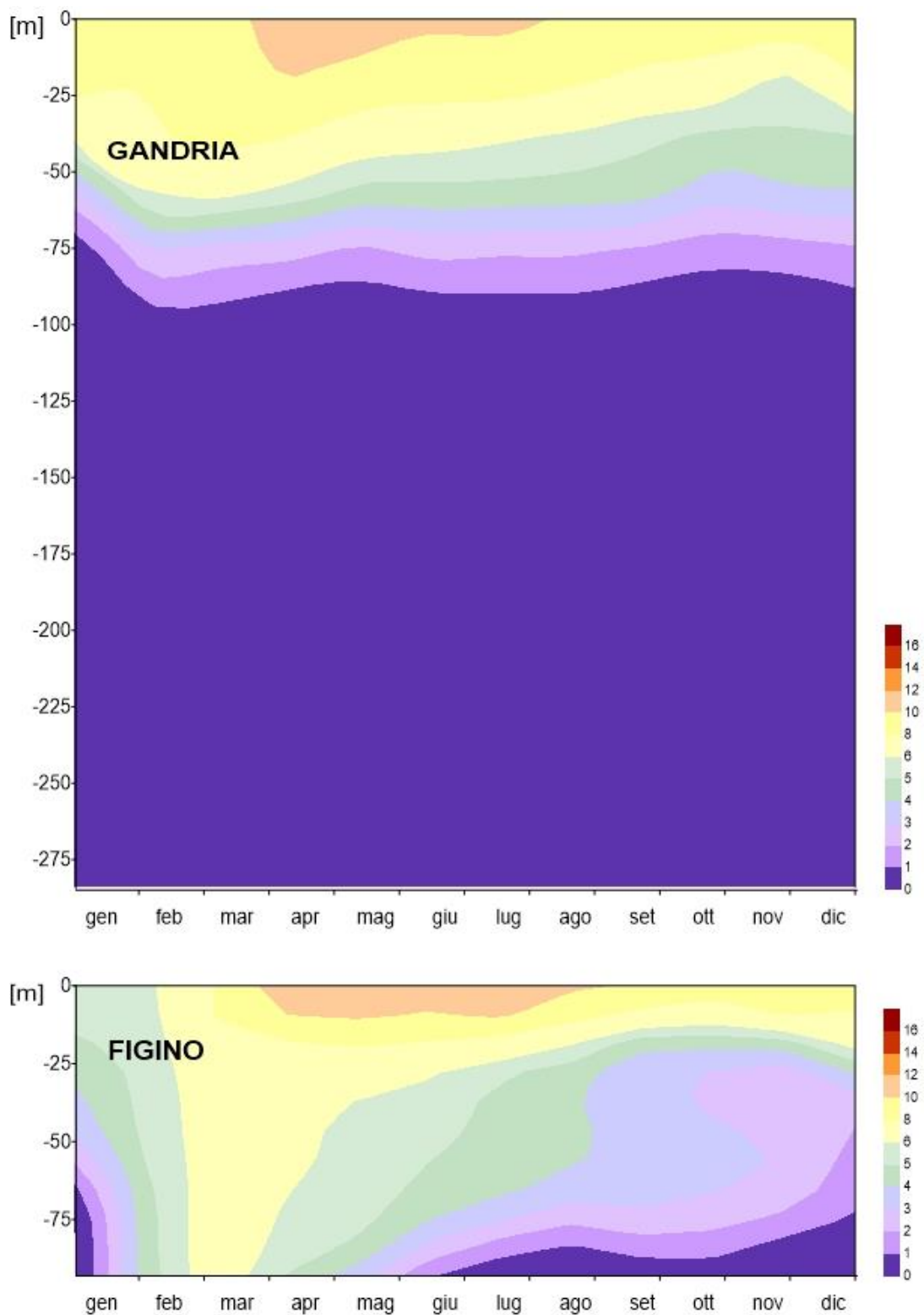


Figura 4.3. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile dell'ossigeno disciolto in profondità e nel tempo [mg O₂ L⁻¹].

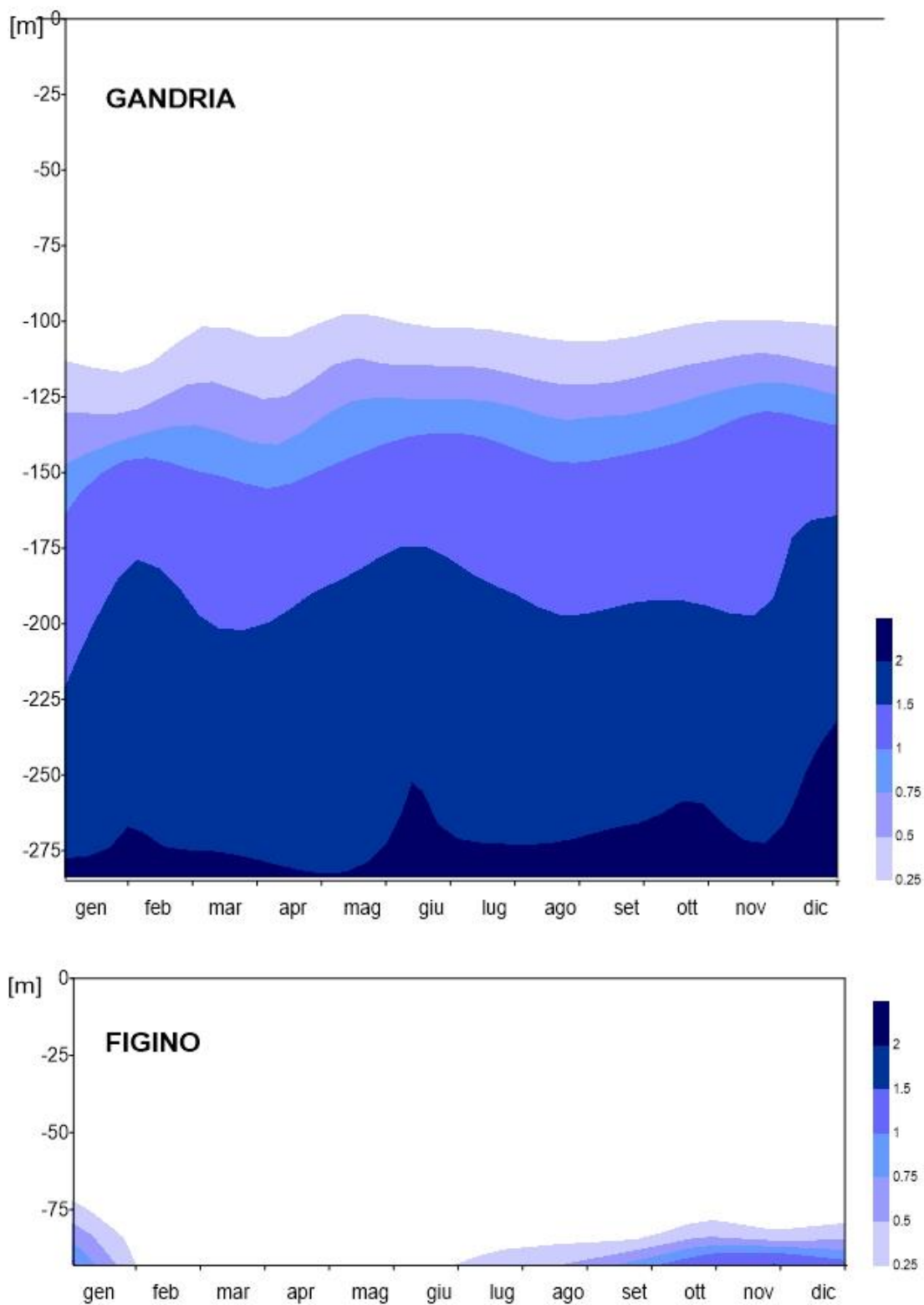


Figura 4.4. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile del metano in profondità e nel tempo [mg L⁻¹].

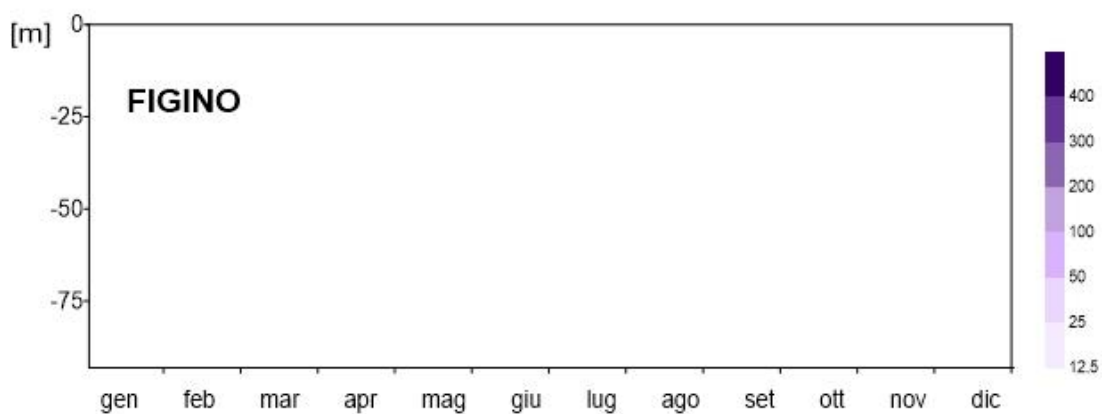
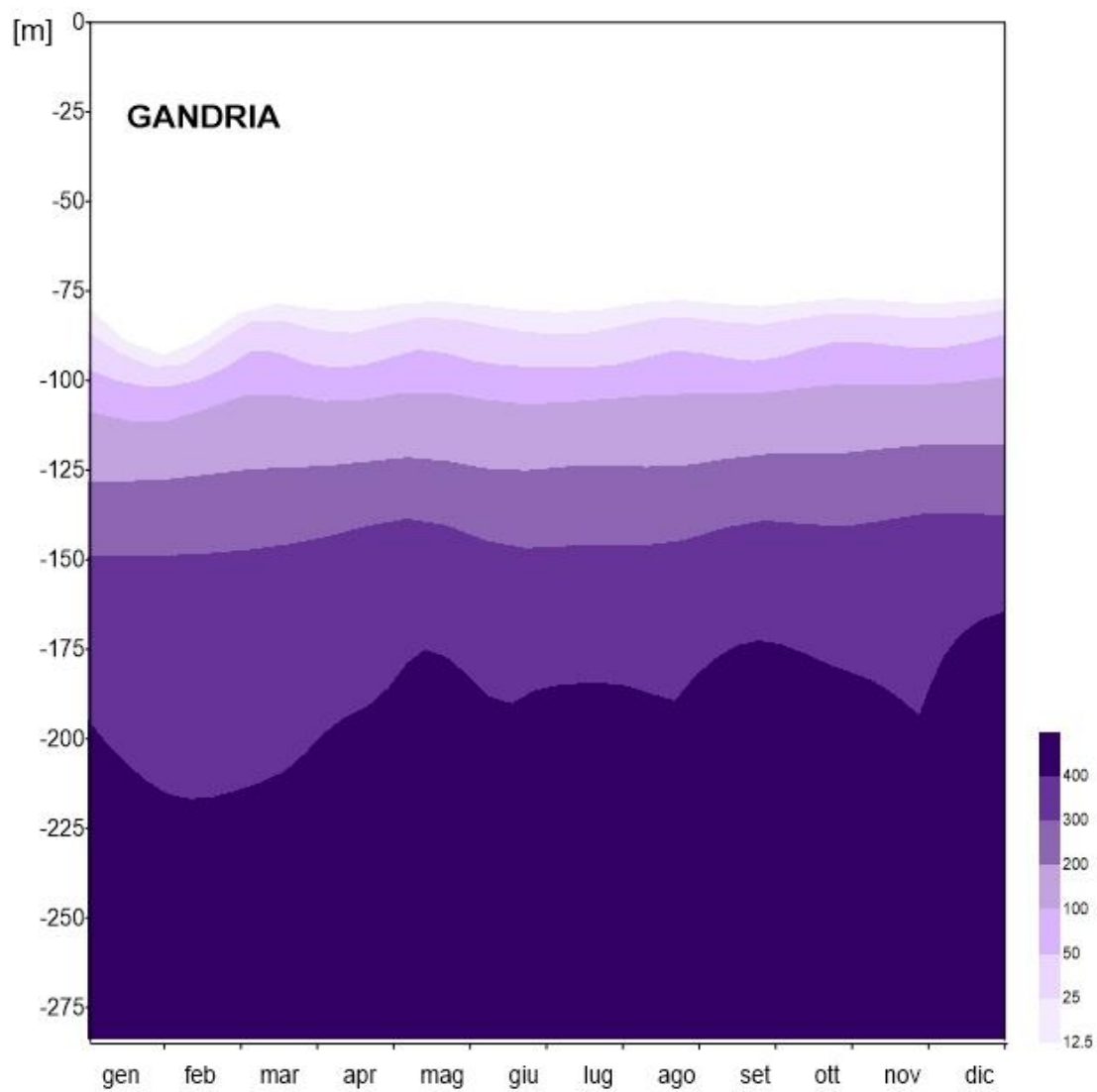


Figura 4.5. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della concentrazione del solfuro in profondità e nel tempo [$\mu\text{g L}^{-1}$].

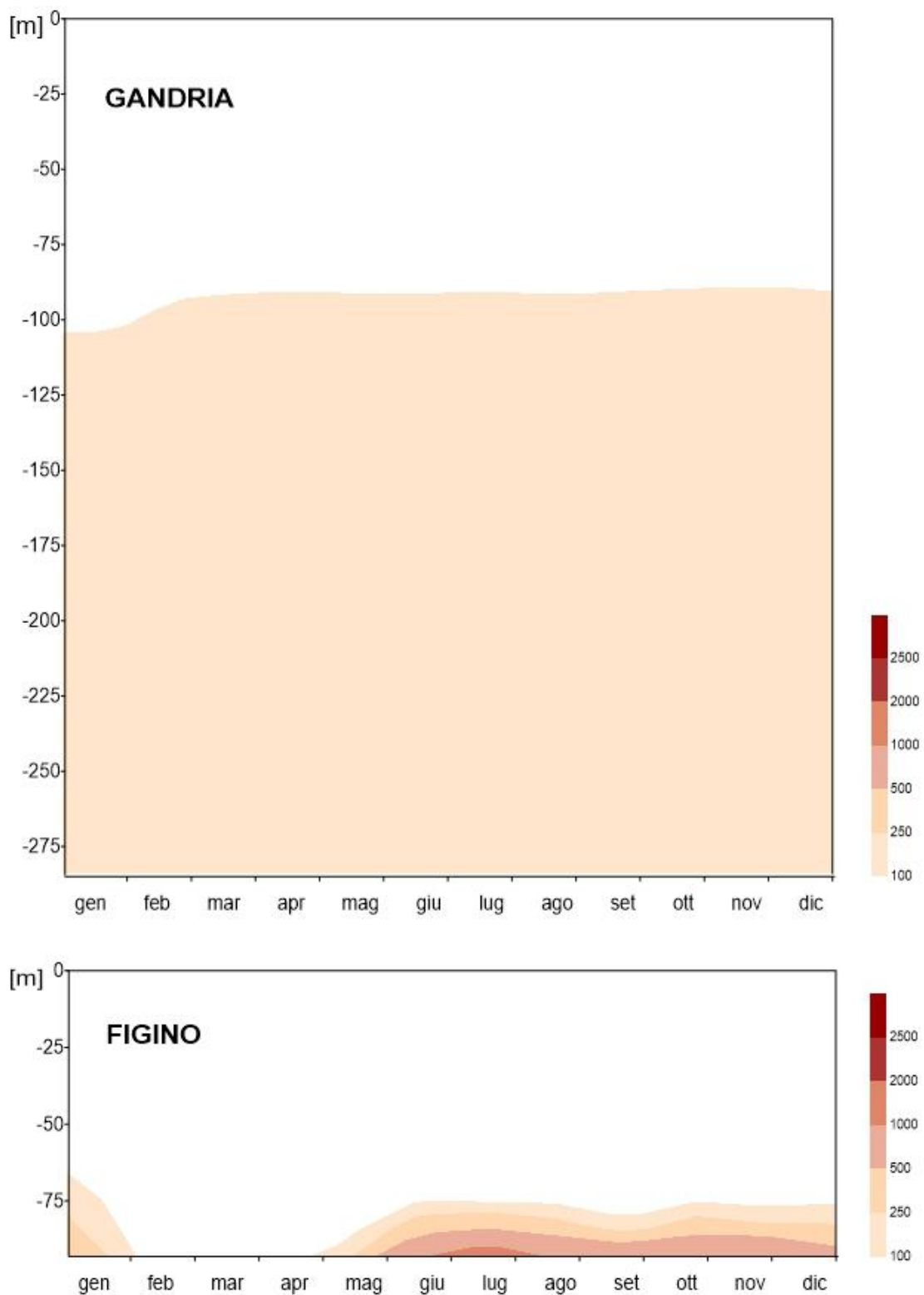


Figura 4.6 Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della concentrazione del manganese disciolto in profondità e nel tempo [$\mu\text{g L}^{-1}$].

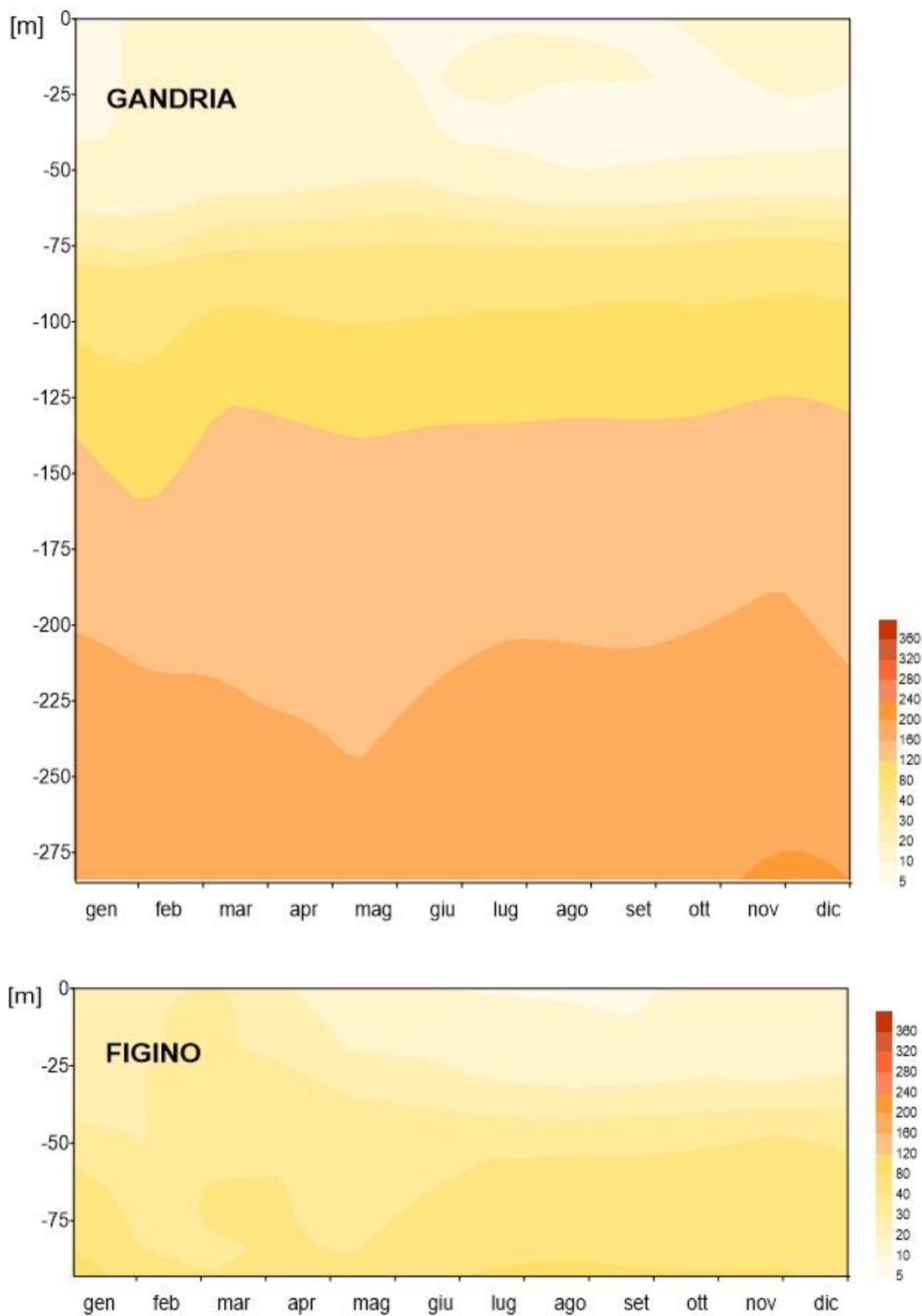


Figura 4.7. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della concentrazione del fosforo totale in profondità e nel tempo [$\mu\text{g P L}^{-1}$].

