

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Diffusione delle fioriture algali tossiche
nelle acque italiane:
gestione del rischio ed evidenze epidemiologiche**

A cura di
Daniela Mattei, Serena Melchiorre, Valentina Messineo e Milena Bruno
Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN
05/29

Istituto Superiore di Sanità

Diffusione delle fioriture algali tossiche nelle acque italiane: gestione del rischio ed evidenze epidemiologiche.

A cura di Daniela Mattei, Serena Melchiorre, Valentina Messineo e Milena Bruno

2005, 127 p. Rapporti ISTISAN 05/29

Negli ultimi anni molti Paesi, tra cui l'Italia, hanno dovuto fronteggiare le conseguenze delle fioriture algali tossiche sia dulciacquicole che marine. Molte fioriture sono state le responsabili di morie di animali selvatici, di allevamento e domestici. Il consumo diretto di molluschi, pesci o acque contaminati da tossine algali è stato associato a casi di avvelenamento anche gravi nell'uomo. In Italia, i recenti episodi estivi di fioriture marine lungo le coste colonizzate da specie tropicali alloctone hanno sottolineato ancora di più la necessità, a livello nazionale, di prendere iniziative in campo scientifico, organizzativo e istituzionale. Questo rapporto rappresenta una visione dello stato dell'arte delle fioriture tossiche in Italia. Su questa base il passo successivo sarà quello di definire orientamenti, approcci, linee guida per fronteggiare con una base comune la problematica delle alghe tossiche.

Parole chiave: Cianobatteri, *Ostreopsis*, Tossine algali

Istituto Superiore di Sanità

Toxic algal blooms in Italy: risk assessment and epidemiology.

Edited by Daniela Mattei, Serena Melchiorre, Valentina Messineo and Milena Bruno

2005, 127 p. Rapporti ISTISAN 05/29 (in Italian)

Lately, many Countries, Italy as well, have faced up to the consequences of toxic algal blooms. A lot of blooms have caused the death of livestock, wild and domestic animals. The ingestion of contaminated shellfish, fish and water was related to the human poisonings. In Italy, during last summers, marine bloom of "alloctone" species were detected along the coast. Now the scientific community has to take initiatives to cope with this emergent problem. This report shows the state of the art of toxic algal blooms in Italy. The aim is the definition of new goals, approaches, guidelines to face, with a common basis, the algal toxin situation.

Key words: *Cyanobacteria*, *Ostreopsis*, Algal toxins

Per informazioni su questo documento rivolgersi a: daniela.mattei@iss.it, milena.bruno@iss.it.

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro*, *Sara Modigliani* e *Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2005

INDICE

Caratteristiche e diffusione delle fioriture tossiche nelle acque dolci italiane	1
Bibliografia di riferimento	5
Fioriture tossiche negli invasi della Sardegna	11
Conclusioni	14
Bibliografia di riferimento	15
Fioriture tossiche di <i>planktothrix rubescens agardhii</i> nei laghi della provincia di Macerata	17
Metodologia dell'indagine	18
Prelevamento dei campioni	18
Lago Fiastrone	19
Lago di Borgiano	22
Lago le Grazie	24
Lago di Gerosa	28
Normativa	28
Fioriture di cianobatteri nei laghi profondi dell'Italia settentrionale	30
Introduzione	30
Condizioni trofiche recenti dei laghi profondi sudalpini	31
Fioriture di cianobatteri nei corpi d'acqua dolce: inquadramento generale	32
Fioriture di cianobatteri nei laghi profondi sudalpini	33
Lago di Garda	33
Lago d'Iseo	35
Lago di Como	36
Lago di Lugano	36
Lago Maggiore	37
Fattori regolanti lo sviluppo dei cianobatteri nei laghi profondi subalpini	37
Distribuzione dei cianobatteri in relazione al gradiente trofico	37
Condizioni ambientali che controllano lo sviluppo stagionale dei cianobatteri nei laghi profondi sudalpini	39
Condizioni che favoriscono l'innescio delle fioriture	43
Osservazioni conclusive	45
Ringraziamenti	46
Bibliografia	46
Fioriture algali in Emilia Romagna: le Valli di Comacchio e l'Oasi naturalistica di Valle Santa	49
Bibliografia	53
Valutazioni statistiche di uso comune in campo ambientale	54
Distribuzioni dei dati	54
Analisi della varianza	57
Analisi di regressione	59
Principi e definizioni nell'analisi di regressione	59
Analisi delle serie temporali	63
Principi e definizioni nell'analisi delle serie temporali	63
Analisi multivariata	67
Cluster Analysis	67
Analisi delle componenti principali	69
Bibliografia di riferimento	72