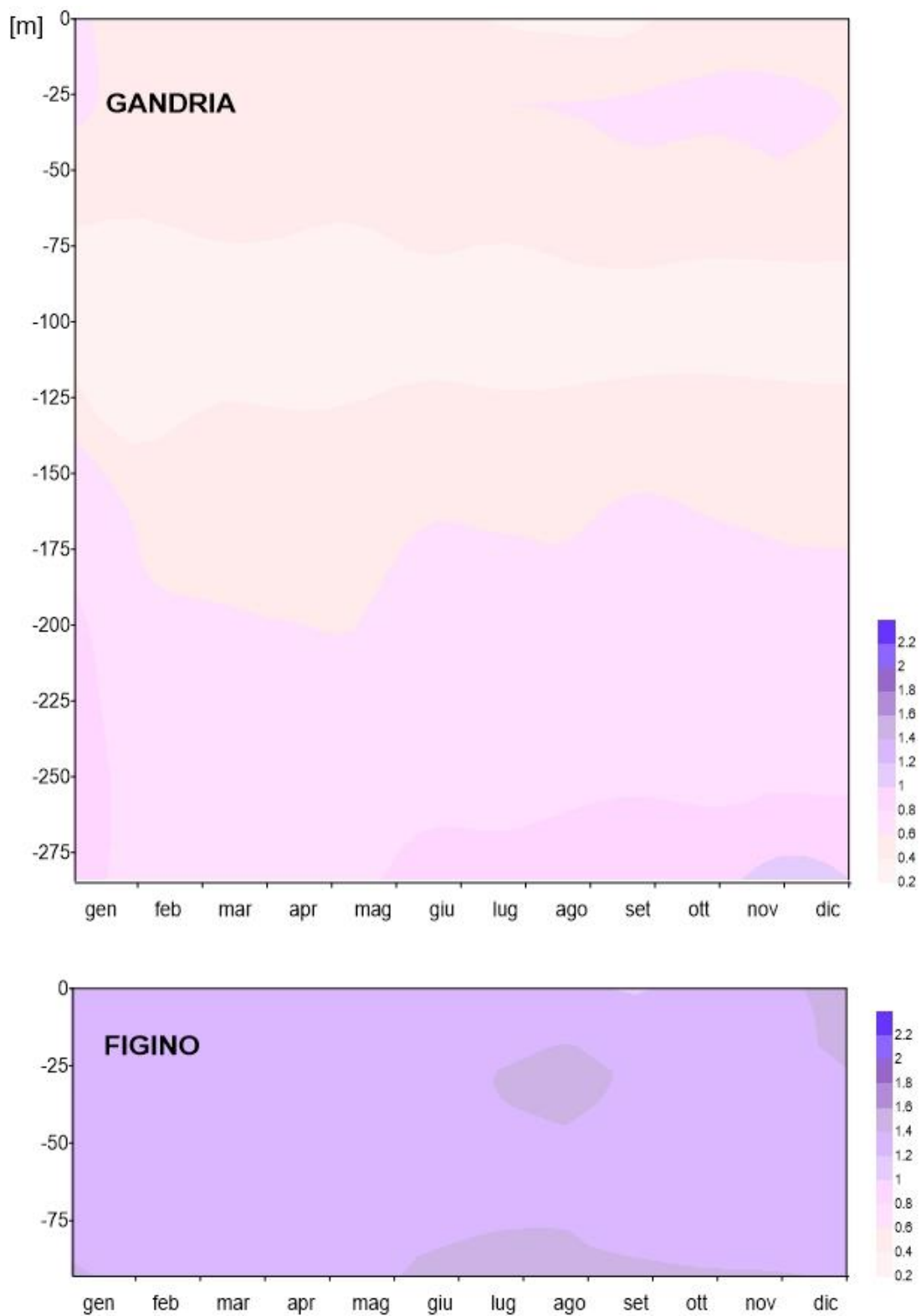


Figura 4.8. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della concentrazione dell'azoto totale in profondità e nel tempo [mg N L^{-1}].

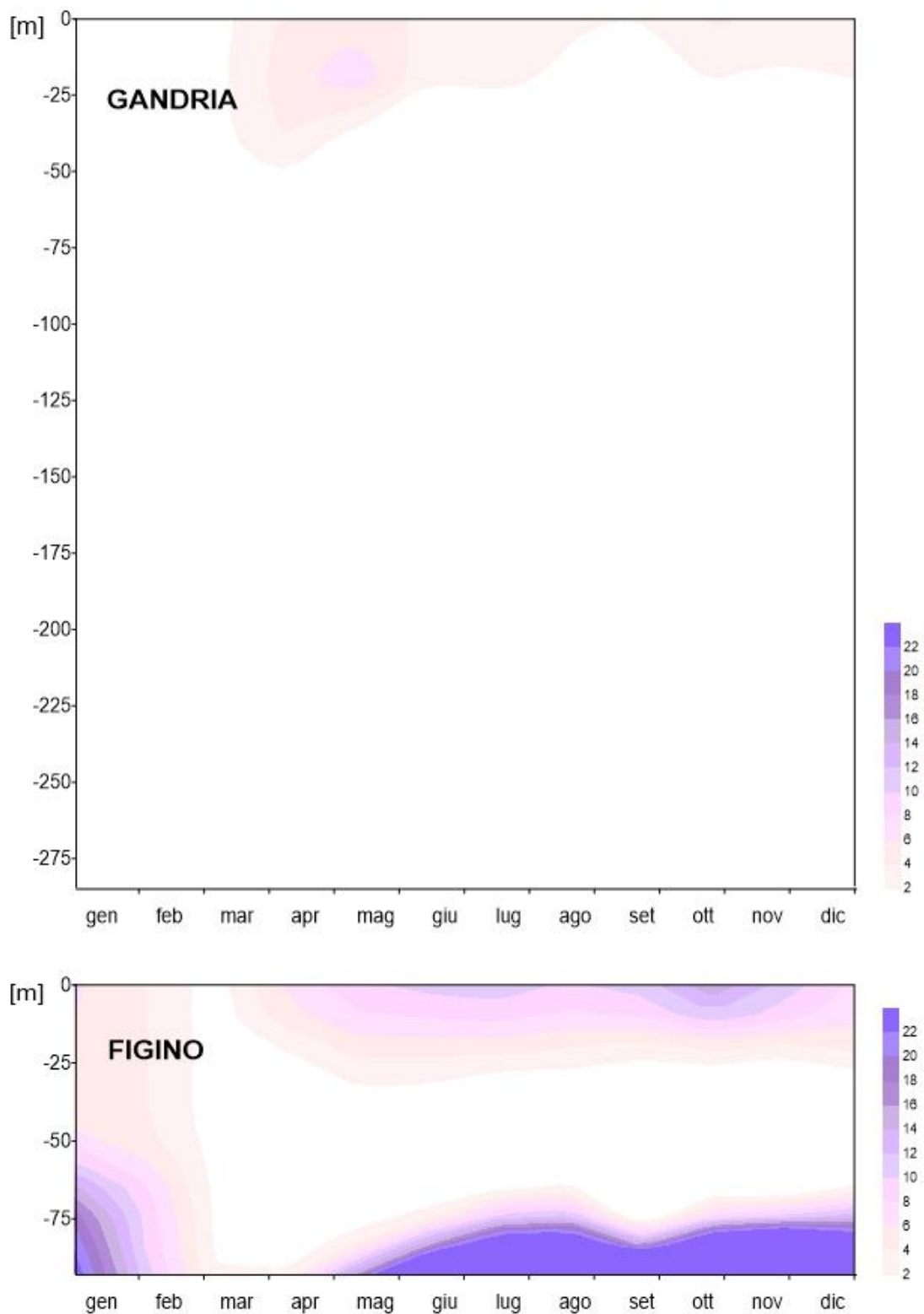


Figura 4.9. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della concentrazione dell'azoto nitroso in profondità e nel tempo [$\mu\text{g N L}^{-1}$].

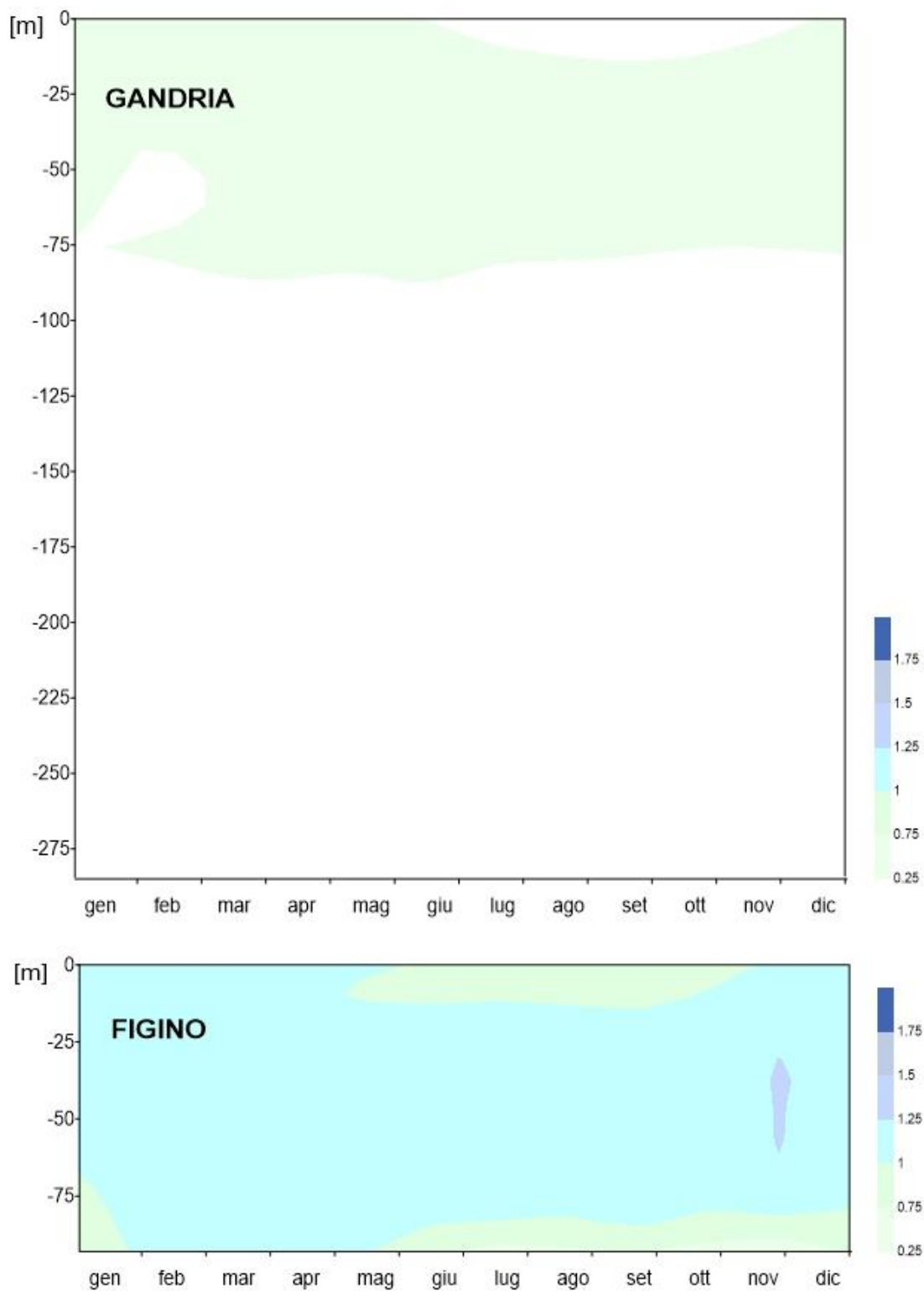


Figura 4.10. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della concentrazione dell'azoto nitrico in profondità e nel tempo [mg N L^{-1}].

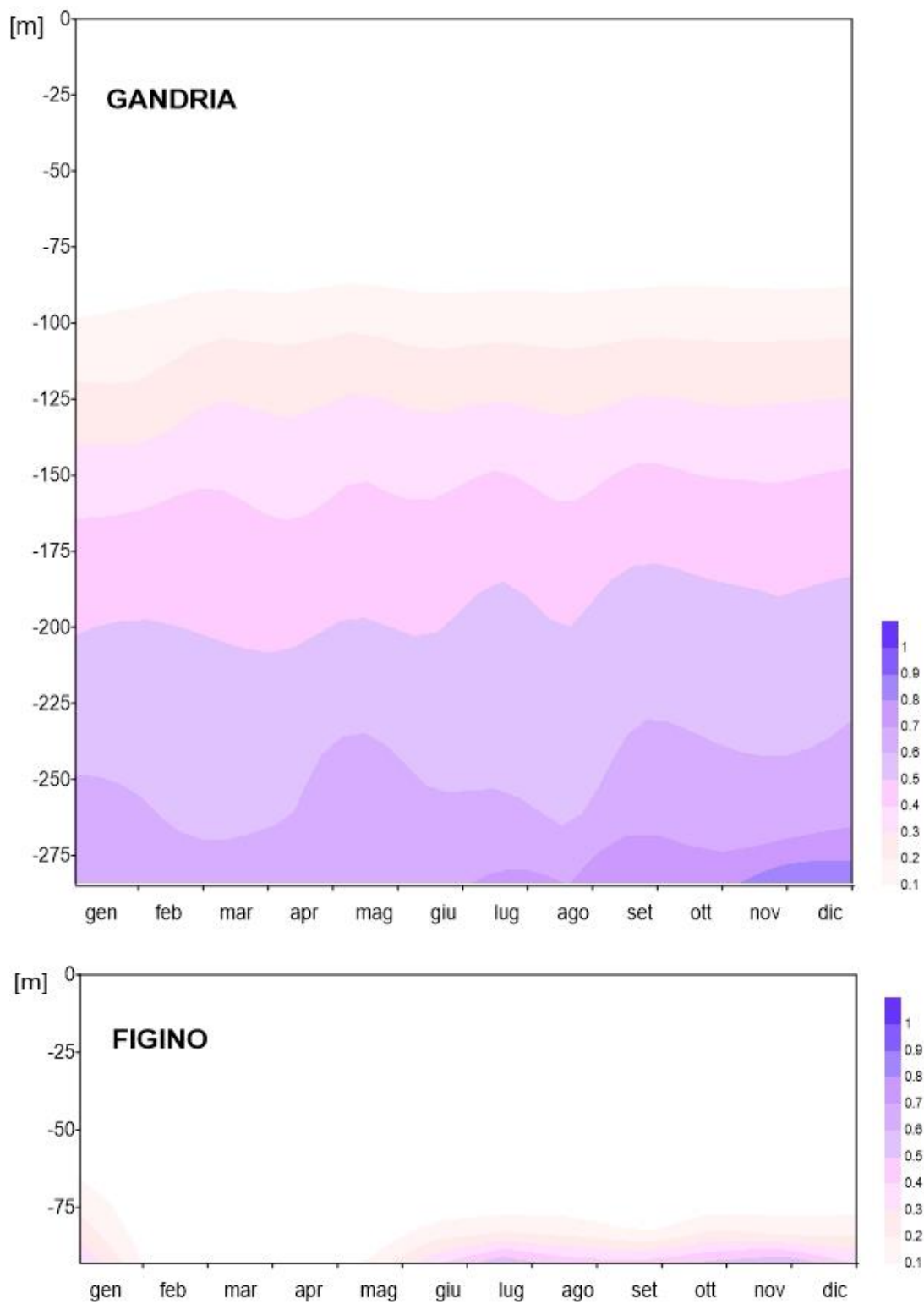


Figura 4.11. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della concentrazione dell'azoto ammoniacale in profondità e nel tempo [mg N L^{-1}].

4.4. Golfi secondari

Nel 2022 è stata introdotta un'indagine sulle dinamiche dei macronutrienti (fosforo, azoto e silice) nello strato produttivo (0-20 m di profondità) nella stazione di Melide e nei golfi secondari. Le dinamiche delle stazioni di Gandria e Figino sono state simili a quelle osservate nei golfi dei rispettivi bacini per tutti i parametri, con minime differenze, soprattutto nel bacino sud.

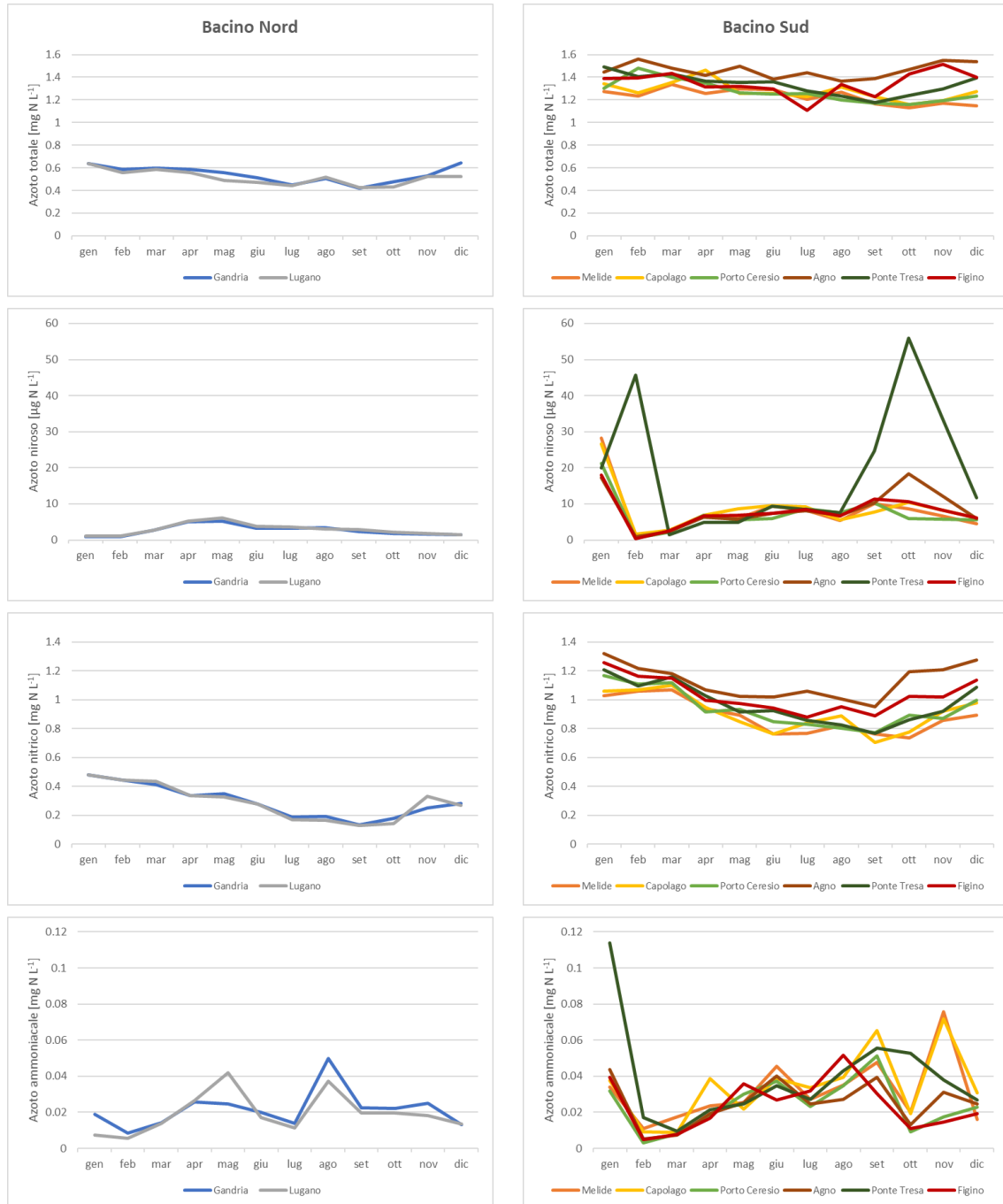


Figura 4.12. lago di lugano, 2022: andamento mensile delle concentrazioni di azoto totale, nitroso, nitrico e ammoniacale nelle stazioni di campionamento dei bacini nord e sud.

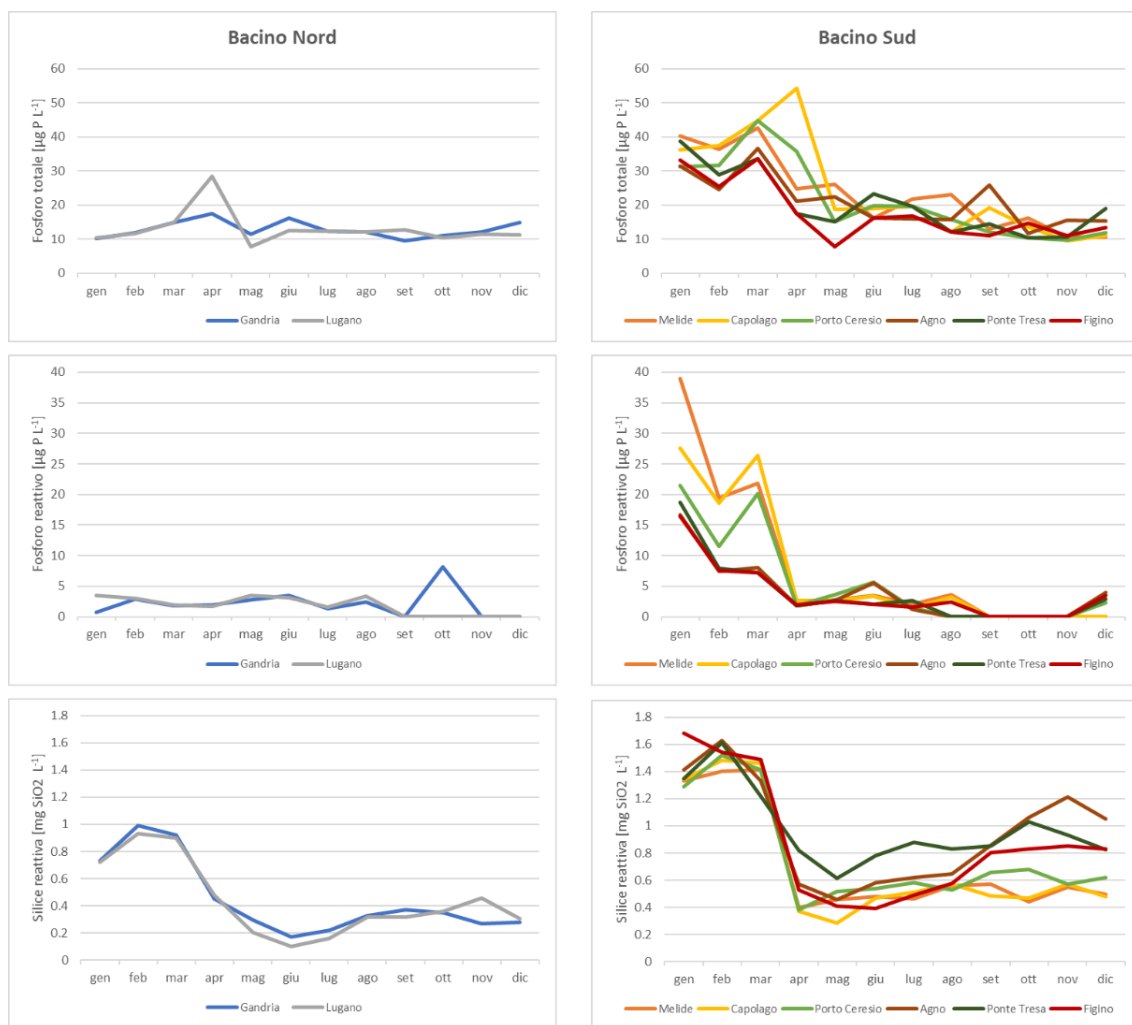


Figura 4.13. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile delle concentrazioni di fosforo totale e reattivo e di silice reattiva (strato 0-20 m) nelle le stazioni di campionamento dei bacini nord e sud.

Complessivamente, è stato osservato un maggior tenore di azoto totale nel bacino sud rispetto al bacino nord, dovuto a un maggior contributo di azoto nitrico (Figura 4.12). L'azoto totale è stato sensibilmente maggiore nel golfo di Agno su tutto il corso dell'anno (media annua 1.46 mg N L^{-1}), probabilmente a causa del carico in entrata dal fiume Vedeggio, che nel suo tratto terminale riceve i reflui depurati dell'IDA di Bioggio. Similmente, la stazione di Melide e il golfo di Capolago, hanno mostrato un picco di azoto ammoniacale tardo-autunnale, mentre nella stazione di Figino le concentrazioni sono apparse più stabile, probabilmente a causa dell'apporto continuo dal tributario Laveggio. L'azoto nitrico ha mostrato una riduzione nei mesi estivi in tutti i golfi, più marcata nel bacino di Ponte Tresa, dove anche la biomassa fitoplanctonica è risultata maggiore (Capitolo 5). In questo bacino sono stati osservati anche dei picchi anomali di azoto nitroso e ammoniacale durante la circolazione tardo-invernale e in autunno, che potrebbero essere imputabili a risospensione di questi elementi dagli strati profondi. Tuttavia, vista la mancanza di dati storici di confronto per queste stazioni, questa ipotesi andrà riesaminata in futuro.

Le concentrazioni e le dinamiche del fosforo totale e del fosforo reattivo hanno mostrato nette differenze tra i due bacini del lago (Figura 4.13). Il golfo di Lugano ha mostrato delle concentrazioni di fosforo totale (media annua $13 \mu\text{g P L}^{-1}$) e fosforo reattivo (media annua $2 \mu\text{g P L}^{-1}$) decisamente inferiori rispetto ai golfi del bacino sud. I valori sono risultati piuttosto costanti durante l'anno, fatta eccezione per un picco di fosforo totale osservato in aprile ($29 \mu\text{g P L}^{-1}$; Figura 4.13). Nel bacino sud, il rifornimento epilimnetico di fosforo totale e reattivo dovuto alla circolazione tardo-invernale è stato più evidente. In particolare, nei golfi di Capolago e Porto Ceresio sono stati raggiunti valori di fosforo reattivo pari a $20\text{-}26 \mu\text{g P L}^{-1}$ e fosforo totale pari a $45 \mu\text{g P L}^{-1}$. A Figino, questi apporti sono apparsi minori e di conseguenza anche la media annuale di fosforo totale di questa stazione è stata inferiore a quella misurata nei golfi secondari del bacino sud ($20\text{-}25 \mu\text{g P L}^{-1}$).

5. FITOPLANCTON

Camilla Capelli

Nel corso del 2022 i campioni di fitoplancton e alcuni parametri complementari, tra cui i pigmenti fotosintetici, la produzione primaria e le cianotossine, sono stati raccolti nelle due stazioni principali del lago, Gandria e Figino, secondo le modalità previste dal programma triennale. Dal 2022 è stata introdotta un'indagine della clorofilla nello strato produttivo (0-20 m di profondità) nella stazione di Melide e nei golfi secondari (Lugano, Capolago, Porto Ceresio, Agno, Ponte Tresa).

5.1. Biomassa e composizione tassonomica

I campionamenti di 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 integrati sulla colonna d'acqua compresa tra 0 e 20 m.

Se l'evoluzione stagionale del popolamento fitoplanctonico ha presentato differenze tra i due bacini, complessivamente la biomassa media annua è risultata simile (Gandria 1.2 g m^{-3} , Figino 1.1 g m^{-3}) e in linea con l'anno precedente. La successione temporale dei diversi gruppi fitoplanctonici è risultata simile nei due bacini. Tuttavia, nel bacino nord, il classico picco di crescita primaverile delle diatomee è stato più debole rispetto al bacino sud, ed è stato in parte sostituito da uno sviluppo di cianoficee. Successivamente, in entrambi i bacini si è osservata una fase di chiarificazione per esaurimento dei nutrienti algali negli strati superficiali, mentre il classico sviluppo estivo delle cloroficee è stato poco evidente. Come di consueto, in autunno si è osservato uno sviluppo delle cianoficee, più marcato nel bacino nord, che hanno lasciato il posto alle diatomee nelle fasi finali dell'anno (Figura 5.1).

L'analisi dei principali gruppi tassonomici ha evidenziato una dominanza delle cianoficee in entrambi i bacini. Nel bacino nord, il contributo delle cianoficee alla biomassa annuale è stato di poco inferiore rispetto all'anno precedente (Gandria: 45%) e maggiore rispetto al bacino sud (Figino; 32%; Figura 5.2). Nel bacino nord la presenza di cianoficee è stata costante durante l'anno (massima biomassa: 1.0 g m^{-3} raggiunta in ottobre; Figura 5.1). Nel bacino sud, le cianoficee hanno mostrato una crescita nel periodo primaverile (Figino 0.8 g m^{-3}), per poi calare progressivamente a fine estate (Figura 5.1). In entrambi i bacini *Planktothrix rubescens* è stata la cianoficea dominante, accompagnata da altri generi filamentosi come *Pseudanabaena* e *Limnothrix* (Tabella 5.1). A differenze degli anni precedenti, nel 2022 *Microcystis* non ha raggiunto densità rilevanti nella colonna d'acqua e non ha formato evidenti fioriture superficiali estive.

Anche le diatomee hanno rappresentato una componente quantitativamente importante e in crescita rispetto all'anno precedente, soprattutto nella stazione di Figino (Gandria: 19%, Figino: 31%; Figura 5.2). Nel bacino nord il classico sviluppo primaverile è stato nella norma (1.0 g m^{-3} ad aprile; Figura 5.1), mentre è stato più marcato nel bacino sud (2.2 g m^{-3} ad aprile; Figura 5.1), probabilmente a causa della prolungata circolazione, che ha fornito i nutrienti necessari alla loro crescita (Capitolo 3). Le specie di piccole dimensioni, come *Stephanodiscus*, sono state le più abbondanti in entrambi i bacini. A

queste si sono affiancate specie coloniali di grandi dimensioni, come *Asterionella formosa* e *Fragilaria crotonensis*, soprattutto nelle fasi finali primaverili (Tabella 5.1).

Le cloroficee sono state poco abbondanti, così come l'anno precedente, mostrando valori di biomassa tra i più bassi degli ultimi dieci anni (Gandria: 3%, Figino: 4%; Figura 5.2). La scarsità di questo gruppo è stata evidente in entrambi i bacini. Durante il classico sviluppo estivo le biomasse sono state di poco superiori a 0.1 g m^{-3} (Figura 5.1).

Le criptoficee sono state tra i gruppi più abbondanti in entrambi i bacini (Gandria: 20%, Figino: 16%; Figura 5.2). Il loro andamento è stato pressoché costante, con un picco di biomassa raggiunto in marzo in entrambi i bacini (Figura 5.1).

Le dinoficee sono rimaste su valori di biomassa moderati in entrambi i bacini, in linea con gli anni precedenti (9% rispettivamente; Figura 5.2). Tra i gruppi meno abbondanti, le coniugatoficee e le crisoficee si sono mantenute su livelli modesti (1-2%; Figura 5.2), mentre le xantoficee sono risultate presenti solo nel bacino sud, con biomasse scarse ($< 0.5\%$; Figura 5.2).

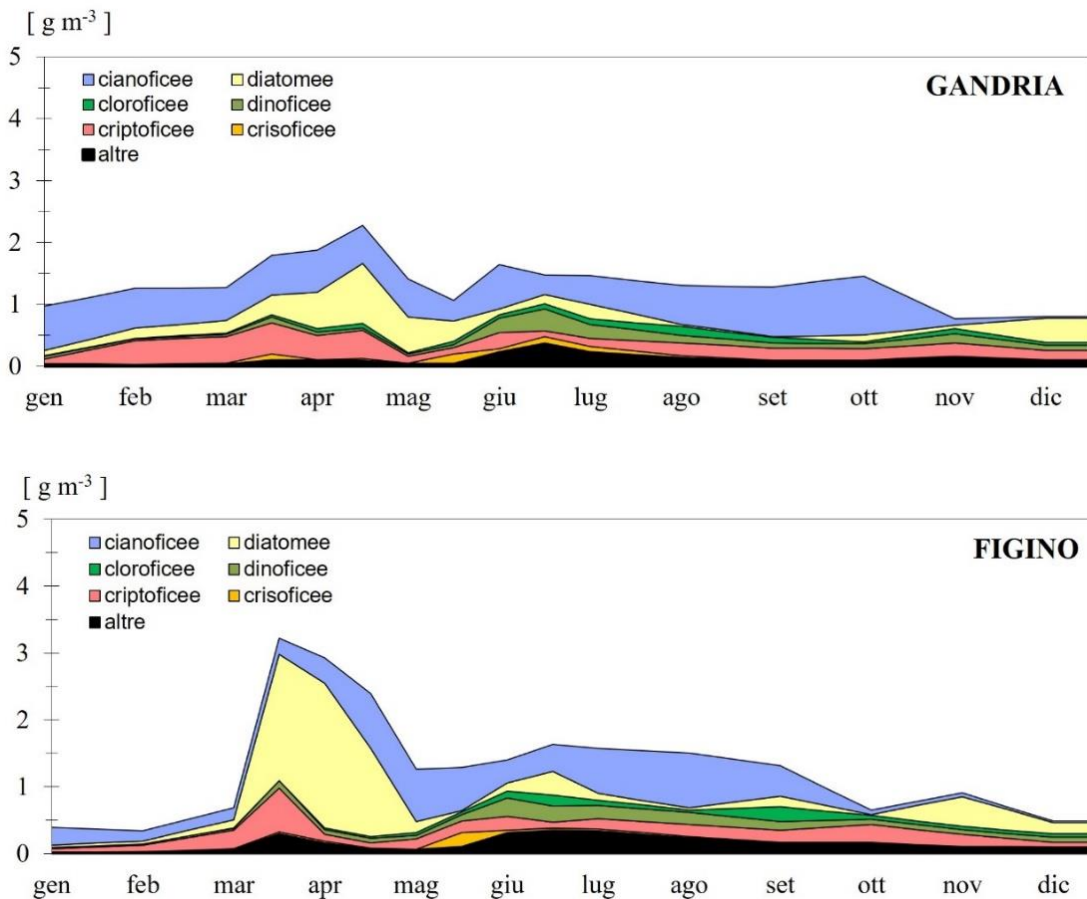


Figura 5.1. Lago di Lugano, 2022: andamento delle biomasse cumulate del fitoplancton (peso fresco) nello strato 0-20 m.

Tabella 5.1. Lago di Lugano, 2022: principali taxa fitoplanctonici nello strato 0-20 m, per mese e stazione di campionamento (densità in 10⁶ cellule L⁻¹).

	GANDRIA	FIGINO
Gennaio	<i>Planktothrix rubescens</i> (14.1) <i>Limnothrix</i> sp. (1.4)	<i>Planktothrix rubescens</i> (5.4)
Febbraio	<i>Planktothrix rubescens</i> (13.1) <i>Limnothrix</i> sp. (1.4)	<i>Planktothrix rubescens</i> (3.1)
Marzo	<i>Planktothrix rubescens</i> (13.2) <i>Chrysochromulina</i> sp. (3.9) <i>Rhodomonas</i> sp. (0.7)	<i>Stephanodiscus parvus/min.</i> (10.1) <i>Planktothrix rubescens</i> (4.9) <i>Chrysochromulina</i> sp. (1.3) <i>Asterionella formosa</i> (0.6) <i>Aulacoseira islandica</i> (0.5)
Aprile	<i>Planktothrix rubescens</i> (14.0) <i>Stephanodiscus parvus/min.</i> (2.9) <i>Pseudanabaena limnetica</i> (1.7) <i>Diatoma tenue</i> (0.7) <i>Asterionella formosa</i> (0.4)	<i>Planktothrix rubescens</i> (16.2) <i>Asterionella formosa</i> (3.6) <i>Pseudanabaena limnetica</i> (1.8) <i>Stephanodiscus parvus/min.</i> (1.5) <i>Fragilaria crotonensis</i> (1.2) <i>Limnothrix</i> sp. (1.1) <i>Chrysochromulina</i> sp. (1.1)
Maggio	<i>Planktothrix rubescens</i> (11.8) <i>Pseudanabaena limnetica</i> (2.6) <i>Fragilaria crotonensis</i> (0.3)	<i>Planktothrix rubescens</i> (15.2) <i>Pseudanabaena limnetica</i> (1.3) <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (1.0)
Giugno	<i>Pseudanabaena limnetica</i> (15.8) <i>Planktothrix rubescens</i> (8.6) <i>Limnothrix</i> sp. (4.9) <i>Chrysochromulina</i> sp. (1.3)	<i>Planktothrix rubescens</i> (7.8) <i>Cyanodiction</i> sp. (5.6) <i>Pseudanabaena limnetica</i> (1.4) <i>Fragilaria crotonensis</i> (0.6)
Luglio	<i>Planktothrix rubescens</i> (8.8) <i>Pseudanabaena limnetica</i> (2.0) <i>Limnothrix</i> sp. (1.7) <i>Fragilaria saxoplanctonica</i> (1.7)	<i>Cyanodiction</i> sp. (21.2) <i>Aphanothece</i> sp. (16.0) <i>Planktothrix rubescens</i> (11.4)
Agosto	<i>Aphanocapsa</i> sp. (39.8) <i>Aphanothece</i> sp. (16.0) <i>Planktothrix rubescens</i> (11.7) <i>Chrysochromulina</i> sp. (1.0) <i>Kirchneriella irregularis</i> (0.6)	<i>Planktothrix rubescens</i> (16.3)
Settembre	<i>Planktothrix rubescens</i> (15.1) <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (1.4)	<i>Planktothrix rubescens</i> (9.0) <i>Scenedesmus ecornis/lin.</i> (1.7) <i>Snowella lacustris</i> (0.7)
Ottobre	<i>Planktothrix rubescens</i> (18.1) <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (1.6) <i>Rhodomonas</i> sp. (0.6)	<i>Cyanodiction</i> sp. (5.5) <i>Rhodomonas</i> sp. (1.1) <i>Eutetramorus</i> sp. (0.2)
Novembre	<i>Limnothrix</i> sp. (2.3)	<i>Cyclotella</i> sp. (1.0)
Dicembre	<i>Limnothrix</i> sp. (1.2) <i>Fragilaria crotonensis</i> (0.6)	<i>Limnothrix</i> sp. (1.2) <i>Stephanodiscus parvus/min.</i> (0.6)

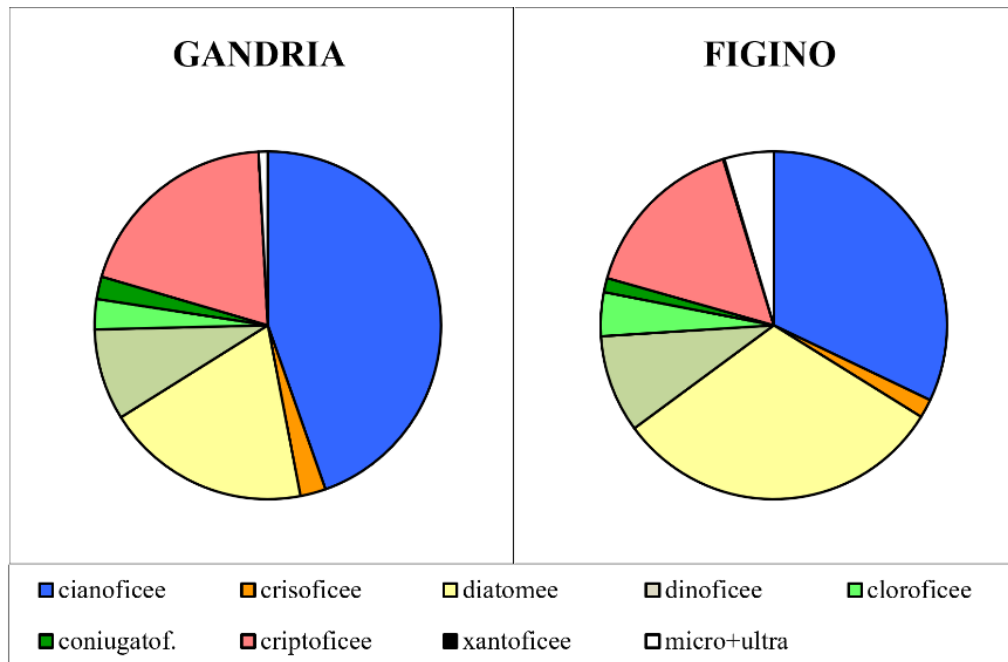


Figura 5.2. Lago di Lugano, 2022: composizione percentuale della biomassa media annua del fitoplancton.

5.2. Pigmenti fotosintetici

Sono stati misurati con frequenza quindicinale nello strato tra 0 e 20 m i pigmenti fotosintetici clorofilla *a*, presente in tutti gli organismi fotosintetici, usata come indice di biomassa totale del fitoplancton, e ficocianina, caratteristica dei cianobatteri ed usata come indice della loro biomassa.

Nel 2022, le concentrazioni medie annue di clorofilla *a* nello strato produttivo (0-20 m) sono state simili in entrambi i bacini (Gandria: 6.3 mg m⁻³, Figino: 6.2 mg m⁻³). Come osservato per la biomassa del fitoplancton, anche la concentrazione di clorofilla è risultata in linea con l'anno precedente. In entrambi i bacini il massimo annuo è stato raggiunto tra marzo e aprile (Gandria: 9.7 mg m⁻³, Figino: 17.0 mg m⁻³; Figura 5.3), un periodo che nel bacino sud ha coinciso con il marcato sviluppo delle diatomee. Questi valori medi annuali indicano uno stato di mesotrofia per entrambi i bacini secondo la classificazione OECD (Vollenweider & Kerekes 1982). Anche i valori estivi (giugno-agosto), spesso usati come indice dello stato trofico (Nürnberg 1996), si attestano su condizioni di mesotrofia (Gandria 7.5 mg m⁻³, Figino 8.2 mg m⁻³).

La distribuzione spazio-temporale della clorofilla *a* (profili verticali a risoluzione quindicinale: Figura 5.4) ha evidenziato in entrambi i bacini un picco all'inizio della fase vegetativa (marzo-aprile). Nel resto dell'anno i valori di clorofilla *a* sono risultati contenuti, specialmente negli strati superficiali, spiegando quindi l'elevata trasparenza delle acque (trattata nel Capitolo 3). La ficocianina ha mostrato un andamento simile a quello della biomassa delle cianoficee in entrambi i bacini (Figura 5.5), con picchi a ridosso del termocline in estate (10-20 m), determinati principalmente da cianoficee metalimnetiche quali *Planktothrix* e *Pseudanabaena* (Tabella 5.1).

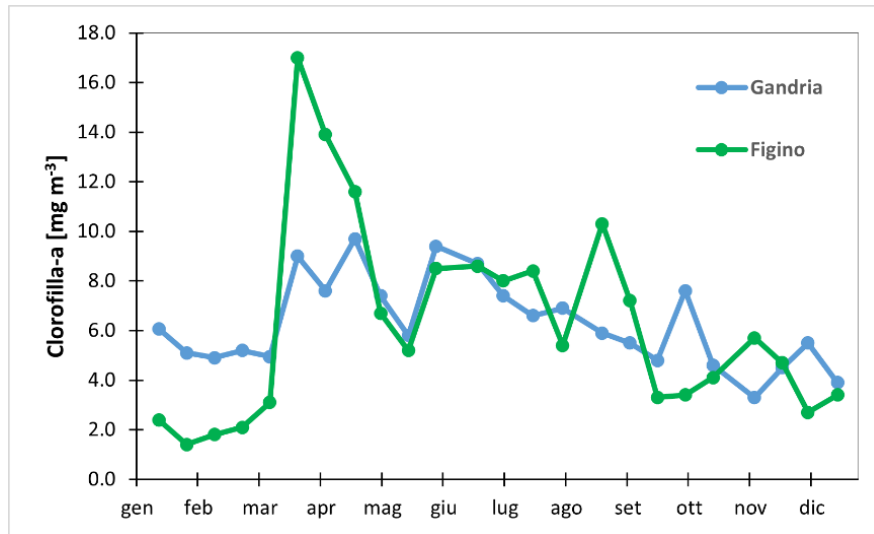


Figura 5.3. Lago di Lugano, 2022: andamento della clorofilla a [mg m^{-3}] nello strato 0-20 m nel corso dell'anno.

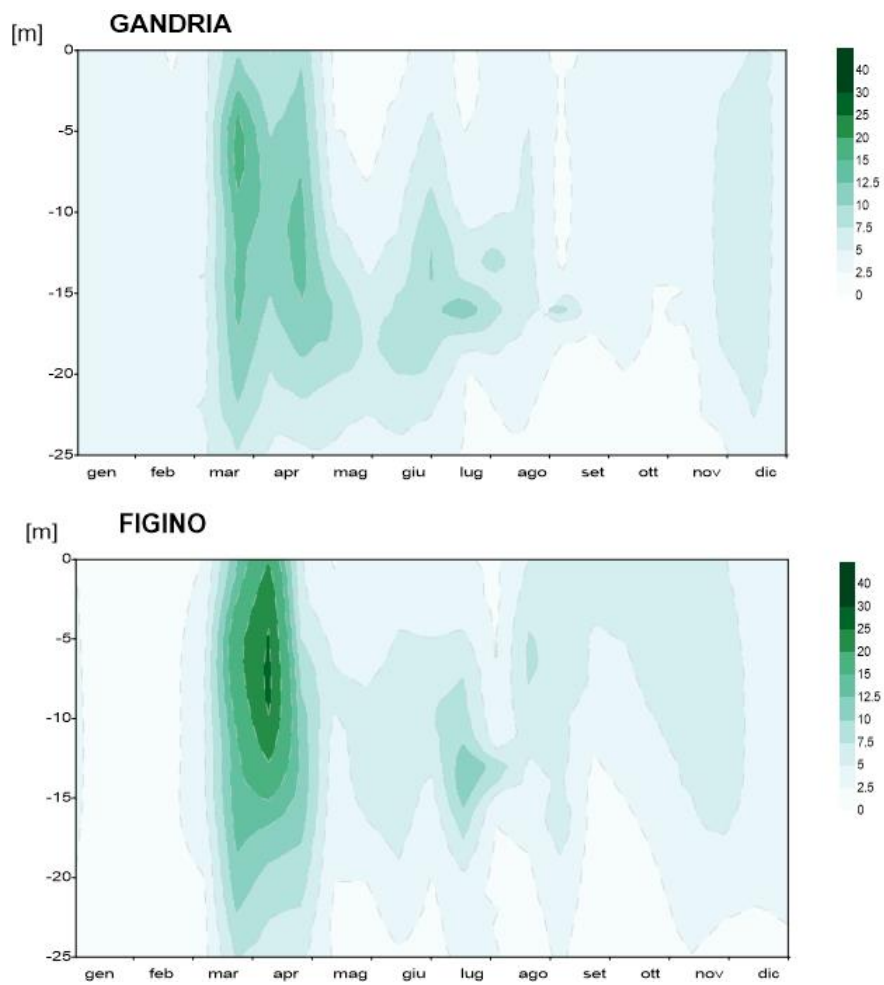


Figura 5.4. Lago di Lugano, 2022: andamento della clorofilla a [mg m^{-3}] nello strato 0-25 m nel corso dell'anno.