Fioriture tossiche marine: nuovi sistemi di controllo e ipotesi di gestione	74
Bibliografia di riferimento	81
<i>Ostreopsis</i> spp., <i>Coolia monotis</i> e <i>Prorocentrum mexicanum</i> in Adriatico: quali nuovi rischi?	86
La problematica	86
Area di studio e metodi	87
Risultati e conclusioni	88
Bibliografia	91
Microalghe marine tossiche nella provincia di Bari: danni ambientali, ittiofaunistici, evidenze epidemiologiche	92
Fitoplancton	92
Morte di ittiofauna	93
Epidemiologia	94
Conclusioni	95
Bibliografia	97
Microalghe potenzialmente tossiche nelle acque costiere della Campania	98
Specie tossiche e dannose	99
Specie potenzialmente tossiche	101
Diatomee	101
Dinoflagellati	102
Altri flagellati	105
Colorazioni anomale	105
Conclusioni	106
Bibliografia	108
Presenza di ostreopsidiaceae nel basso Adriatico	112
Introduzione	112
Dinamiche temporali e modalità di fioritura in Adriatico meridionale	112
Bibliografia	115
Fioriture algali della costa marchigiana	116
La situazione nelle Marche	116
Fioriture tossiche di <i>ostreopsis ovata</i> sul litorale apuano	118
Fioriture tossiche in Emilia Romagna e attività del Centro Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine	123
Bibliografia	126

CARATTERISTICHE E DIFFUSIONE DELLE FIORITURE TOSSICHE NELLE ACQUE DOLCI ITALIANE

Milena Bruno, Serena Melchiorre, Valentina Messineo

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le acque interne interessate da aumenti di fosforo e azoto a causa dello sfruttamento umano sviluppano più o meno velocemente uno stato di eutrofizzazione, ossia di “abbondante crescita” che si riflette immediatamente sulla produttività primaria del corpo idrico. Tale aumento può essere riscontrato attraverso la misura della biomassa algale e indirettamente, anche se con buona approssimazione, attraverso la quantità di clorofilla *a* presente in un litro d’acqua. L’aumento di biomassa algale può evidenziarsi in tappeti di alghe fluttuanti sulla superficie dell’acqua, detti “schiume” algali.

Gli effetti dell’eutrofizzazione interessano anche le piante acquatiche superiori presenti sui fondali rivieraschi, fertilizzate dai sali nutrienti e indotte spesso ad una crescita smodata che contribuisce e si somma ai cattivi odori di decomposizione, alla diminuita trasparenza delle acque e all’aumento di materia organica in decomposizione sui fondali. La conseguente deossigenazione degli strati acquatici profondi porta alla prevalenza di fenomeni batterici riduttivi, con produzione di acido solfidrico, ammoniacale, rilascio di ferro e manganese e a morie di pesci per anossia.

Anche se non sempre un corpo d’acqua eutrofizzato può dare come risposta una forte crescita algale, per la presenza di altri fattori interferenti, essa tuttavia è la conseguenza più comune, generalmente osservabile sia per grandi laghi che per piccoli stagni. Ma qualsiasi sia la reazione del corpo d’acqua allo stato eutrofico, essa comporta sempre e in vario grado delle ripercussioni negative sulla salute umana e sugli organismi presenti nel sistema.

Il livello di nutrienti e clorofilla *a* da cui è stabilita l’eutrofia di un corpo d’acqua è tradizionalmente fissato dalla tabella dell’OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) (1985), in cui i valori medi di fosforo totale sono di 84,4 µg/L; quelli di azoto totale sono di 1875 µg/L e quelli di clorofilla *a* sono di 14,3 µg/L.