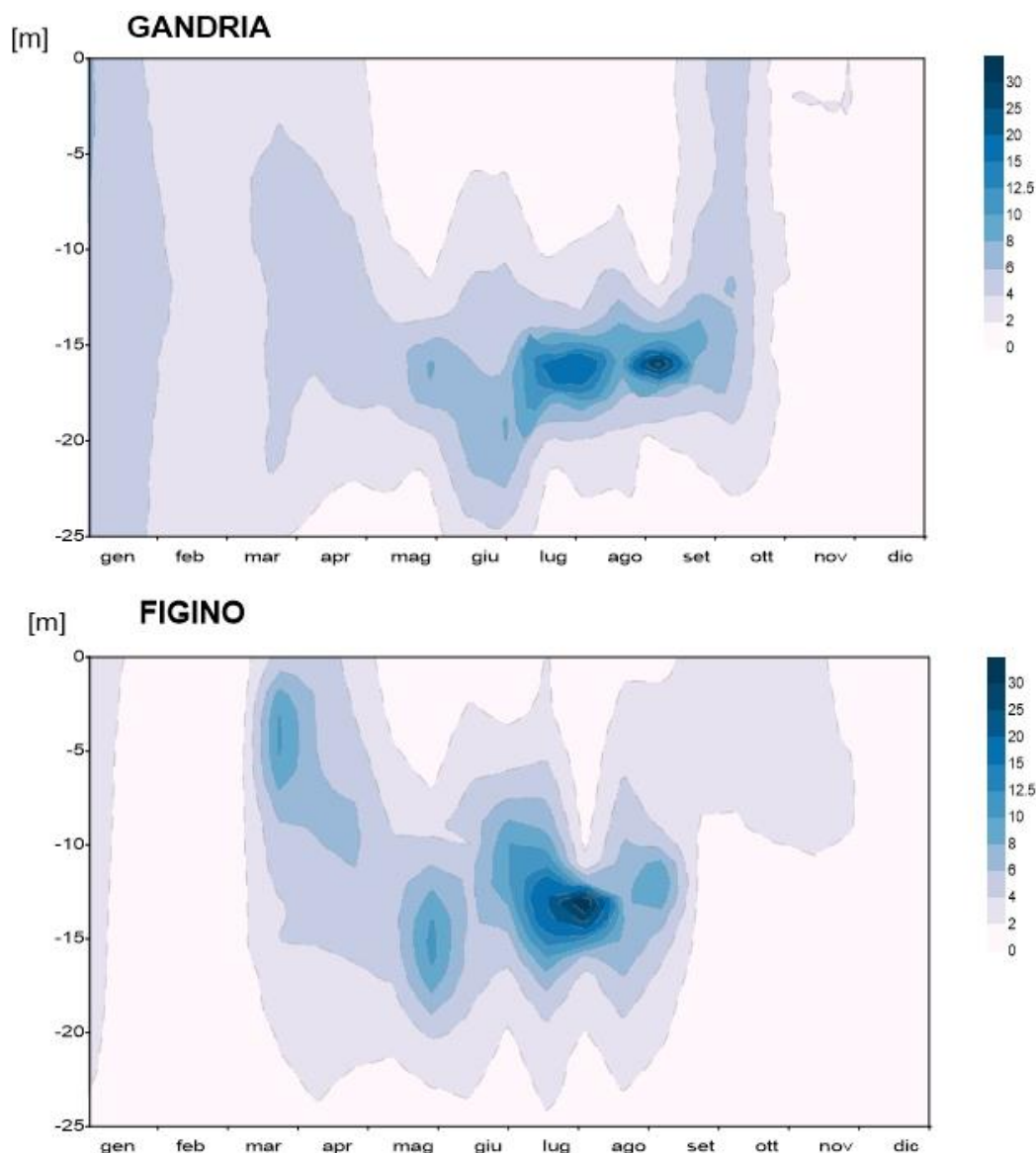


Figura 5.5. Lago di Lugano, 2022: andamento spazio-temporale della ficocianina [Clorofilla-*a* mg m^{-3}] nello strato 0-25 m.

5.3. 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 (insieme a ossigeno disciolto e clorofilla) per le quali è stato definito un obiettivo di risanamento quantitativo ($\leq 150 \text{ g C m}^{-2} \text{ a}^{-1}$; Imboden, 1992).

Nel 2022, la produzione primaria annuale (cumulativa) per unità di superficie è stata pari a $265 \text{ g C m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ a Gandria, e $315 \text{ g C m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ a Figino. Espressi come medie giornaliere, questi valori equivalgono rispettivamente a $0.73 \text{ g C m}^{-2} \text{ g}^{-1}$, e $0.86 \text{ g C m}^{-2} \text{ g}^{-1}$. La produzione primaria è risultata quindi di poco inferiore a quella osservata nel 2021, nonostante una sostanziale similarità nella biomassa del fitoplancton. Nel bacino sud la produzione primaria è stata complessivamente maggiore, ma l'andamento mensile ha messo in evidenza un picco di produzione in primavera in entrambi i bacini (Gandria 1.36

mg C m⁻² g⁻¹ a maggio, Figino 1.71 mg C m⁻² g⁻¹ ad aprile; Figura 5.6), probabilmente dovuto allo sviluppo primaverile delle diatomee. Nel bacino sud è stato osservato un secondo picco in estate, nonostante la scarsa crescita delle cloroficee. Questo picco è di difficile interpretazione poiché non supportato da corrispondente crescita nei valori di biomassa fitoplanctonica e clorofilla *a*.

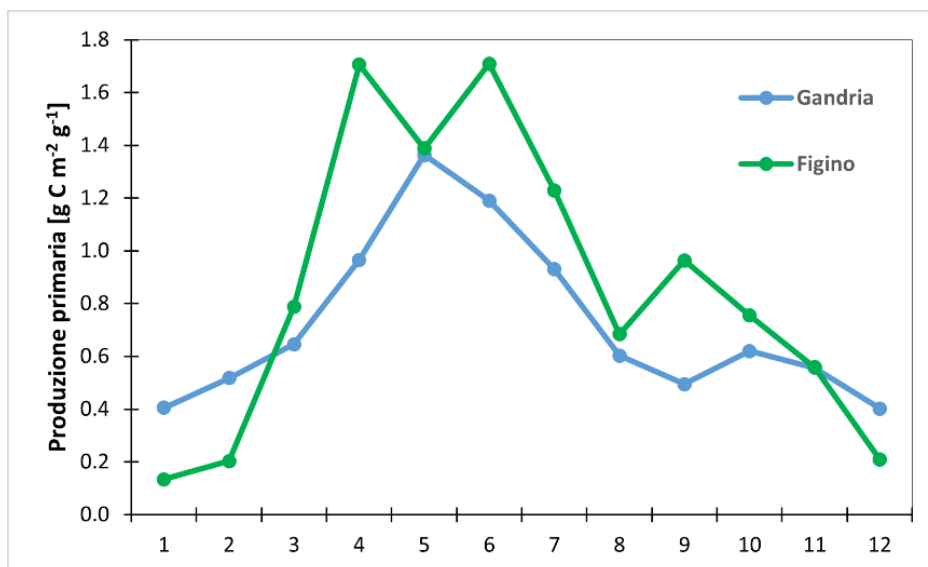


Figura 5.6. Lago di Lugano, 2022: valori giornalieri (media mensile) della produzione primaria per unità di superficie.

5.4. Golfi secondari

A partire dal 2022, è stato inserito nel programma di ricerche lo studio della clorofilla *a* nello strato tra 0 e 20 m nella stazione di Melide e nei golfi secondari. Le misure sono state effettuate con frequenza mensile.

Nel 2022, le concentrazioni medie annue di clorofilla *a* nel golfo di Lugano (5.6 mg m⁻³) sono risultate leggermente inferiori a quanto osservato a Gandria, ma con un andamento simile (Figura 5.7). Nel bacino sud le concentrazioni medie e l'andamento della clorofilla nei golfi sono state in linea con i valori osservati a Figino (media di 6.9 mg m⁻³; Figura 5.7). Come atteso, il golfo di Capolago ha mostrato un andamento pressoché identico alla stazione di Melide, a causa della prossimità dei due punti di campionamento. Il golfo di Agno (7.3 mg m⁻³) e il bacino di Ponte Tresa (8.6 mg m⁻³) hanno invece mostrato concentrazioni medie annue lievemente superiori rispetto a Figino. Questa differenza si spiega con un picco di clorofilla in primavera estivo (Figura 5.7) osservato ad Agno e Ponte Tresa ma non a Figino. In base alle medie annuali e ai massimi della clorofilla, tutti i bacini risultano in condizioni di mesotrofia tranne il bacino di Ponte Tresa che si situa al limite tra mesotrofia ed eutrofia (classificazione OECD). I valori estivi (giugno-agosto), anch'essi usati come indice dello stato trofico (Nürnberg 1996), indicano uno stato di mesotrofia per i golfi di Lugano e Porto Ceresio (7.2-7.5 mg m⁻³), al limite tra mesotrofia ed eutrofia per i golfi di Capolago ed Agno (9.8 mg m⁻³), e di eutrofia per il bacino di Ponte Tresa (13.1 mg m⁻³).

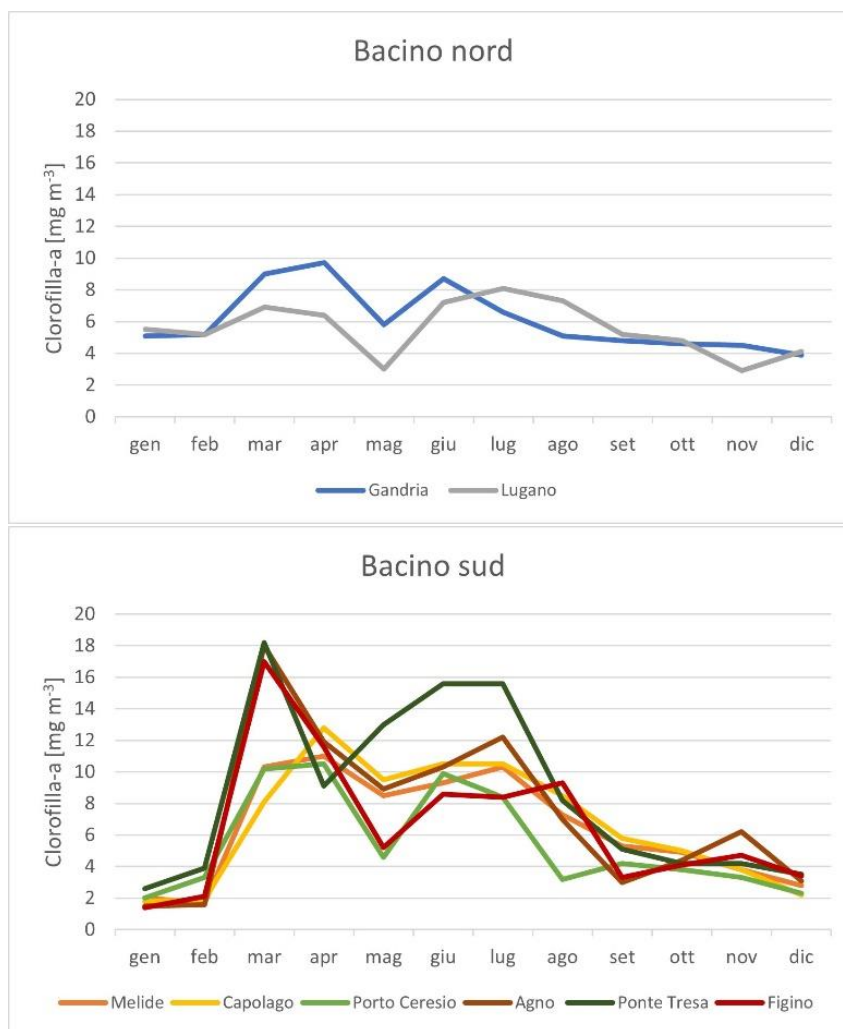


Figura 5.7. Lago di Lugano, 2022: andamento della clorofilla *a* [mg m⁻³] nello strato 0-20 m nel Bacino nord (Gandria e golfo di Lugano) e nel Bacino sud (Figino e golfi secondari).

5.5. Cianotossine

A partire dal 2022, è stato inserito nel programma di ricerche lo studio delle cianotossine (microcistine) nello strato produttivo (0-20 m di profondità) nelle stazioni di Gandria e Figino con frequenza mensile. Durante la circolazione (febbraio-marzo), quando i cianobatteri si ridistribuiscono sulla colonna d'acqua, è stato inoltre aggiunto un campionamento a profondità maggiori (40 m).

La distribuzione spazio-temporale delle microcistine (frazione intracellulare ed extracellulare; Figura 5.8) ricalca parzialmente i profili di ficocianina (Figura 5.5). Nel bacino sud è stato evidenziato un picco di microcistine in primavera (15.70 µg L⁻¹ in maggio), mentre nel bacino nord il massimo è stato raggiunto in estate (12.95 µg L⁻¹ in luglio). In entrambi i bacini i massimi sono stati raggiunti tra i 10 e i 20 m di profondità, probabilmente dovuti a un accumulo della specie metalimnetica *Planktothrix rubescens* (Figura 5.8; Tabella 5.1). Durante la circolazione le microcistine sono scese fino alla profondità di 40 m (Figura 5.8). Nel bacino nord, i valori osservati a 40 m (3.05 µg L⁻¹)

suggeriscono un potenziale problema per la captazione di acqua potabile, che solitamente avviene a questa profondità.

A causa della ridotta risoluzione spaziale, questa analisi non è stata in grado di risolvere la concentrazione massima di cianotossine specialmente nel periodo estivo, che in base ai profili di ficocianina era attesa intorno ai 15 m di profondità in entrambi i bacini.

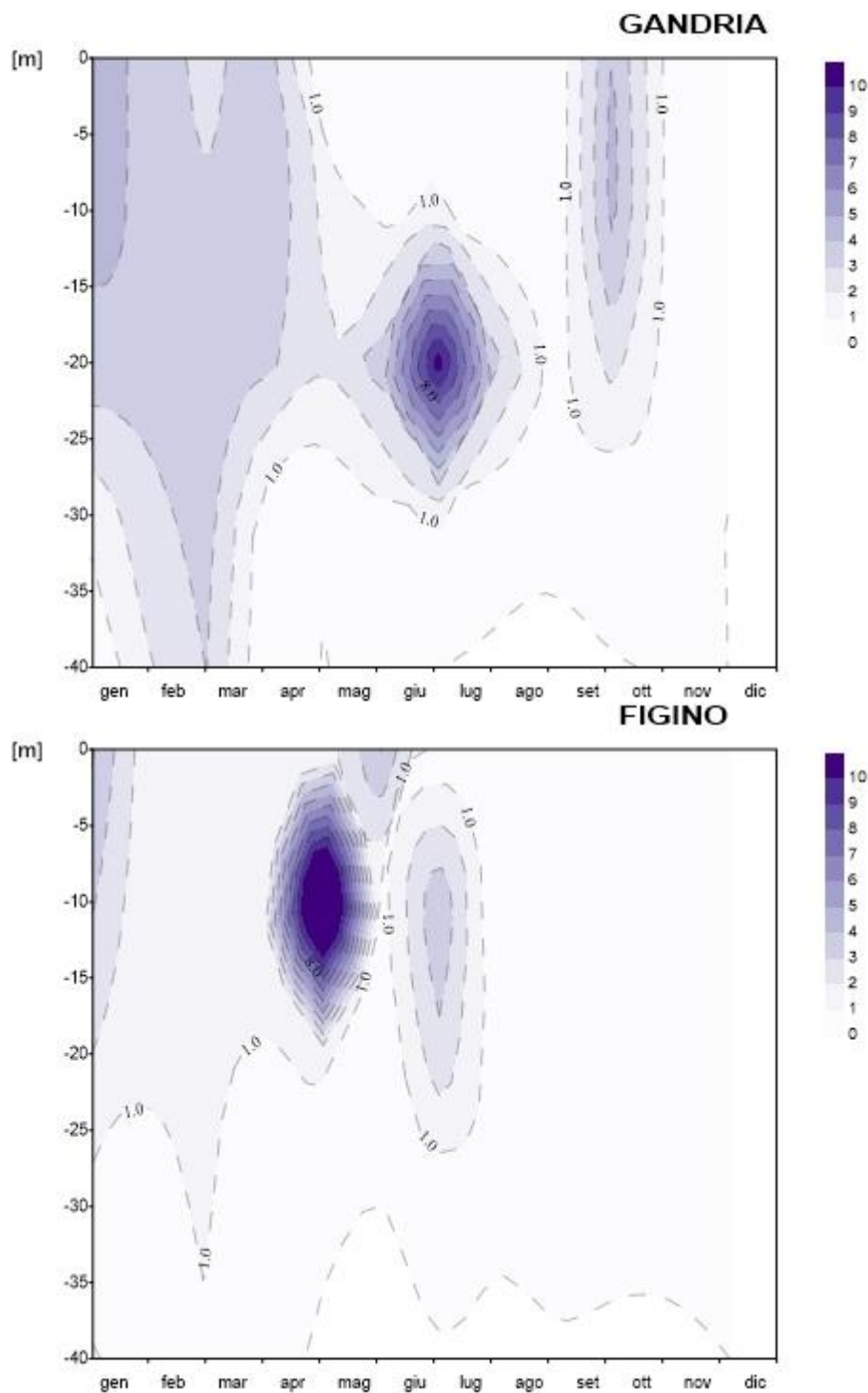


Figura 5.8. Lago di Lugano, 2022: andamento spatio-temporale delle microcistine totali [$\mu\text{g L}^{-1}$] nello strato 0-40 m nelle stazioni di Gandria e Figino.

Bibliografia

- Imboden, D.M. (1992). Possibilities and limitations of lake restoration: Conclusions for Lake Lugano. *Aquatic Sciences*, 54, 381-390. <https://doi.org/10.1007/BF00878149>
- 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. <https://doi.org/10.1080/07438149609354283>
- Vollenweider, R.A. & Kerekes, J. (1982). *Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control*. Paris: Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD).

6. ZOOPLANCTON A CROSTACEI

Fabio Lepori, Aron Castelli

6.1. Biomassa e composizione tassonomica

Le biomasse medie annue dello zooplankton a crostacei sono state pari a 1.7 g PS m⁻² sia a Gandria che a Figino (Tabella 6.1). Nel contesto delle serie storiche a disposizione (1983-2022) si tratta di valori bassi per entrambi le stazioni di campionamento – il quarto e il terzo valore più basso rispettivamente per Gandria e Figino. I valori di biomassa del 2022 sono allineati alla tendenza alla diminuzione in atto ormai da circa due decenni.

Tabella 6.1. Lago di Lugano, 2022: biomassa media annua dei raggruppamenti tassonomici dello zooplankton a crostacei (in g PS m⁻² e in percento rispetto al totale) nelle stazioni di Gandria (bacino nord) e Figino (bacino sud).

	<u>Gandria</u>		<u>Figino</u>	
	biomassa [g PS m ⁻²]	%	biomassa [g PS m ⁻²]	%
Copepoda Cyclopoida	0.97	58	0.70	41
Copepoda Calanoida	0.30	18	0.40	24
Cladocera Daphniidae	0.26	15	0.55	32
Cladocera Bosminidae	0.01	1	0.00	0
Cladocera Sididae	0.01	1	0.00	0
Cladocera Leptodoridae	0.02	1	0.01	0
Cladocera Cercopagididae	0.09	6	0.03	2
Totale	1.67		1.69	

In termini di composizione, lo zooplankton è stato dominato dai copepodi (Tabella 6.1), che hanno contribuito almeno i due terzi (65 – 76%) della biomassa media annuale in entrambe le stazioni. Entro questo raggruppamento, i ciclopoidi hanno fornito un contributo maggiore rispetto ai calanoidi, rappresentando il 76% della biomassa media annuale dei copepodi a Gandria e il 63% a Figino. Tra i cladoceri hanno dominato le dafnie (rappresentate da *Daphnia longispina s.l.*), comunque poco abbondanti rispetto al passato. Come lo scorso anno sono stati scarsi i piccoli cladoceri filtratori (*Diaphanosoma brachyurum* e *Bosmina* spp.) e i cladoceri predatori (tra i quali è stato predominante *Bythotrephes longimanus*).

L'evoluzione mensile delle biomasse suddivise per raggruppamento tassonomico (Figura 6.1) ha evidenziato differenze tra stazioni e raggruppamenti. Per i copepodi, si è osservato un andamento stagionale marcato a Gandria, con distinti sviluppi nei periodi primaverile e tardo-estivo, e un andamento più costante a Figino. Tra i copepodi, i Calanoidi hanno mostrato un calo estivo, più marcato a Gandria che a Figino.

L'andamento dei cladoceri (quasi limitati a *Daphnia*) è stato nuovamente atipico, presentando, invece dei classici picchi primaverili e autunnali, un modesto e tardivo picco primaverile (maggio-giugno) seguito da abbondanze discontinue (Gandria) e complessivamente modeste. Lo sviluppo dei cladoceri predatori (in maggior parte *Bythotrephes longimanus*) è stato come di consueto circoscritto al periodo estivo autunnale (agosto-settembre) ma, contrariamente allo scorso anno, si è manifestato quasi solo a Gandria.