L’utilizzo dell’eutrofizzazione indotta è stato tentato nell’allevamento dei pesci gatto in USA, dove in piccoli laghi la produttività algale è stata aumentata fino a 12 g di carbonio per metro cubo per giorno, con rimozione dell’azoto ammoniacale, aerazione supplementare per evitare anossie e controllo delle alghe mediante filtratori (zooplancton o pesci fitoplanctofagi) per prevenire l’insorgenza di specie tossiche. Con questi sistemi è stato raggiunto un incremento della produzione di 15 tonnellate per acro di superficie, ma non sono state evitate le fioriture di microalghe tossiche produttrici di microcistine, che hanno causato avvelenamenti e morte dei pesci allevati, oltre a contaminazione delle carni dei sopravvissuti.

La classe di alghe maggiormente responsabile delle fioriture tossiche d’acqua dolce è quella delle Cianofite. In esse più del 60% delle specie produce tossine. Le Cianofite fanno parte dei Procarioti, non hanno cioè un nucleo separato dal resto del citoplasma e contengono solo clorofilla *a*. Le loro lamelle fotosintetiche o tilacoidi non sono incluse nei cloroplasti (come nelle altre alghe eucariotiche) ma sono libere nel citoplasma (*Gloeobacter violaceus* non ha nemmeno le strutture dei tilacoidi). L’intensità luminosa e l’età della cellula ne rendono inoltre variabilissima la distribuzione intracellulare. Le Cianofite sono ubiquitarie: sono state ritrovate nell’atmosfera, nell’acqua (con temperatura fino a 73°C e salinità variabile), nel suolo, nelle rocce; sono spesso simbiotici N₂-fissatori, come i generi *Gleocapsa*, *Nostoc* (nei licheni);

Nostoc, *Anabaena* (negli sfagni); sono state ritrovate insieme a muschi e angiosperme; sono simbionti di varie specie di protozoi (cianelle).

Le Cianofitee sono colonizzatori primari del suolo a cui aggiungono materia organica e di cui prevengono l'erosione incipiente (alcune specie sono capaci di sopravvivervi da 18 a 107 anni). Sono state ritrovate anche in polveri domestiche. Le fioriture di cianofitee assumono solitamente aspetti di dominanza nella composizione delle specie fitoplanctoniche, arrivando spesso con una singola specie a costituire l'80%-90% della biomassa totale. Le fioriture di Cianofitee vengono definite tali a partire da un milione di cellule, ma quali condizioni facilitano l'instaurazione dei popolamenti?

L'aumento della produttività causa la progressiva scomparsa dei nitrati e della CO₂ disciolta nell'acqua, con contemporaneo innalzamento del pH e utilizzo della CO₂ del bicarbonato; queste nuove condizioni ambientali non sono consone alle microalghe verdi ma sono ideali per specie di frontiera, come la maggioranza delle appartenenti alle Cianofitee. Queste specie sono molto ben adattate ai pH alcalini, al punto da avere difficoltà di assimilazione del molibdeno necessario per gli enzimi nitrogenasi e nitrato reductasi, indispensabili per la fissazione dell'azoto atmosferico, ai pH bassi, ai quali anche la loro clorofilla è sensibile. La tolleranza all'alcalinità si spinge fino al pH 11, oltre il quale la precipitazione del ferro lo rende indisponibile per le cellule algali.

Un fitoplancton con maggioranza di Cianofitee non è desiderabile, data la base alimentare di bassa qualità costituita da queste alghe per le catene trofiche acquatiche, e la scarsa capacità ossigenatrice, con caratteristiche di crescita indesiderabili come la possibilità di schermo della luce costituita dalla compattazione delle loro fioriture. Oltre a ciò diverse specie producono metaboliti odorosi, che imprimono sapori sgradevoli alle carni dei pesci che se ne nutrono, e numerose specie producono tossine, con valenza protettiva e competitiva. Queste ultime, a tutt'oggi circa il 60% della Divisione, hanno caratteristiche sia bentoniche che planctoniche.

Le più diffuse in Italia sono fondamentalmente *Planktothrix rubescens*, *Anabaena flos-aquae* e *Microcystis aeruginosa*, in ordine di frequenza. La specie *Aphanizomenon flos-aquae*, ugualmente molto diffusa, finora è risultata presente nel nostro paese con ceppi non tossici.