6.2. Struttura trofica

In termini di struttura trofica (distribuzione della biomassa tra le diverse categorie trofiche), il 2022 ha proposto un pattern simile a quello del 2021 a Figino, mentre a Gandria sono state riscontrate differenze. A Figino, infatti, hanno nuovamente dominato gli erbivori (42% della biomassa totale), seguiti dagli omnivori (35%; Tabella 6.2, Figura 6.1). Questa situazione fa sottendere una buona disponibilità di fitoplancton edibile e una rete trofica 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). D'altra parte, a Gandria, dove nei 2021 vi era stata una predominanza degli erbivori, nel 2022 si è registrata un'accresciuta abbondanza di omnivori (50% della biomassa totale), che hanno preceduto gli erbivori (27%). Gli erbivori-omnivori sono stati moderatamente rappresentati in entrambe le stazioni. Come già osservato, i carnivori hanno mostrato uno sviluppo saliente solo a Gandria, risultando estremamente scarsi a Figino.

Tabella 6.2. Lago di Lugano, 2022: 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 [g PS m ⁻²]	%	biomassa [g PS m ⁻²]	%
Erbivori	0.45	27	0.71	42
Erbivori-Omnivori	0.26	16	0.36	21
Omnivori	0.84	50	0.59	35
Carnivori	0.11	7	0.04	2

L'andamento mensile delle biomasse suddivise per categoria trofica (Figura 6.1) ha mostrato una predominanza piuttosto continuativa degli omnivori a Gandria (seppur parzialmente interrotta dallo sviluppo primaverile di *Daphnia*) e una prevalenza degli erbivori più concentrata tra metà primavera e fine estate a Figino. Nel periodo estivo, particolarmente tra luglio e agosto, la preponderanza degli erbivori a Figino è stata particolarmente marcata. Questa differenza probabilmente riflette una discrepanza nella disponibilità di fitoplancton edibile (Capitolo 5), alla quale potrebbe essersi aggiunto l'effetto di una minor predazione di *Bythotrephes longimanus* sui *Daphnia* a Figino.

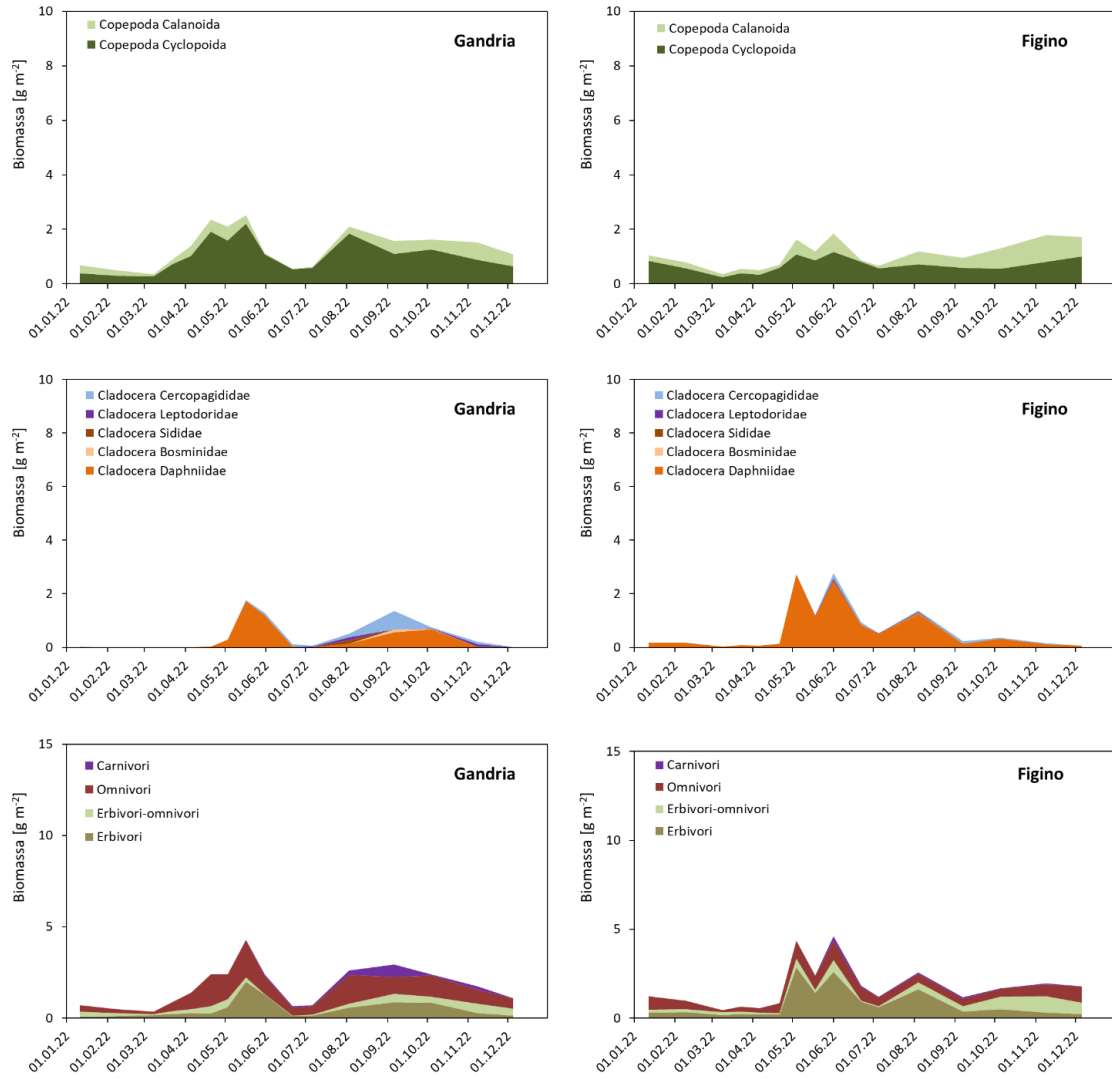


Figura 6.1. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile della biomassa delle categorie trofiche dello zooplankton a crostacei pelagico [g PS m^{-2}].

7. IMMAGINI SATELLITARI

Camilla Capelli, Matteo Roncoroni

A partire dal 2022, nel programma di ricerche è stato inserito lo studio della temperatura e della clorofilla *a* nello strato di superficie di tutto il bacino del Lago di Lugano tramite l'uso di immagini satellitari (Sentinel-3 OLCI e Landsat-8), come integrazione delle analisi svolte *in situ*. L'analisi, che permette di cogliere le dinamiche spazio-temporali sulla superficie dell'intero lago, è stata svolta mensilmente. In alcuni casi tuttavia le analisi coprono solo una parte del bacino a causa della copertura nuvolosa (per esempio Landsat-8 di novembre).

7.1. Temperature superficiali

Le temperature superficiali del Lago di Lugano hanno mostrato un andamento stagionale (Figura 7.1) simile a quello osservato dalle misurazioni *in situ* (Capitolo 3). Nei primi mesi dell'anno le temperature superficiali sono risultate omogenee ($<8^{\circ}\text{C}$), senza differenze sostanziali tra il bacino nord e il bacino sud. Il bacino di Ponte Tresa ha mostrato un raffreddamento maggiore delle acque superficiali a inizio anno, forse dovuto a un mescolamento anticipato grazie alla minore profondità del bacino (Figura 7.1). In primavera, il progressivo riscaldamento delle acque superficiali è stato più marcato nel bacino sud (temperatura media: 14.33°C). Il riscaldamento è proseguito nei mesi estivi ed è culminato nel mese di luglio in entrambi i bacini, in particolare a sud del golfo di Lugano (temperatura media: 28.77°C). A inizio autunno le temperature sono risultate ancora elevate (temperatura media settembre: 26.47°C). Il raffreddamento è poi sopraggiunto gradualmente a partire dal mese di ottobre (Figura 7.1).

7.2. Clorofilla *a*

L'analisi della clorofilla *a* ha mostrato un andamento stagionale negli strati superficiali del Lago di Lugano (Figura 7.2) in parte paragonabile a quanto osservato dalle misurazioni svolte *in situ* (Capitolo 5). Le indagini delle immagini satellitari hanno evidenziato un contrasto fra i mesi autunnali-invernali, con concentrazioni elevate, e quelli primaverili-estivi, con concentrazioni piuttosto basse (Figura 7.2). Le concentrazioni maggiori sono state osservate a gennaio (concentrazione media: 7.41 mg m^{-3} ; Figura 7.2) in entrambi i bacini, probabilmente dovute ad una risospensione delle cianofitiche nella colonna d'acqua durante la circolazione. Nel bacino nord (caratterizzato da uno sviluppo maggiore di *Planktothrix rubescens*; Capitolo 5) queste elevate concentrazioni superficiali sono rimaste evidenti anche nei mesi successivi alla circolazione, mentre nel bacino sud sono diminuite velocemente. Nel bacino sud, le mappe di clorofilla superficiale ottenute da immagini satellitari non permettono di cogliere lo sviluppo primaverile delle diatomee, verificatosi tra fine marzo ed inizio aprile (Capitolo 5). Col proseguire della primavera e fino al termine dell'estate i valori superficiali di clorofilla *a* sono risultati ridotti ($< 5\text{ mg m}^{-3}$; Figura 7.2). In questi mesi, la biomassa fitoplanctonica si è sviluppata principalmente negli strati più profondi a ridosso del termoclino (Capitolo 5). Delle eccezioni sono state riscontrate nei mesi di giugno e settembre in alcune aree del lago (per esempio i golfi di Agno e Porto Ceresio), dove sono state osservate concentrazioni elevate di clorofilla *a* ($> 15\text{ mg m}^{-3}$), probabilmente causate

da fioriture algali non rilevate visivamente o mediante campionamento. In autunno le concentrazioni di clorofilla *a* in superficie sono aumentate nuovamente (Figura 7.2), probabilmente a causa delle fasi iniziali della circolazione, che hanno nuovamente spinto il fitoplancton accumulato negli strati metalimnetici (soprattutto cianoficee) verso la superficie (Capitolo 5). In novembre sono state osservate delle zone caratterizzate da concentrazioni elevate di clorofilla *a* ($> 15 \text{ mg m}^{-3}$; per esempio nell'area compresa tra Melide e Bissonne), che verosimilmente sono state causate da fioriture di cianoficee (per esempio *Planktothrix rubescens*), piuttosto comuni in questo periodo dell'anno nel Lago di Lugano.

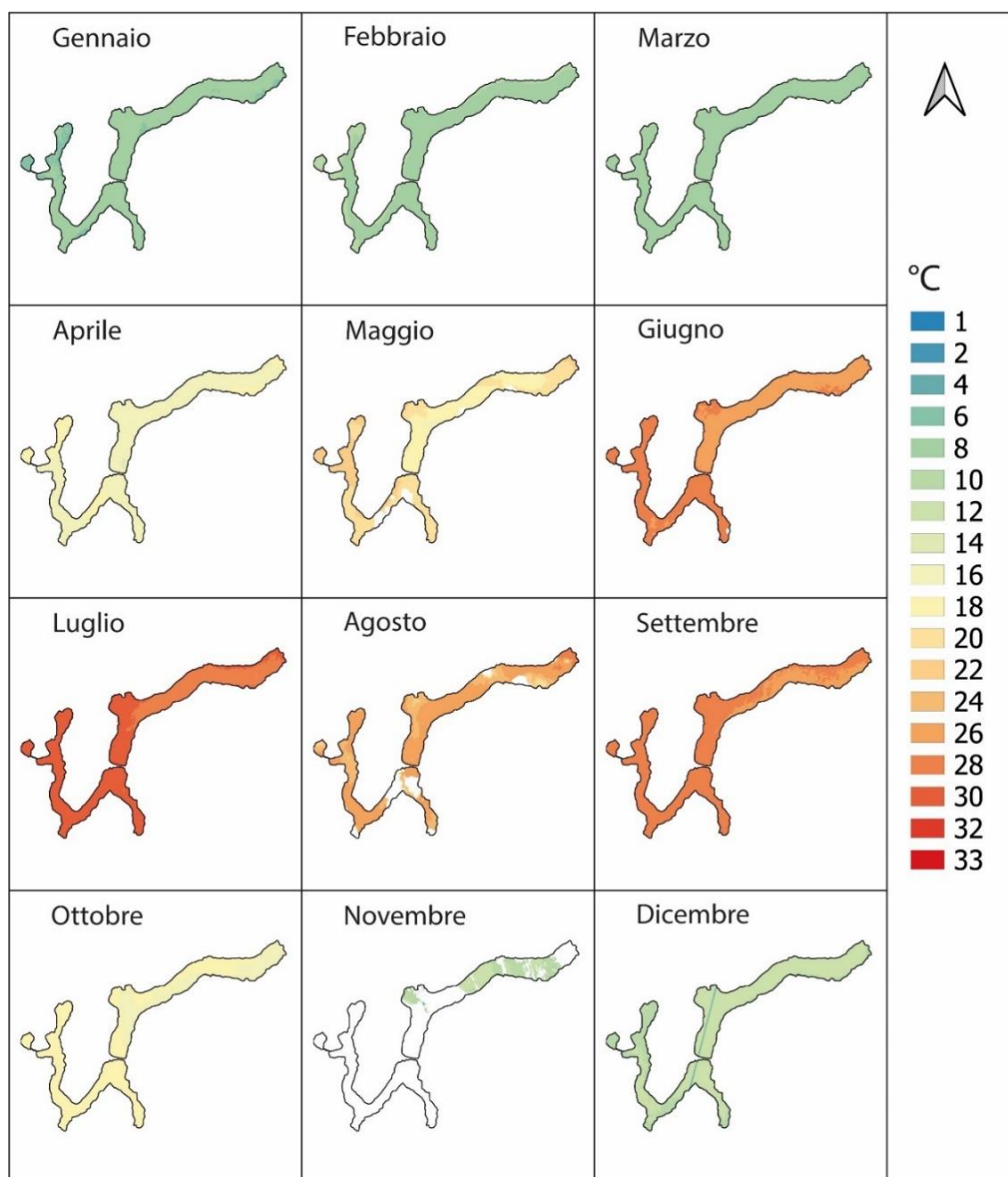


Figura 7.1. Lago di Lugano, 2022: temperature (°C) superficiali mensili stimate da immagini satellitari prodotte dal sensore TIRS di Landsat-8.

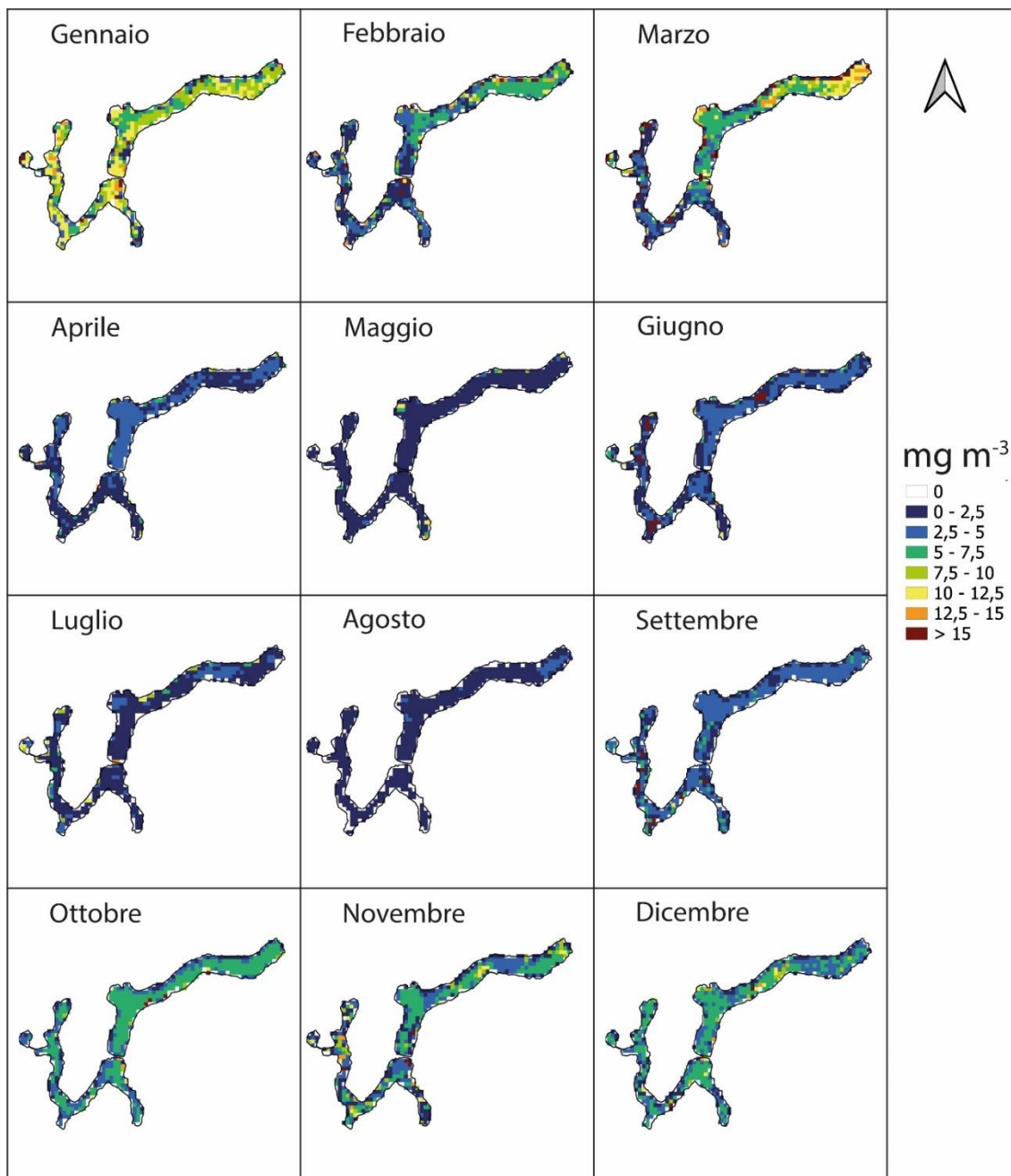


Figura 7.2. Lago di Lugano, 2022: andamento mensile in superficie della clorofilla-a (mg m^{-3}), stimato da immagini satellitari prodotte da Sentinel-3 OLCI (livello 1).

8. MONITORAGGIO DI DETERMINANTI GENICI DI RESISTENZA IN ALCUNI CORSI D'ACQUA

Federica Mauri

8.1. Programma 2022

Per l'anno 2022 è stato eseguito il monitoraggio in tre diversi corsi d'acqua (Vedeggio, Laveggio e Scairolo) a Valle e a Monte dei rispettivi impianti di depurazione delle acque (IDA). I campionamenti sono stati eseguiti a cadenza mensile per la ricerca di determinanti molecolari coinvolti nello sviluppo di antibiotico resistenza: il gene per l'integrasi *intI* e i geni *sul2*, *tetM*, *qnrS*, e *bla_{ctx-M}* che conferiscono resistenza, rispettivamente, a sulfamidici, tetracicline, fluorochinoloni e betalattamici; 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 e cromogene.

8.2. Resistenza agli antibiotici in ambiente acquatico: aspetti generali e ruolo degli impianti di depurazione

La presenza di antibiotici nelle acque è uno dei problemi ambientali emergenti che possono mettere a rischio la salute dell'uomo e degli ecosistemi (Vassallo et al. 2021; Berendonk et al. 2015; Zhuang et al. 2021). 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 (Koch et al. 2021; Larsson and Flach 2022). L'acqua può perciò diventare un serbatoio di popolazioni batteriche resistenti agli antibiotici e di geni di resistenza (Nnadozie and Odume 2019; Liguori et al. 2022). 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 and Rabinowitz 2020; WHO 2020). La raccolta e il trattamento delle acque fognarie negli impianti di depurazione delle acque (IDA) svolgono un ruolo essenziale nella protezione della salute umana e ambientale ma questi sistemi sono stati progettati per rimuovere inquinanti convenzionali, inclusi solidi sospesi, nutrienti e materia organica, tra cui i microorganismi, mentre non sono stati previsti per la rimozione dei microinquinanti quali antibiotici, batteri resistenti e geni di resistenza (Célia M. Manaia et al. 2018). Gli impianti di depurazione trattengono una parte di questi inquinanti ma costituiscono degli "hot spots" per lo sviluppo e la successiva diffusione dell'antibiotico-resistenza a causa degli antibiotici, dei batteri resistenti e geni di resistenza che vi si riversano e che possono poi essere ritrovati nelle acque in uscita dagli impianti (Li et al. 2022). In Svizzera, queste strutture stanno implementando nuove tecnologie per riuscire ad eliminare numerosi microinquinanti. Al momento attuale comunque, residui di antibiotici, batteri resistenti e geni di resistenza possono diffondere nell'ambiente acquatico attraverso i reflui urbani depurati o no (sorgenti puntiformi) e le attività agricolo/industriali (sorgenti diffuse) (Berglund 2015; Grenni 2022; Grenni, Ancona, and Barra Caracciolo 2018; Proia et al. 2018; Toranzos et al. 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, Flach, and Larsson 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.

8.3. Punti di campionamento e prelievi

Il monitoraggio delle acque è iniziato nel mese di gennaio 2022 e i prelievi sono stati effettuati a cadenza mensile (gennaio-dicembre). I fiumi scelti per il monitoraggio sono Vedeggio, Laveggio e Scairolo e i campioni d'acqua sono stati raccolti sia a monte che a valle dei rispettivi impianti di depurazione (Bioggio, Mendrisio e Pian Scairolo). La Figura 8.3 mostra tutti i punti di campionamento considerati per le indagini del 2022. Per ogni campionamento è stato prelevato 1 litro di acqua mediante un contenitore di plastica sterile risciacquato 3-4 volte con acqua dello stesso sito e i campioni sono stati mantenuti a 4°C ed analizzati entro otto ore dal prelievo.

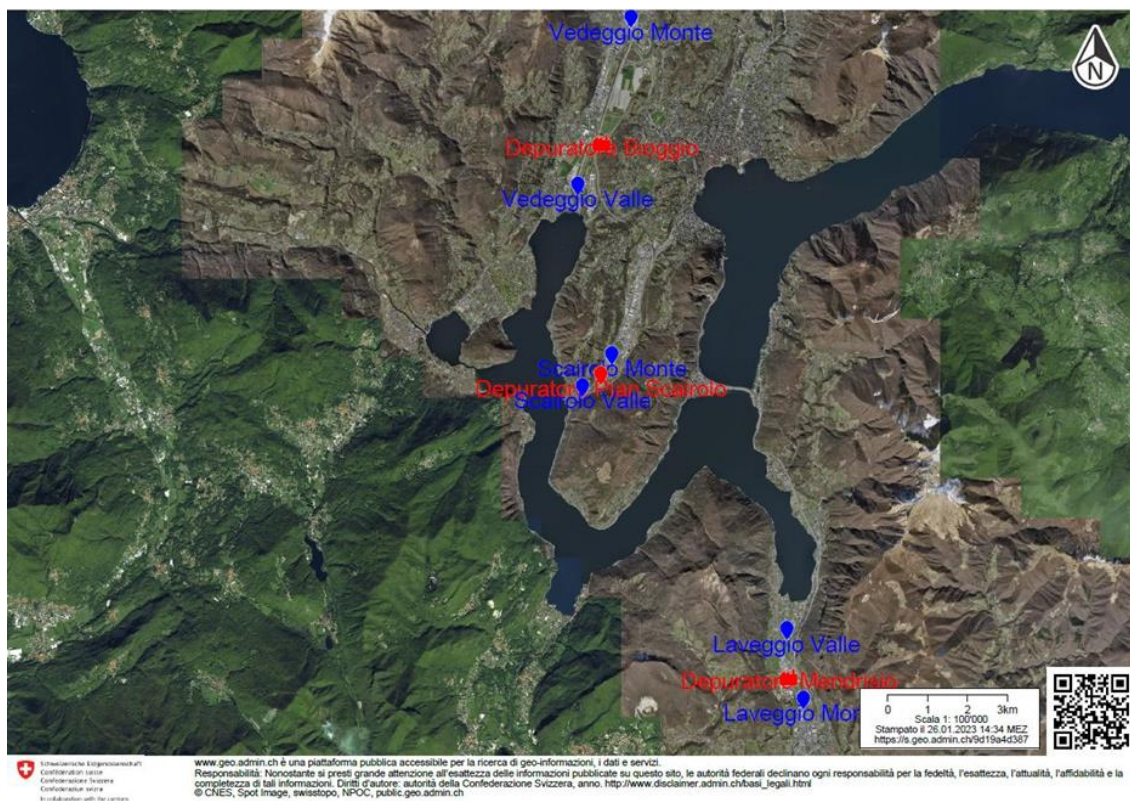


Figura 8.1. Lago di Lugano, 2022: Ubicazione dei punti di prelievo dei fiumi (Vedeggio Monte, Vedeggio Valle, Laveggio Monte, Laveggio Valle, Scairolo Monte, Scairolo Valle), in blu e dei rispettivi impianti di depurazione (Bioggio, Mendrisio e Pian Scairolo), in rosso.

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

8.4.1. Presenza/assenza di determinati genici di resistenza e del gene *intI*

Tutti i geni di resistenza indagati e il gene *intI* sono stati trovati almeno una volta nei campioni analizzati (Tabella 8.1).

Tabella 8.1. Medie annuali espresse come copie/ml dei geni di resistenza, del gene *intI* e del gene *16SrDNA*. In tabella sono presentati i dati dei tre fiumi suddivisi per campionamento effettuato a Monte o a Valle dell'impianto di depurazione.

Monte)						
	<u>sul2</u>	<u>qnrS</u>	<u>tetM</u>	<u>blactxm</u>	<u>intI</u>	<u>16SrDNA</u>
<i>Vedeggio</i>	56	18	34	7	309	16180
<i>Laveggio</i>	13	2	2	0.1	98	4465
<i>Scairolo</i>	95	3	47	0.5	1228	35748

Valle)						
	<u>sul2</u>	<u>qnrS</u>	<u>tetM</u>	<u>blactxm</u>	<u>intI</u>	<u>16SrDNA</u>
<i>Vedeggio</i>	421	130	35	11	9066	42718
<i>Laveggio</i>	160	87	16	2.4	2005	18216
<i>Scairolo</i>	315	88	25	1.4	1863	41747

Pur con evidenti differenze, che saranno discusse in seguito, tra i fiumi e tra i campionamenti a Monte e a Valle, il gene *intI* e il gene di resistenza ai sulfamidici *sul2* sono i più diffusi. Mentre il gene *bla_{ctx-m}* per i beta-lattamici è spesso al di sotto del limite di quantificazione. Il secondo gene di resistenza più diffuso, specialmente nei campionamenti eseguiti a Valle degli IDA, è il *qnrS* per la resistenza ai fluorochinoloni. Il gene per la resistenza alla tetraciclina *tetM* è presente, anche se in basse quantità, sia a Monte che a Valle.

8.4.2. Abbondanza assoluta e abbondanza relativa dei geni di resistenza e del gene *intI*

In termini di abbondanza assoluta il fiume Vedeggio presenta più geni di resistenza, seguito dal fiume Scairolo e infine il Laveggio. Il gene più abbondante è il gene per l'integrasi *intI* che ha raggiunto le 28587 copie/ml nel campione di maggio raccolto dal fiume Vedeggio a Valle dell'impianto di depurazione, seguono il gene *sul2* 1610 copie/ml nel campione di ottobre raccolto dal fiume Vedeggio a Valle dell'IDA, il gene *qnrS* (299 copie/ml ottobre Vedeggio Valle) e il gene *tetM* (259 copie/ml agosto Vedeggio Valle) infine troviamo il gene *bla_{ctx-m}* con 68 copie/ml nel campione raccolto ad agosto nel Vedeggio a Monte dell'IDA. Confrontando i campioni raccolti a Monte e quelli a Valle degli impianti di depurazione è evidente che i geni di resistenza (Figura 8.2), e il gene

16SrDNA (Figura 8.3) sono molto più abbondanti nei campioni dopo gli IDA. Per tutti e tre i fiumi queste differenze sono statisticamente significative ($p < 0.05$). Nei fiumi Vedeggio e Laveggio anche la quantità del gene per l'integrasi *IntI* aumenta in modo significativo a Valle dei rispettivi impianti mentre nel fiume Scairolo questa differenza è meno marcata (Figura 8.4).

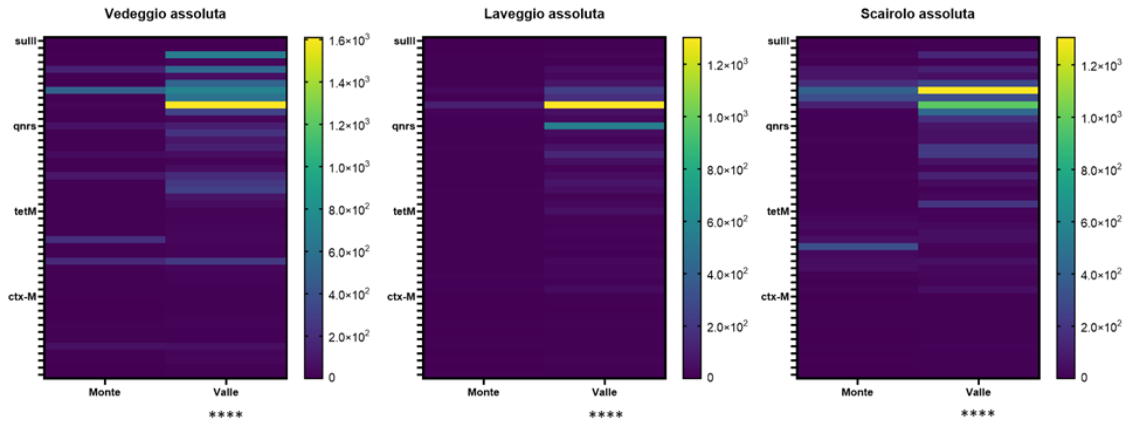


Figura 8.2. Lago di Lugano, 2022: heat maps raffiguranti l'abbondanza assoluta dei geni di resistenza nei tre fiumi considerati nello studio e suddivisi per campionamento (Valle e Monte). La quantità è espressa in copie del gene per ml di acqua campionata. Gli asterischi indicano il grado di significatività della differenza tra i campioni raccolti a Valle e a Monte degli IDA, calcolata mediante test di Wilcoxon per dati appaiati.

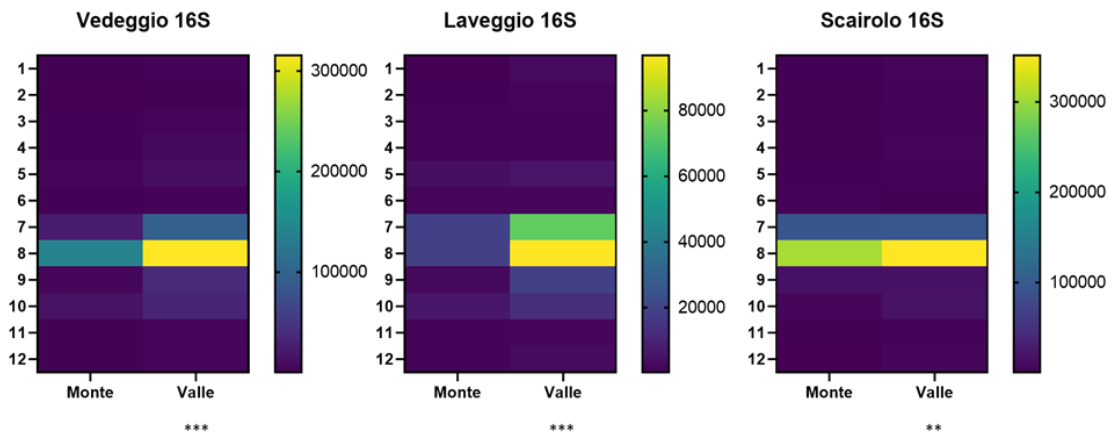


Figura 8.3. Lago di Lugano, 2022: heat maps raffiguranti l'abbondanza assoluta del gene *16SrDNA* nei tre fiumi considerati nello studio e suddivisi per campionamento (Valle e Monte). La quantità è espressa in copie del gene per ml di acqua campionata. Gli asterischi indicano il grado di significatività della differenza tra i campioni raccolti a Valle e a Monte degli IDA, calcolata mediante test di Wilcoxon per dati appaiati.

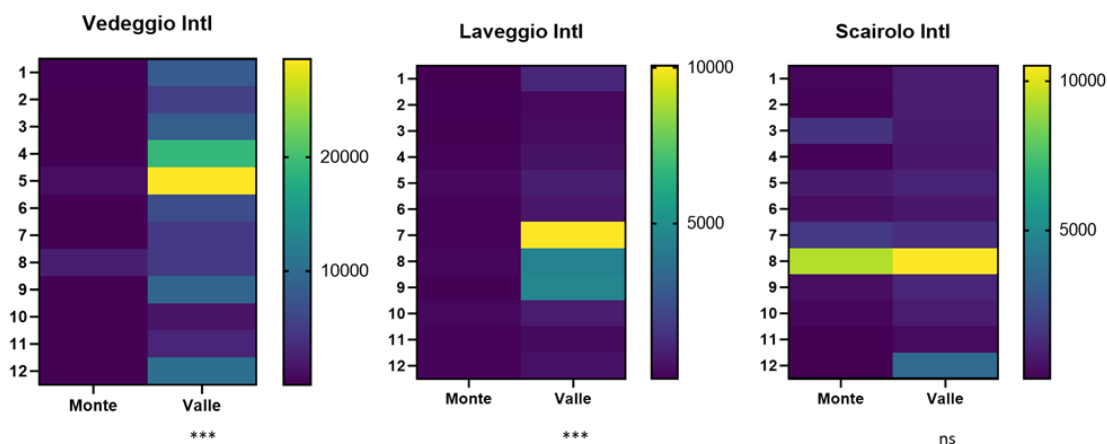


Figura 8.4. Heat maps raffiguranti l'abbondanza assoluta del gene *IntI* nei tre fiumi considerati nello studio e suddivisi per campionamento (Valle e Monte). La quantità è espressa in copie del gene per ml di acqua campionata. Gli asterischi indicano il grado di significatività della differenza tra i campioni raccolti a Valle e a Monte degli IDA, calcolata mediante test di Wilcoxon per dati appaiati. ns, non significativo

Le differenze tra i campioni a Valle e a Monte degli impianti di depurazione si mantengono significative anche normalizzando i dati in base alla quantità del gene *16SrDNA* utilizzato come indicatore della popolazione batterica totale presente nei campioni. L'abbondanza relativa dei geni di resistenza viene anche utilizzata per determinare, potenzialmente, la proporzione di batteri resistenti presenti nella comunità microbica. *sul2* e *qnrS* si confermano i geni di resistenza più presenti nella popolazione batterica totale, accompagnati come già descritto in precedenza del gene per l'integrasi. L'abbondanza relativa di questi geni aumenta a Valle dell'impianto di depurazione. Come riassunto nella Tabella 8.2, il gene *sul2*, nei campionamenti a Monte degli IDA, era presente mediamente nello 0.6%, 0.3% e 1.3% dei batteri nei fiumi Vedeggio, Lavaggio e Scairolo rispettivamente. Lo stesso gene aumenta a Valle degli impianti dove è stato trovato nel 3.3%, 1.6% e 4.4% dei batteri nei rispettivi fiumi. Il gene *qnrS* era presente nel 1.6%, 0.3% e 0.2% dei batteri a Monte e aumenta a Valle fino a 4%, 3% e 2.9% rispettivamente nel fiume Vedeggio, Lavaggio e Scairolo. Il gene *intI* è stato trovato in grande quantità sia a Valle che a Monte degli IDA (Tabella 8.1 e 8.2), in particolare nel fiume Scairolo dove la sua abbondanza relativa rimane costante (Tabella 8.2). Interessante notare come questo gene sia aumentato molto nel fiume Vedeggio a Valle dell'IDA arrivando ad essere più abbondante del gene *16SrDNA* (Tabella 8.2).

8.5. Indagini batteriologiche

8.5.1. Conte totali e isolamento batteri multi-resistenti

Il terreno cromogeno (vedi dettaglio metodi) utilizzato sia per le conte totali sia, con l'aggiunta di antibiotici, per la selezione di batteri multi-resistenti si è rivelato efficace anche per l'analisi di campioni ambientali. Per verificare l'efficacia di questo terreno, solitamente utilizzato in clinica, sono state isolate e identificate nel corso dell'anno 340 colonie di diverso colore. Da questo test è emerso che la maggior parte delle colonie di colore blu isolate dal terreno chromagar sono state identificate come *Enterobacter*

cloacae, *Aeromonas* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecium* e Enterobatteriacee in generale (non *E.coli*); in viola crescono *E.coli* e *Aeromonas*; mentre *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Comamonas* spp. e Flavobatteriacee sviluppano colonie di colore bianco-giallastro.

Tabella 8.2. Medie annuali espresse come percentuale dei geni di resistenza, del gene *intI* normalizzate in base al gene *16SrDNA*. In tabella sono presentati i dati dei tre fiumi suddivisi per campionamento effettuato a Monte o a Valle dell'impianto di depurazione.

Monte)

	<u>Vedeggio</u>	<u>Laveggio</u>	<u>Scairolo</u>
<i>sul2</i>	0.6%	0.3%	1.3%
<i>qnrS</i>	1.6%	0.3%	0.2%
<i>tetM</i>	0.8%	0.2%	2.7%
<i>blactxm</i>	0.1%	0.0%	<0.1%
<i>intI</i>	6.4%	6.2%	27.0%

Valle)

	<u>Vedeggio</u>	<u>Laveggio</u>	<u>Scairolo</u>
<i>sul2</i>	3.3%	1.6%	4.4%
<i>qnrS</i>	4.0%	3.0%	2.9%
<i>tetM</i>	0.4%	0.6%	0.6%
<i>blactxm</i>	<0.1%	<0.1%	<0.1%
<i>intI</i>	216.0%	22.0%	36.0%

Come per i geni di resistenza, anche il numero delle CFU/ml a Valle degli IDA è maggiore rispetto alle CFU/ml contate nei campioni a Monte (Figure 8.5-7) e l'andamento rispecchia quello della quantità del gene 16S. Dai grafici si nota anche un andamento stagionale del numero di batteri sia in termini di CFU/ml che di quantità del gene *16SrDNA*, con un picco nelle stagioni più calde. Tale stagionalità è meno evidente nella distribuzione dei geni di resistenza quantificati nei medesimi campioni.

Dalle piastre chromagar con l'aggiunta di antibiotici (vedi dettaglio metodi), sono state isolate in totale circa 300 colonie di batteri multi-resistenti successivamente raggruppati in 83 pool suddivisi per specie. Anche i batteri resistenti sono stati isolati maggiormente nei campioni raccolti a Valle degli IDA ma non si notano sostanziali differenze nel tipo di specie identificata o nel numero di geni di resistenza presenti nei vari pool. La distribuzione delle specie e del rispettivo numero di resistenze, non presenta differenze nei diversi fiumi; per questo si è deciso di mostrare i risultati in generale per dare una panoramica del tipo di batteri resistenti presenti nei corsi d'acqua monitorati (Tabella 8.3). Le specie batteriche multi-resistenti più diffuse sono *E.coli*, *Enterococcus faecium*, *Citrobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas*

spp., *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. In linea con i risultati dell'abbondanza assoluta e relativa dei geni di resistenza anche nei pool sono maggiormente diffusi i geni, *intI*, *qnrS* e *sul2*. Il gene *bla_{CTX-M}*, spesso presente al limite di quantificazione, è invece molto diffuso nei batteri isolati; in particolare in *E.coli*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (Tabella 8.3).

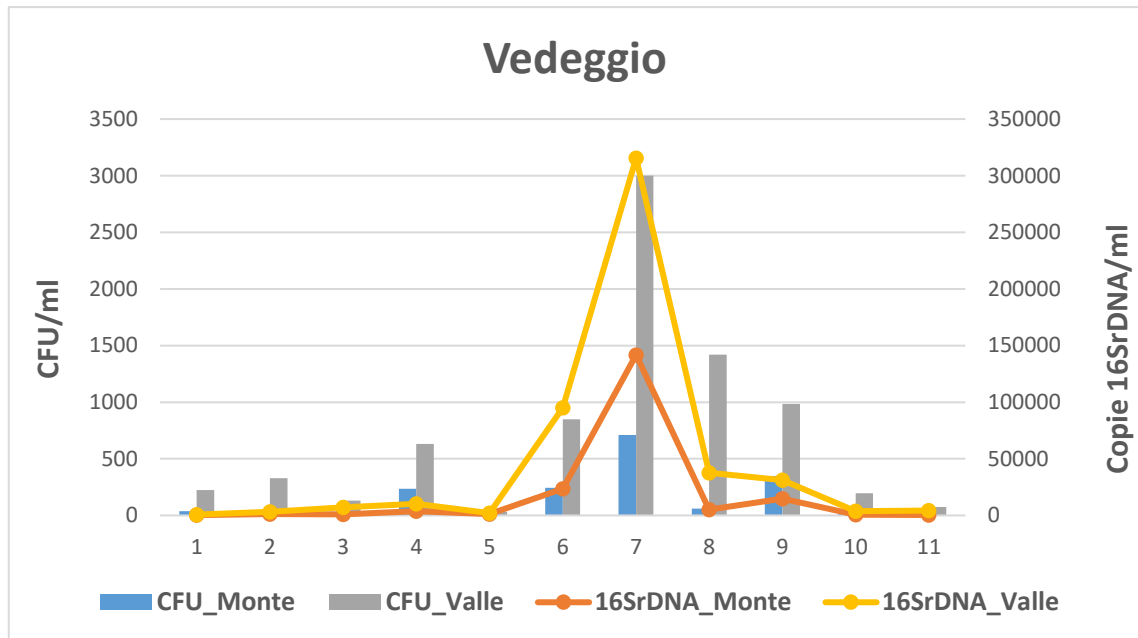


Figura 8.5. Confronto tra CFU/ml e copie del gene *16SrDNA* nei campioni raccolti nel fiume Vedeggio a Monte e a Valle dell'IDA di Bioggio. In blu, CFU/ml a Monte; in grigio CFU/ml a Valle; in arancio, copie/ml del gene *16SrDNA* a Monte; in giallo, copie/ml del gene *16SrDNA* a Valle. Il campione di gennaio è stato omesso per mancanza delle conte totali.

8.6 Confronto con parametri chimico-fisici

I dati relativi all'abbondanza dei geni di resistenza sono stati confrontati con alcuni parametri chimici selezionati dai dati raccolti dall'Istituto Scienze della Terra nell'ambito del monitoraggio CIP AIS sezione di limnologia. I parametri scelti sono quelli maggiormente legati all'attività antropica: fosforo totale, azoto totale, richiesta biochimica d'ossigeno (BOD5), richiesta chimica d'ossigeno (COD) e pH (Beniwal, Kumari, and Jain 2021). Lo scopo era quello di trovare una possibile correlazione tra i parametri chimici ambientali e l'antibiotico resistenza. Dall'analisi non si evidenzia nessuna particolare correlazione. Probabilmente questo tipo di correlazione sarà più efficace sul lungo termine confrontando i dati su più anni di monitoraggio.

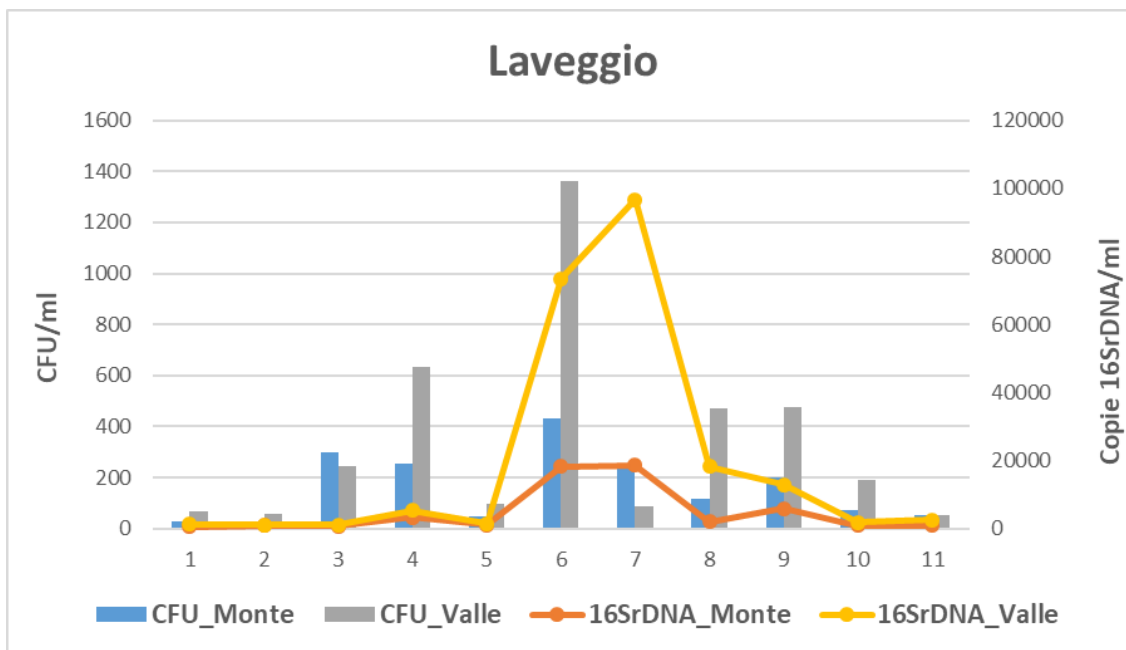


Figura 8.6. Confronto tra CFU/ml e copie del gene *16SrDNA* nei campioni raccolti nel fiume Laveggio a Monte e a Valle dell'IDA di Rancate. In blu, CFU/ml a Monte; in grigio CFU/ml a Valle; in arancio, copie/ml del gene *16SrDNA* a Monte; in giallo, copie/ml del gene *16SrDNA* a Valle. Il campione di gennaio è stato omesso per mancanza delle conte totali.