Le richieste ecologiche delle specie variano anche notevolmente, e determinano la dominanza negli ambienti eutrofizzati. La specie *Microcystis aeruginosa* si moltiplica agevolmente in ambienti caratterizzati da medi o elevati livelli di fosforo, ma soprattutto in condizioni di assenza di disturbo fisico da mescolamento delle acque. In mancanza di quest'ultimo requisito sarà la specie *P. rubescens*, esigente per l'azoto ma tollerante bassi livelli di fosforo, se presente nel fitoplancton, a prendere il sopravvento. Diversa è anche la tolleranza termica di queste due specie: a parità di soleggiamento, *P. rubescens* è stenoterma verso il freddo, e domina perciò durante la stagione invernale-primaverile passando l'estate negli ipolimni. *M. aeruginosa* è stenoterma verso il caldo e forma forti fioriture in estate, passando le stagioni fredde sul fondo in forma di cisti di resistenza. Anche se capace di generare fioriture nell'arco di una settimana, *M. aeruginosa* non ha un tasso di crescita velocissimo: le Volvocali, alghe verdi coloniali, la superano agevolmente, in condizioni ambientali meno selettive. Queste cognizioni, di recente acquisizione, possono essere utili nella gestione degli eventi di fioriture tossiche per tentare di favorire l'instaurazione di un popolamento algale più favorevole.

Le tossine finora più frequentemente riscontrate in Italia ad opera di queste specie sono le microcistine, eptapeptidi ciclici inibenti le protein fosfatasi 2A, 2B e C, la cilindrospermopsina, alcaloide guanidinico ciclico e l'anatossina-a, ammina secondaria, potente agonista nicotinico colinergico postsinaptico.

Tutte prevedono in caso di intossicazione acuta sintomi gastroenterici di gravità proporzionale alla quantità ingerita, e nel caso dell'anatossina-a sintomi che vanno da paralisi flaccida fino a morte. Nel caso delle microcistine si accoppia a questi effetti l'azione cronica

tumorale, con bersaglio epatico, epiteliale e gastroenterico. Recenti acquisizioni propongono un ruolo analogo anche per la cilindrospermopsina, che ha effetto tossico sui reni e sul timo, oltre che sul fegato.

Le microcistine sono una famiglia di composti di cui finora si conoscono più di sessanta isomeri, in maggioranza idrofili, anche se i più diffusi sono cinque o sei: la microcistina-LR, la microcistina-RR.e i suoi due/tre epimeri più frequenti, la microcistina-YR e la microcistina-LA. Le microcistine sono molecole estremamente resistenti, a causa della loro struttura ciclica: sono resistenti all'autoclave se l'ambiente è neutro; resistono alla bollitura, al forno a microonde e alla maggioranza degli enzimi digestivi. Solo l'idrolisi acida (per 24 ore) riesce a ridurne la tossicità del 50%. I potabilizzatori riescono a bloccarle solo se dotati di filtri a carbone attivo.

Il sito di attacco delle molecole è costituito dall'aminoacido ADDA, peculiare delle Cianofitee, e la possibilità di attacco dalla circolarità dell'anello di sette aminoacidi.

Nello scorso decennio sono stati scoperti epimeri e isomeri delle microcistine a carattere idrofobo, presentanti l'anello conformazionale aperto o variazioni nel legame degli aminoacidi acidi: la tossicità di questi composti era debolissima o nulla, confermando l'importanza della configurazione tradizionale nel ruolo tossico di queste sostanze.

Le microcistine, assorbite dall'intestino, si legano agli acidi biliari, e raggiungono il fegato venendo escrete nella bile.

Numerosi casi di intossicazione umana sono stati registrati in tutto il mondo a carico delle microcistine: i più notevoli sono quello derivato dall'uso delle acque eutrofizzate del lago di Itaparica, in Brasile, con 2.000 casi di gastroenterite di cui 88 mortali (vecchi, bambini e adulti defedati); e quello seguito all'uso di acqua contaminata nel liquido di dialisi dell'ospedale di Caruaru, nel Pernambuco, con 117 casi di gastroenterite, di cui 50 mortali.

L'azione tumorale cronica promossa dalle microcistine si esplica attraverso l'attività inibente delle proteinfosfatasi per mezzo di dosi subacute, che causa l'iperattività chinasi inducente la proliferazione cellulare, senza regolazione.