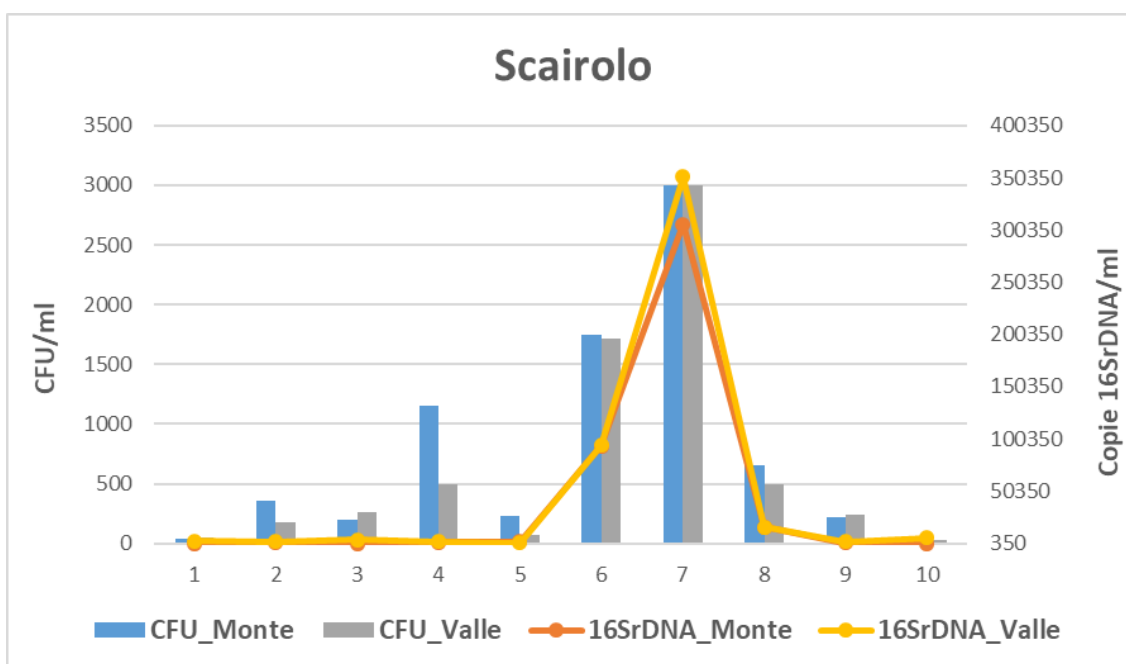


Figura 8.7. Confronto tra CFU/ml e copie del gene *16SrDNA* nei campioni raccolti nel fiume Scairolo a Monte e a Valle dell'IDA di Barbengo. In blu, CFU/ml a Monte; in grigio CFU/ml a Valle; in arancio, copie/ml del gene *16SrDNA* a Monte; in giallo, copie/ml del gene *16SrDNA* a Valle. Il campione di gennaio è stato omesso per mancanza delle conte totali. Il campione di ottobre è stato omesso per un problema tecnico nel rilevamento delle CFU/ml.

Tabella 8.3. Panoramica generale del numero totale di pool collezionati per ciascuna specie e relativi geni di resistenza identificati almeno una volta in uno o più pool.

<i>Specie</i>	<u>n° pool</u>	<u><i>bla_{CTX-M}</i></u>	<u><i>sul2</i></u>	<u><i>qnrS</i></u>	<u><i>tetM</i></u>	<u><i>intI</i></u>
<i>Escherichia Coli</i>	14	X	X	X	-	X
<i>Enterococcus faecium</i>	14	-	-	X	X	X
<i>Citrobacter spp.</i>	13	X	X	X	X	X
<i>Aeromonas spp.</i>	9	X	-	X	-	X
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	X	X	X	-	X
<i>Stenotrophomonas spp</i>	8	-	X	X	-	X
<i>Acinetobacter spp.</i>	6	-	X	X	-	X
<i>Pseudomonas spp.</i>	5	-	-	-	-	X
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	-	-	X	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	X	X	-	-	X
Totale pool	83					

8.7 Conclusioni

I risultati di questo primo anno di monitoraggio confermano che i corsi d'acqua situati in zone fortemente antropizzate, sono serbatoi di geni di resistenza agli antibiotici e di batteri resistenti. Il ruolo degli impianti di depurazione, sulla diffusione delle resistenze in ambiente, sembra essere confermato dai dati. Infatti l'abbondanza dei geni di resistenza e dei batteri resistenti trovati a valle degli impianti è significativamente più elevata rispetto alla quantità trovata a monte dei rispettivi IDA. I dati confermano il ruolo del gene *sul2* e del gene *intI* come marcatori molecolari che indicano la presenza di antibiotico resistenza in ambienti fortemente antropizzati (Haenelt et al. 2023; Nava, Daneshian, and Sarma 2022; Lee et al. 2021). Nel fiume Vedeggio a Valle dell'impianto di depurazione il gene *intI* è risultato essere più abbondante del gene *16SrDNA* superando il 100% dell'abbondanza relativa, questo dato indica che il gene per l'integrasi è presente, potenzialmente, in tutti i batteri. Il terzo gene più diffuso è il gene *qnrS* che conferisce resistenza a i fluorochinoloni, solitamente è presente nelle acque di scarico, nei fanghi attivi e in corsi d'acqua situati nei pressi di impianti di depurazione (Berglund 2015; Castrignanò et al. 2020; Miranda et al. 2022). Da due studi pubblicati nel 2011 sul consumo degli antibiotici a livello ambulatoriale (Achermann et al. 2011) e in ambito ospedaliero (Plüss-Suard et al. 2011) è emerso che nella Svizzera italiana il consumo di fluorochinoloni è ancora elevato, portando ad ipotizzare che la presenza del gene *qnrS* sia strettamente legata al maggiore utilizzo di questi antibiotici. Il gene *tetM* per la resistenza alla tetraciclina è presente in tutti i corsi d'acqua monitorati, senza particolari differenze tra campionamenti a Monte o a Valle degli IDA. In altri studi questo gene è stato trovato in corsi d'acqua non direttamente influenzati da impianti di trattamento delle acque (Su et al. 2020) e spesso al di sotto dei limiti di rilevamento (Czekalski et al. 2015). *bla_{CTX-M}* è il gene meno diffuso nei corsi d'acqua monitorati in questo studio e spesso è stato trovato al di sotto del limite di quantificazione, per questo è difficile valutare la differenza

tra campionamento a Monte e a Valle degli impianti di depurazione. Nel Vedeggio il gene *bla*_{CTX-M} ha raggiunto concentrazioni relative medie di 0.01 copie ogni 1000 copie del gene *16S*, corrispondenti a circa 10 batteri positivi per ogni ml di acqua campionato. Questo dato unitamente al fatto che il gene *bla*_{CTX-M} è stato trovato anche nei batteri isolati nei tre fiumi monitorati, è degno di nota. Infatti il gene *bla*_{CTX-M}, che codifica per delle β -lattamasi ad ampio spettro (ESBL), è il più diffuso tra le Enterobacteriaceae cliniche come *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* (Ramadan et al. 2019; Wang et al. 2013) e si è diffuso rapidamente dai ceppi clinici all'ambiente (Lartigue et al. 2007; R Cantón et al. 2008) grazie al fatto di essere associato a plasmidi altamente mobilizzabili (Amos et al. 2014; Rafael Cantón and Coque 2006; Bevan, Jones, and Hawkey 2017). La sua presenza in ceppi ambientali è strettamente collegata all'utilizzo massiccio degli antibiotici beta-lattamici. Il gene, può essere trasferito anche ad altre specie batteriche della classe delle gammaproteobatteria come *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Aeromonas* spp. (Al Naiemi, Duim, and Bart 2006; Piotrowska et al. 2017; Lu et al. 2010) che possono fungere da vettori contribuendo alla diffusione della resistenza a microrganismi patogeni o patogeni opportunisti (Cèlia M. Manaia 2017). Tra i batteri isolati nel presente studio sono degni di nota *E. coli*, *Citrobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* nei quali sono stati trovati quasi tutti i geni di resistenza indagati; questi batteri appartengono al gruppo dei cosiddetti patogeni ESKAPE (Santajit and Indrawattana 2016) e possono facilmente acquisire geni di resistenza e ritornare all'uomo per esempio attraverso il ciclo di riutilizzo dell'acqua (Cèlia M. Manaia 2017; Aslan et al. 2018; Fahrenfeld et al. 2013). Tra i batteri multi-resistenti isolati dai fiumi monitorati figurano anche tre generi prevalentemente ambientali *Aeromonas* spp., *Acinetobacter* spp. e *Stenotrophomonas* spp., che potrebbero fungere sia da serbatoi che da vettori dei geni di resistenza. In particolare alcuni ceppi di *Aeromonas* isolati possiedono il gene *bla*_{CTX-M} di solito presente nelle enterobatteriacee e il gene *qnrS* spesso associato a elementi genici mobili quindi facilmente trasferibile (Picão et al. 2008; Piotrowska and Popowska 2014; Han et al. 2012a, 2012b). Il gene per la resistenza ai fluorquinoloni *qnrS* è stato trovato anche negli isolati appartenenti al genere *Stenotrophomonas*. Il gene *qnrS* in *Stenotrophomonas* è solitamente associato ad isolati clinici (Gordon and Wareham 2010), nei ceppi di origine ambientale è raramente presente (Furlan et al. 2019). Il gene *intI* per l'integrasi è stato trovato nella maggior parte degli isolati, come già discusso in precedenza, la presenza del gene *intI* è spesso correlata con l'antibiotico resistenza, in particolare con la possibilità di trasferimento orizzontale delle varie cassette geniche (Gillings et al. 2008; Boucher et al. 2007). Analisi molecolari più approfondite (es. metagenomica per confronto tra DNA isolato dall'acqua e DNA isolato dai pool batterici, sia a Valle che a Monte degli IDA; confronto delle sequenze dei geni isolati a Valle e a Monte per identificare similitudini o differenze) potrebbero fornire più informazioni riguardo al ruolo dei diversi microorganismi, alla diffusione delle resistenze nei diversi punti di campionamento e potrebbero aiutare a stabilire i fattori di rischio per la trasmissione delle resistenze all'uomo. 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 (Manaia 2017; Ben et al. 2019) mentre la presenza anche sporadica di geni di resistenza potrebbe interferire con un eventuale trattamento. 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 (Larsson and Flach 2022).

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.

Bibliografia

- Achermann, R., Suter, K., Kronenberg, A., Gyger, P., Mühlemann, K., Zimmerli, W., & Bucher, H. C. (2011). Antibiotic use in adult outpatients in Switzerland in relation to regions, seasonality and point of care tests. *Clinical microbiology and infection*, *17*(6), 855-861. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03348.x>.
- Amos, G. C.A., P. M. Hawkey, W. H. Gaze, and E. M. Wellington (2014). Waste Water Effluent Contributes to the Dissemination of CTX-M-15 in the Natural Environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *69*(7), 1785–91. <https://doi.org/10.1093/jac/dku079>.
- Aslan, A., Cole, Z., Bhattacharya, A., & Oyibo, O. (2018). Presence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in wastewater treatment plant effluents utilized as water reuse for irrigation. *Water*, *10*(6), 805. <https://doi.org/10.3390/w10060805>.
- 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*, 483-493. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.040>.
- Beniwal, V. D., Rinku, K., and Sushma, J. (2021). Physico-Chemical Parameter: An Indicator of Water Pollution. Insight Medical Publishing. *Journal of Environmental Research*. <https://www.imedpub.com/articles/physicochemical-parameter-an-indicator-of-water-pollution.php?aid=40875>.
- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., ... & Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature reviews microbiology*, *13*(5), 310-317. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>.
- Berglund, B. (2015). Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infection ecology & epidemiology*, *5*(1), 28564. <https://doi.org/10.3402/iee.v5.28564>.
- Bevan, E. R., Jones, A. M., & Hawkey, P. M. (2017). Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, *72*(8), 2145-2155. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx146>.
- Boucher, Y., Labbate, M., Koenig, J. E., & Stokes, H. W. (2007). Integrons: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends in microbiology*, *15*(7), 301-309. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.05.004>.
- Cantón, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F., & Coque, T. M. (2008). Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and infection*, *14*, 144-153. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x>.
- Cantón, R., & Coque, T. M. (2006). The CTX-M β -lactamase pandemic. *Current opinion in microbiology*, *9*(5), 466-475. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.08.011>.
- Castrignanò, E., Kannan, A. M., Proctor, K., Petrie, B., Hodgen, S., Feil, E. J., ... & Kasprzyk-Hordern, B. (2020). (Fluoro) quinolones and quinolone resistance genes in the aquatic environment: a river catchment perspective. *Water research*, *182*, 116015. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116015>.
- Czekalski, N., Sigdel, R., Birtel, J., Matthews, B., & Bürgmann, H. (2015). Does human activity impact the natural antibiotic resistance background? Abundance of antibiotic resistance genes in 21 Swiss lakes. *Environment international*, *81*, 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.04.005>.

- Fahrenfeld, N., Ma, Y., O'Brien, M., & Pruden, A. (2013). Reclaimed water as a reservoir of antibiotic resistance genes: distribution system and irrigation implications. *Frontiers in microbiology*, *4*, 130. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00130>.
- Furlan, J. P. R., Sanchez, D. G., Gallo, I. F. L., & Stehling, E. G. (2019). Characterization of acquired antimicrobial resistance genes in environmental *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from Brazil. *Microbial Drug Resistance*, *25*(4), 475-479. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0216>.
- Gillings, M., Boucher, Y., Labbate, M., Holmes, A., Krishnan, S., Holley, M., & Stokes, H. W. (2008). The evolution of class 1 integrons and the rise of antibiotic resistance. *Journal of bacteriology*, *190*(14), 5095-5100. <https://doi.org/10.1128/JB.00152-08>.
- Gordon, N. C., & Wareham, D. W. (2010). Novel variants of the Sm qnr family of quinolone resistance genes in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, *65*(3), 483-489. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp476>.
- Grenni, P. (2022). Antimicrobial resistance in rivers: a review of the genes detected and new challenges. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *41*(3), 687-714. <https://doi.org/10.1002/etc.5289>.
- Grenni, P., Ancona, V., & Caracciolo, A. B. (2018). Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchemical Journal*, *136*, 25-39. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.02.006>.
- Haenelt, S., Wang, G., Kasmanas, J. C., Musat, F., Richnow, H. H., da Rocha, U. N., ... & Musat, N. (2023). The fate of sulfonamide resistance genes and anthropogenic pollution marker int11 after discharge of wastewater into a pristine river stream. *Frontiers in microbiology*, *14*, 1058350. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1058350>.
- Han, J. E., Kim, J. H., Choresca Jr, C. H., Shin, S. P., Jun, J. W., Chai, J. Y., & Park, S. C. (2012). First description of ColE-type plasmid in *Aeromonas* spp. carrying quinolone resistance (qnrS2) gene. *Letters in applied microbiology*, *55*(4), 290-294. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03293.x>.
- Han, J. E., Kim, J. H., Choresca Jr, C. H., Shin, S. P., Jun, J. W., Chai, J. Y., & Park, S. C. (2012). A small IncQ-type plasmid carrying the quinolone resistance (qnrS2) gene from *Aeromonas hydrophila*. *Letters in applied microbiology*, *54*(4), 374-376. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03208.x>.
- Huijbers, P. M., Flach, C. F., & Larsson, D. J. (2019). A conceptual framework for the environmental surveillance of antibiotics and antibiotic resistance. *Environment international*, *130*, 104880. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.074>.
- Koch, N., Islam, N. F., Sonowal, S., Prasad, R., & Sarma, H. (2021). Environmental antibiotics and resistance genes as emerging contaminants: methods of detection and bioremediation. *Current research in microbial sciences*, *2*, 100027. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100027>.
- Larsson, D. J., & Flach, C. F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, *20*(5), 257-269. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>.
- Lartigue, M. F., Zinsius, C., Wenger, A., Bille, J., Poirel, L., & Nordmann, P. (2007). Extended-spectrum β -lactamases of the CTX-M type now in Switzerland. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *51*(8), 2855-2860. <https://doi.org/10.1128/AAC.01614-06>.
- Lee, J., Ju, F., Maile-Moskowitz, A., Beck, K., Maccagnan, A., McArdell, C. S., ... & Bürgmann, H. (2021). Unraveling the riverine antibiotic resistome: the downstream fate of anthropogenic inputs. *Water research*, *197*, 117050. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117050>.
- Li, S., Ondon, B. S., Ho, S. H., Jiang, J., & Li, F. (2022). Antibiotic resistant bacteria and genes in wastewater treatment plants: From occurrence to treatment strategies. *Science of The Total Environment*, *838*, 156544. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156544>.
- Liguori, K., Keenum, I., Davis, B. C., Calarco, J., Milligan, E., Harwood, V. J., & Pruden, A. (2022). Antimicrobial resistance monitoring of water environments: a framework for standardized methods and quality control. *Environmental science & technology*, *56*(13), 9149-9160. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c08918>.

- Lu, S. Y., Zhang, Y. L., Geng, S. N., Li, T. Y., Ye, Z. M., Zhang, D. S., ... & Zhou, H. W. (2010). High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. *Applied and environmental microbiology*, 76(17), 5972-5976. <https://doi.org/10.1128/AEM.00711-10>.
- 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>.
- Manaia, C. M., Rocha, J., Scaccia, N., Marano, R., Radu, E., Biancullo, F., ... & Nunes, O. C. (2018). Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: Tackling the black box. *Environment international*, 115, 312-324. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.044>.
- Martins, A. F., & Rabinowitz, P. (2020). The impact of antimicrobial resistance in the environment on public health. *Future Microbiology*, 15(9), 699-702. <https://doi.org/10.2217/fmb-2019-0331>
- Miranda, C. D., Concha, C., Godoy, F. A., & Lee, M. R. (2022). Aquatic environments as hotspots of transferable low-level quinolone resistance and their potential contribution to high-level quinolone resistance. *Antibiotics*, 11(11), 1487. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111487>.
- Naiemi, N. A., Duim, B., & Bart, A. (2006). A CTX-M extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of medical microbiology*, 55(11), 1607-1608. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46704-0>.
- Nava, A. R., Daneshian, L., & Sarma, H. (2022). Antibiotic resistant genes in the environment-exploring surveillance methods and sustainable remediation strategies of antibiotics and ARGs. *Environmental Research*, 215, 114212. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114212>.
- Nnadozie, C. F., & Odume, O. N. (2019). Freshwater environments as reservoirs of antibiotic resistant bacteria and their role in the dissemination of antibiotic resistance genes. *Environmental pollution*, 254, 113067. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113067>.
- Picao, R. C., Poirel, L., Demarta, A., Silva, C. S. F., Corvaglia, A. R., Petrini, O., & Nordmann, P. (2008). Plasmid-mediated quinolone resistance in *Aeromonas allosaccharophila* recovered from a Swiss lake. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(5), 948-950. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn341>.
- Piotrowska, M., & Popowska, M. (2014). The prevalence of antibiotic resistance genes among *Aeromonas* species in aquatic environments. *Annals of microbiology*, 64, 921-934. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0911-2>.
- Piotrowska, Marta, Dominika Przygodzinska, Klaudia Matyjewicz, and Magdalena Popowska. 2017. "Occurrence and Variety of SS-Lactamase Genes among *Aeromonas* spp. Isolated from Urban Wastewater Treatment Plant." *Frontiers in Microbiology* 8 (MAY): 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00863>.
- Plüss-Suard, C., Pannatier, A., Kronenberg, A., Mühlemann, K., & Zanetti, G. (2011). Hospital antibiotic consumption in Switzerland: comparison of a multicultural country with Europe. *Journal of hospital infection*, 79(2), 166-171. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2011.05.028>.
- Proia, L., Anzil, A., Subirats, J., Borrego, C., Farrè, M., Llorca, M., ... & Servais, P. (2018). Antibiotic resistance along an urban river impacted by treated wastewaters. *Science of the total environment*, 628, 453-466. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.083>
- Ramadan, A. A., Abdelaziz, N. A., Amin, M. A., & Aziz, R. K. (2019). Novel bla CTX-M variants and genotype-phenotype correlations among clinical isolates of extended spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli*. *Scientific reports*, 9(1), 4224. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39730-0>.
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed research international*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>.
- Su, S., Li, C., Yang, J., Xu, Q., Qiu, Z., Xue, B., ... & 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), 552. <https://doi.org/10.3390/ijerph17020552>.

- Toranzos, G., Maronel, S., Santiago-Rodriguez, T., and Sano, D. (2020). Editorial: Antimicrobial Resistance in the Water Environment. *Journal of Water and Health*, 18(6), 855–57. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.002>.
- Vassallo, A., Kett, S., Purchase, D., & Marvasi, M. (2021). Antibiotic-resistant genes and bacteria as evolving contaminants of emerging concerns (e-cec): is it time to include evolution in risk assessment?. *Antibiotics*, 10(9), 1066. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091066>.
- Wang, G., Huang, T., Surendraiah, P. K. M., Wang, K., Komal, R., Zhuge, J., ... & Wormser, G. P. (2013). CTX-M β -Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Suburban New York City, New York, USA. *Emerging infectious diseases*, 19(11), 1803. <https://doi.org/10.3201.1911.121470>.
- WHO (2020). *Antibiotic Resistance Key Facts 2020*.
- Zhuang, M., Achmon, Y., Cao, Y., Liang, X., Chen, L., Wang, H., ... & Leung, K. Y. (2021). Distribution of antibiotic resistance genes in the environment. *Environmental pollution*, 285, 117402. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117402>.

CONCLUSIONI

I risultati delle ricerche della Sezione 1 della CIP AIS sul Lago di Lugano del 2022 rinsaldano alcune tendenze già evidenziate nell'ultimo rapporto triennale. La prima tendenza è quella del riscaldamento del clima e delle acque del lago. Infatti, il 2022 si è aggiunto alla serie di anni eccezionalmente caldi, con temperature medie annuali $\geq 13.5^{\circ}\text{C}$. Questa serie, incominciata due decenni fa, appare in rapida crescita, tanto che dal 2014 in poi la maggior parte degli anni ne fa parte. La seconda tendenza è quella della diminuzione degli apporti di fosforo provenienti dal bacino imbrifero. I carichi relativamente bassi osservati nel 2022 vanno in parte ascritti a contingenze meteorologiche, cioè alle condizioni siccitose, che hanno comportato delle portate mediamente basse nei tributari. Tuttavia, come osservato in precedenza, la tendenza alla diminuzione dei carichi è comprovata anche dall'analisi delle serie pluriannuali. La terza tendenza riguarda l'evoluzione verso uno stato mesotrofico, confermata nel 2022 sia dai valori di clorofilla che da quelli di trasparenza. A queste tendenze si potrebbe aggiungere l'aumento dei fenomeni meteorologici estremi, suggerito dalla grave siccità osservata nella prima parte dell'anno. Questa tendenza è prevista da modelli numerici del clima; tuttavia, si tratta di un'evoluzione probabilistica per ora difficile da rilevare dall'esame di serie storiche, anche se relativamente lunghe (come quelle CIP AIS).

In prospettiva di un bilancio, vanno sottolineati la buona circolazione delle acque e l'aumentata trasparenza tra gli elementi positivi, e i deficit di ossigenazione delle acque profonde, la dominanza dei cianobatteri, la presenza di microcistine anche in profondità, e la diffusione di antibiotico-resistenza tra quelli più problematici. La buona circolazione, in apparente contraddizione con l'ipotesi secondo la quale anni caldi sfavorirebbero il mescolamento della colonna d'acqua, si spiega con il fatto che nel Lago di Lugano le acque profonde si sono scaldate alla stessa velocità delle acque superficiali in inverno. Questa corrispondenza permette al lago di circolare a temperature sempre maggiori nonostante il riscaldamento climatico (perlomeno fino all'arrivo di un nuovo inverno freddo). Resta da chiarire come mai questa stessa tendenza non si sia manifestata in altri laghi perialpini profondi (per esempio Maggiore e Lemano), dove ha prevalso invece la tendenza verso circolazioni più deboli. A questa differenza verranno dedicati approfondimenti di ricerca nel prossimo futuro.

L'ossigenazione ancora critica delle acque ipolimnetiche a fine estate (nonostante il buon rifornimento iniziale dovuto alla circolazione) evidenzia come il lago, nonostante il percettibile miglioramento dei carichi e dello stato trofico, non abbia ancora raggiunto gli obiettivi di qualità fissati dalla CIP AIS e dall'Ordinanza svizzera sulla protezione delle acque (ossigenazione $> 4 \text{ mg L}^{-1}$ sempre e a qualsiasi profondità, fatta eccezione per il monimolimnio di laghi meromittici, come il bacino nord del Lago di Lugano). Questo risultato è coerente con le conclusioni di un recente studio (Lepori et al. 2022), secondo cui solo un ritorno a condizioni di oligotrofia (fosforo totale $\leq 10\text{-}15 \mu\text{g L}^{-1}$) potrebbe garantire una migliore ossigenazione delle acque profonde.

La dominanza dei cianobatteri (tra cui ha nuovamente dominato *P. rubescens*, una specie tossica) consolida osservazioni precedenti e rappresenta una condizione indesiderabile, per esempio perché potenzialmente in grado di limitare la produzione secondaria (zooplankton e fauna ittica pelagica) e di nuocere ad altri usi del lago, quali l'uso ricreativo e l'approvvigionamento idrico. I fattori che determinano la dominanza dei cianobatteri nella comunità fitoplanctonica sono probabilmente molteplici (nutrienti,

clima, alterazioni delle catene trofiche) e ancora poco compresi. Inoltre, alla riduzione della qualità del lago e delle acque tributarie si aggiungono i rischi associati alla presenza di geni di resistenza e di batteri antibiotico-resistenti, documentati anche da questo rapporto. Considerati i possibili aspetti applicativi e gestionali, si tratta di aspetti che a nostro avviso meriterebbero attenzione particolare nei prossimi cicli di ricerca CIPAIS.

Bibliografia

Lepori, F., Lucchini, B., Capelli, C., Rotta, F. (2022) Mesotrophy is not enough: Re-assessing phosphorus objectives for the restoration of a deep Alpine lake (Lake Lugano, Switzerland and Italy). *Advances in Oceanography and Limnology*, 13(2). <https://doi.org/10.4081/aiol.2022.11061>

ALLEGATI

Unità di misura

PARAMETRI FISICI	SIMBOLO	UNITÀ DI MISURA
Temperatura atmosferica	T_A	[°C]
Temperatura dell'acqua	T_W	[°C]
Soleggiamento	-	[h]
Precipitazioni	Prec.	[mm]
Portata	Q	[m ³ s ⁻¹]
Trasparenza	Z_{SD}	[m]
Radiazione fotosintetica (400-700 nm)	PAR	[μE m ⁻² s ⁻¹]
Profondità zona eufotica	Z_{EU}	[m]
Stabilità	S	[kg m ⁻¹]

PARAMETRI CHIMICI	SIMBOLO	UNITÀ DI MISURA
Ossigeno disciolto	O_2	[mg O ₂ L ⁻¹]
Fosforo totale	P_{tot}	[μg P L ⁻¹]
Fosforo reattivo	PO_4	[μg P L ⁻¹]
Azoto ammoniacale	$N-NH_4$	[μg N L ⁻¹]
Azoto nitrico	$N-NO_3$	[μg N L ⁻¹]
Azoto totale	N_{tot}	[μg N L ⁻¹]
Consumo biochimico di O ₂	BOD_5	[mg O ₂ L ⁻¹]
Carbonio organico disciolto	DOC	[mg C L ⁻¹]
Carichi	-	[t a ⁻¹]
Conducibilità elettrica specifica	-	[μS cm ⁻¹] (a 20°C)
Concentrazione idrogenionica	pH	[u]
Alcalinità totale	-	[meq L ⁻¹]
Silicati reattivi	SiO_2	[mg Si L ⁻¹]
Ferro disciolto	Fe^{2+}	[μg L ⁻¹]
Manganese disciolto	Mn^{2+}	[mg L ⁻¹]
Solfuro disciolto	S^{2-}	[μg L ⁻¹]
Metano	CH_4 :	[mg L ⁻¹]
Cloruro	Cl^-	[mg L ⁻¹]

PARAMETRI BIOLOGICI	SIMBOLO	UNITÀ DI MISURA
Clorofilla- <i>a</i>	Chl <i>a</i>	[mg m ⁻³]
Biovolume fitoplancton	-	[mm ³ m ⁻³]
Densità fitoplancton	-	[cellule L ⁻¹]
Biomassa fitoplancton (peso fresco)	-	[g PF m ⁻³]
Produzione primaria annua	-	[g C m ⁻² a ⁻¹]
Produzione giornaliera	-	[mg C m ⁻² d ⁻¹]
Microcistine	-	[μg L ⁻¹]
Biomassa zooplancton (peso secco)	-	[g PS m ⁻²]
Densità zooplankton	-	[ind m ⁻²]
Carbonio organico totale	TOC	[mg C L ⁻¹]

Metodi di campionamento e di analisi

Inquadramento geografico e stazioni di campionamento. Per calcolare la complessità della forma del lago è stato utilizzato il quoziente isoperimetrico (Osseman 1978) come indice di compattezza:

$$Q = \frac{4\pi A}{L^2}$$

dove:

Q = quoziente isoperimetrico

A = area del lago

L = perimetro del lago

I valori di compattezza sono compresi in un intervallo da 0 a 1, dove 0 indica una complessità massima della forma e 1 indica una forma simile ad un cerchio perfetto.

Capitolo 2. I carichi esterni di fosforo totale sono stati stimati usando il modello di bilancio di massa proposto da Vollenweider (1969):

$$V \times \frac{dp}{dt} = L_{ext} - Qp - v_n A p$$

dove:

V = volume del lago (m^3)

p = concentrazione di fosforo totale ($mg P_{tot} m^{-3}$)

t = tempo (anni)

L_{ext} = carico esterno ($mg P_{tot} anno^{-1}$)

Q = deflusso in uscita ($m^3 anno^{-1}$)

v_n = velocità di sedimentazione netta ($m anno^{-1}$)

A = superficie del lago (m^2)

L'equazione è stata riarrangiata per calcolare L_{ext} . Il modello è stato applicato separatamente ai bacini nord e sud. La velocità netta di sedimentazione del fosforo stata stimata pari a $11 m anno^{-1}$ per il bacino nord e $15 m anno^{-1}$ per il bacino sud (Lepori 2019).

Capitolo 3. 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 mescolato Z_{mix} delle acque del lago [m] è stata calcolata come la profondità alla quale la conducibilità dell'acqua differisce di almeno $3 \mu S cm^{-2}$ dal valore di superficie. 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:

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

dove:

A_0 = superficie del lago

z = profondità (misurata dal fondo)

z_g = profondità del centro di volume (misurata dal fondo)

A_z = area alla profondità z

ρ_z = densità dell'acqua alla profondità z

ρ_m = densità della colonna interamente mescolata

Capitolo 4. 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 A.1.

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

	Parametro	L.Q.	Unità	Metodo
Cationi	Ammonio, NH_4^+ (come N)	12	$\mu\text{g/L}$	Spettrometria UV-Vis
	Ferro disciolto	1	$\mu\text{g/L}$	ICP-MS
	Manganese disciolto	0.1	$\mu\text{g/L}$	ICP-MS
Anioni	Nitrato (come N)	0.02	mg/L	Cromatografia ionica
	Nitrito (come N)	0.2	$\mu\text{g/L}$	Cromatografia ionica
	Ortofosfato (come P)	2	$\mu\text{g/L}$	Cromatografia ionica
	Solfato	0.08	mg/L	Cromatografia ionica
Altro	Alcalinità totale	0.001	meq/L	Potenziometria
	Alcalinità da carbonate	0.001	meq/L	Potenziometria
	Carbonio organico disciolto (DOC)	0.05	mg/L	Ossidazione a combustione catalitica
	Conducibilità (25°C)	1	$\mu\text{S/cm}$	Potenziometria
	Azoto totale (come N)	0.15	mg/L	Spettrometria UV/Vis
	Fosforo totale (come P)	6	$\mu\text{g/L}$	Spettrometria UV/VisS
	Silice (come Si)	0.06	mg/L	ICP-MS
	Ossigeno disciolto	0.5	mg/L	Potenziometria
	BOD ₅	1.0	mg/L	Potenziometria
	Metano	0.2*	$\mu\text{g/L}$	Gas cromatografia
	Idrogeno solforato	6	$\mu\text{g/L}$	Spettrometria UV/VIS

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

Capitolo 5. 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). 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 *a* viene misurata sia su campione integrato nello strato 0-20 m raccolto con frequenza quindicinale, 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 *a* viene determinata in laboratorio mediante analisi spettrofotometrica (estrazione in etanolo). Inoltre, la clorofilla *a* viene misurata 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 delle bottiglia chiare-bottiglie scure, attraverso la determinazione del tasso di assimilazione di carbonio radioattivo (^{14}C) con scintillazione liquida. Un riassunto dei metodi utilizzati per lo studio del fitoplancton è presentato di seguito in Tabella A.2.

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

	Biomassa	Clorofilla <i>a</i>		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 (1 campionamento al mese da luglio a febbraio; 2 campionamenti al mese da marzo a giugno)	20 (1 campionamento al mese da novembre a febbraio; 2 campionamenti al mese da marzo ad ottobre)	24 (2 campionamenti al mese)	12 (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

Il campionamento delle microcistine è stato eseguito con frequenza mensile, raccogliendo campioni d'acqua a profondità discrete (0, 10 e 20 m) con bottiglia Niskin. Durante la circolazione (febbraio-marzo) è stato introdotto un campionamento aggiuntivo alla profondità di 40 m. I campioni sono stati sottoposti a tre cicli di congelamento-scongelo, filtrati su filtri GF/C Minisart (0.7 µm), e il contenuto totale di microcistine (quota intracellulare e libera) è stato analizzato tramite test immunoenzimatico ELISA (MICROCYSTIN-ADDA ES ELISA, Abraxis, LOQ 0.05 µg/L).

Capitolo 6. 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 A.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 A.4).

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

Abbondanza e biomassa	
Profondità di campionamento	Campione integrato (0-50 m)
Frequenza di campionamento	16 volte all'anno (1 campionamento al mese da luglio a febbraio; 2 campionamenti al mese da marzo a giugno)
Metodo di campionamento	Pescata verticale con retino da plancton (maglia 100 µm)
Metodo di analisi	Conteggio e misura allo stereoscopio su campioni fissati in etanolo

Tabella A.4. Categorie trofiche dei maggiori gruppi (o specie) di zooplankton da crostacei.

Taxon	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	
<i>Bosmina longicornis</i>	erbivori†
<i>Daphnia longispina s. l.</i>	erbivori†
<i>Diaphanosoma brachyurum</i>	erbivori†
<i>Leptodora kindtii</i>	Carnivori
<i>Bythotrephes longimanus</i>	Carnivori

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

Capitolo 7. Le concentrazioni mensili di clorofilla *a* sono state stimate a partire da immagini satellitari Sentinel-3 OLCI (livello 1) ad alta frequenza temporale (giornaliera) e con una risoluzione spaziale di 300 m. Le immagini sono state trattate con il freeware SNAP (v. 9.0.0, ESA) utilizzando il modello bio-ottico C2RCC (Brockmann et al., 2016). Il modello è stato ri-calibrato per il lago di Lugano con coefficienti propri ai laghi della regione subalpina (progetto INTERREG SIMILE). La stima delle concentrazioni è stata validata con dati raccolti in situ nelle stazioni di Gandria e Figino.

Le temperature superficiali sono state stimate con le immagini satellitari prodotte dal sensore TIRS di Landsat-8 a media frequenza temporale e risoluzione spaziale di 100 m (ricampionata a 30 m). Le immagini termiche di Landsat-8 sono state trattate con il freeware SNAP e corrette applicando il metodo proposto da Barsi et al. (2005). La stima delle temperature superficiali è stata validata con dati raccolti in situ nelle stazioni di Gandria e Figino.

Capitolo 8. La Tabella A.5 riassume i geni indagati durante il 2022 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 *intI* 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 A.5. 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.

<i>Classe antibiotico</i>	<i>Gene indagato</i>	<i>Meccanismo di resistenza e localizzazione</i>	<i>Localizzazione</i>
<i>Fluorochinoloni</i>	<i>qnrS</i>	Codifica per una forma mutata della proteina bersaglio che non viene riconosciuta dall'antibiotico.	Plasmidio
<i>Sulfamidici</i>	<i>sulII</i>	Codifica per una forma alternativa della proteina bersaglio che non viene riconosciuta dall'antibiotico.	Plasmidio
<i>Tetracicline</i>	<i>tetM</i>	Codifica per una pompa a efflusso che elimina l'antibiotico dalla cellula.	Plasmidio
<i>Betalattamici</i>	<i>bla_{Ctx-M}</i>	Codifica per un enzima che idrolizza l'anello beta-lattamico dell'antibiotico impedendogli di svolgere la sua funzione	Cromosoma o plasmidio

I metodi utilizzati per le analisi molecolari sono sostanzialmente gli stessi impiegati nel 2021 (rapporto CIP AIS 2021). 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). I limiti di quantificazione (LOQ: limit of quantification) e detezione (LOD limit of detection), che corrispondono alla concentrazione minima degli standard che lo strumento è in grado, rispettivamente di quantificare e determinare al 95%, sono stati calcolati come descritto da Czekalski et al. (Czekalski et al., 2014). Per tutti i geni l' R^2 era pari a 1 e l'efficienza al 93%. Nella Tabella A.6 sono riportati i valori di LOQ e LOD 95% (copie/reazione) e Ct (Threshold Cycle) limite 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 tecnologia TaqMan per mezzo di primers specifici e sonde marcate con fluorocromi. 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). Per le analisi di tendenza, al fine di non introdurre tendenze fittizie, se vi erano osservazioni inferiori al LOQ, è stato assegnato il valore di $\frac{1}{2}$ LOQ (Hornung & Reed 1990).

Tabella A.6. LOD e LOQ (95%) dei geni presi in considerazione in questo studio; i valori sono espressi in copie/reazione. È indicato anche Ct limite.

<i>Standard</i>	LOQ	LOD	Ct limite
<i>16SrRNA</i>	10	1	35.2
<i>sullI</i>	10	1	35.2
<i>qnrS</i>	10	1	35.2
<i>bla_{ctx-m}</i>	10	1	35.2
<i>tetM</i>	10	1	35.2
<i>intl</i>	10	1	35.2

Per la carica batterica totale (Total Viable Count), 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 contenente il terreno agar. Dopo incubazione in termostato a 37°C per 24 - 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 µg/ml; NOR:CPD:Te (norfloxacina:cefopodoxime:tetraciclina) 4 : 8 : 8 µg/ml.

Per la conta batterica e la selezione dei multi-resistenti è stato utilizzato un terreno cromogeno (<https://www.chromagar.com/en/product/chromagar-orientation/>) invece del classico agar R2A. Il CHROMagar™ Orientation varia il colore delle colonie in base alla tipologia di batterio e solitamente è utilizzato per facilitare il rilevamento di patogeni come *E.coli*, *Enterococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Pseudomonas* e *Stafilococco* in campioni clinici. Test preliminari hanno mostrato che funziona anche per campioni ambientali e permette la crescita di batteri prettamente ambientali particolarmente rilevanti come *Aeromonas*, *Acinetobacter* e *Stenotrophomonas*.

Dai batteri multi-resistenti è stato estratto il DNA (metodo rapido con un buffer di lisi e bollitura) per determinare la presenza di geni di resistenza mediante PCR classica. I geni ricercati sono stati gli stessi quantificati nei campioni d'acqua (Tabella 1).

Per tutte le analisi statistiche è stato utilizzato il programma GraphPad Prism 9.5.1. Per mettere in evidenza le differenze, in termini di presenza di determinanti genici di resistenza, tra i campioni raccolti a Valle e a Monte dell'impianto di depurazione, è stato utilizzato il test di Wilcoxon per dati appaiati.

Bibliografia

- Barsi, J. A., Schott, J. R., Palluconi, F. D., & Hook, S. J. (2005) Validation of a web-based atmospheric correction tool for single thermal band instruments. *Earth Observing Systems X*, 5882, 136-142. <https://doi.org/10.1117/12.619990>
- 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.
- Brockmann, C., Doerffer, R., Peters, M., Kerstin, S., Embacher, S., & Ruescas, A. (2016, August). Evolution of the C2RCC neural network for Sentinel 2 and 3 for the retrieval of ocean colour products in normal and extreme optically complex waters. In *Living Planet Symposium*, 740, 54.
- Czekalski, N., Gascón Díez, E., & Bürgmann, H. (2014). Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake. *The 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. *The ISME journal*, 9(6), 1269-1279. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.226>
- ISO 10260:1992. Measurement of biochemical parameters – Spectrometric determination of the chlorophyll-*a* concentration.
- 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.
- Nardelli, 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>
- Nielsen, E. S. (1952). The use of radio-active carbon (C14) for measuring organic production in the sea. *ICES Journal of Marine Science*, 18(2), 117-140. <https://doi.org/10.1093/icesjms/18.2.117>
- Osserman, R. (1978). The isoperimetric inequality. *Bulletin of the American Mathematical Society*, 84(6), 1182-1238. <https://doi.org/10.1090/S0002-9904-1978-14553-4>
- Schindler, D. W., Schmidt, R. V., & 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(11), 1627-1631. <https://doi.org/10.1139/f72-250>
- Stalder, T., Barraud, O., Casellas, M., Dagot, C., & Ploy, M. C. (2012). Integron involvement in environmental spread of antibiotic resistance. *Frontiers in microbiology*, 3, 119. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00119>
- Hornung, R. W., & Reed, L. D. (1990). Estimation of average concentration in the presence of nondetectable values. *Applied occupational and environmental hygiene*, 5(1), 46-51. <https://doi.org/10.1080/1047322X.1990.10389587>
- UNI EN 15204 (2006). *Water quality- Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy* (Utermöhl technique).
- 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, 105372. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105372>

ELENCO DEGLI AUTORI E COLLABORATORI

RESPONSABILE SCIENTIFICO DELLA RICERCA

Fabio Lepori
Istituto scienze della Terra
Dipartimento ambiente, costruzioni e design
Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana
Campus Mendrisio - Via Flora Ruchat-Roncati 15, CH-6850 Mendrisio
fabio.lepori@supsi.ch

ELENCO DEGLI AUTORI IN ORDINE ALFABETICO

Camilla Capelli, Aron Castelli, Fabio Lepori, Federica Mauri, Matteo Roncoroni

ELENCO DEI COLLABORATORI IN ORDINE ALFABETICO

Stefano Beatrizotti, Arturo Di Giacinto, David Fontana, Caterino Pasquale, Maurizio Pozzoni, Giuseppe Ranieri, Mirko Sargenti, Claudia Sartori, Marco Simona, Manuela Simoni-Vassalli

INDIRIZZO DI RIFERIMENTO DEGLI AUTORI

Camilla Capelli
Istituto scienze della Terra
Dipartimento ambiente, costruzioni e design
Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana
Campus Mendrisio - Via Flora Ruchat-Roncati 15, CH-6850 Mendrisio
camilla.capelli@supsi.ch

Aron Castelli
Istituto scienze della Terra
Dipartimento ambiente, costruzioni e design
Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana
Campus Mendrisio - Via Flora Ruchat-Roncati 15, CH-6850 Mendrisio
aron.castelli@supsi.ch

Federica Mauri
Istituto di Microbiologia
Dipartimento ambiente, costruzioni e design
Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana
Campus Mendrisio - Via Flora Ruchat-Roncati 15, CH-6850 Mendrisio
federica.mauri@supsi.ch

Matteo Roncoroni
Via San Gottardo 128, CH-6828 Balerna
matteo.roncoroni@unil.ch / matte._@hotmail.it