Combinata all'azione di un mutageno, o da sola, questa attività può promuovere lo sviluppo di ulteriori alterazioni neoplastiche, accelerando la crescita tumorale. Le indagini epidemiologiche umane a questo riguardo sono relative al distretto di Qi-Dong in Cina, dove l'incidenza di carcinoma epatico è di 8 volte superiore a quella di zone dove viene consumata acqua di pozzo, e non di stagni o laghetti; ulteriori indagini sono state compiute in Florida, dove è stato evidenziato un aumentato rischio di carcinoma epatico primario per acqua da acquedotti non trattati; infine nella città di Haining in Cina, dove è stato dimostrato che l'incidenza di cancro colonrettale per consumo di acqua da fiume o lago è 7 volte superiore rispetto a quella per consumo di acqua da rubinetto o da pozzo. Questa ultima attività promotrice è stata confermata nel topo inizializzato.

A seguito di alcuni di questi studi è stata formulata una soglia di sicurezza per l'intossicazione acuta, fissata a 0,84 µg/L per 2 litri di acqua ingerita al giorno, e per l'intossicazione cronica, fissata a 0,01 µg/L per 2 litri di acqua ingerita al giorno.

Nella valutazione della quantità di microcistine ingeribili con gli alimenti, è importante considerare che mentre le tossine sono resistenti alla temperatura, la perdita di peso dei cibi durante l'arrosto va in media dal 25-30 % a 180°C, al 10% a 121°C , e nella cottura in padella del 40-45%.

Acquisizioni degli ultimi anni hanno rilevato a carico delle microcistine un'attività alterante il normale funzionamento di vari organi endocrini negli animali di laboratorio.

Si è visto che nel ratto esse raddoppiano il rilascio di insulina nelle cellule RINm5F, dereprimono la sintesi di progesterone nelle cellule del corpo luteo e diminuiscono la produzione di aldosterone nelle cellule ZG della cortex; nel coniglio diminuiscono l'assorbimento di ferro nei reticolociti.

Nell'uomo esse causano apoptosi nei linfociti umani, e aumento fino al 28% della aderenza primaria nei leucociti polimorfonucleati, deprimendo l'attività immunitaria.

Nell'ambiente acquatico le microcistine subiscono una magnificazione biologica attraverso tutta la catena alimentare, concentrandosi nello zooplancton vegetariano, nei molluschi, nei pesci planctofagi e nei carnivori. L'azione tossica sullo zooplancton porta alla diminuzione della biomassa alimentare disponibile per gli avannotti, e alla selezione di specie resistenti che però avranno comunque una progenie meno numerosa e più debole. Nei pesci le microcistine causano danni alle pompe del sodio/potassio e del cloro/bicarbonato nelle cellule branchiali, con conseguente morte per asfissia; si concentrano inoltre nel fegato, nei reni e nell'intestino, e successivamente anche nei muscoli. Le lesioni cellulari e tissutali sono le stesse riscontrate nei vertebrati terrestri ma la resistenza alla tossicità è maggiore e la disintossicazione, in ambiente privo di tossine, prende più di un mese, mentre le cicatrici delle lesioni epatiche restano evidenti istologicamente anche fino ad un anno dopo.

Ulteriori danni vengono causati agli anatidi consumatori di vegetazione rivierasca, quando questa viene ricoperta dalle schiume delle fioriture di Cianofite tossiche, e al bestiame domestico che si abbevera in acque contaminate.

Le evidenze di monitoraggio nelle acque dolci italiane testimoniano per un progressivo peggioramento generale dello stato trofico, con lodevoli ma rare eccezioni di laghi avviati al risanamento. Nei sei anni dal 1993 al 1999 su nove regioni settentrionali le fioriture algali segnalate erano passate da 12 a 25, nelle cinque regioni centrali da 3 a 29 e nelle sei regioni meridionali da 3 a 10. Ma già dal 2000 al 2003 la situazione nazionale si articolava come segue in Tabella 1.

Tabella 1. Fioriture algali rinvenute in Italia dal 1993 al 1999

Regioni	1993	1997	1999
Settentrionali (9)	26 (12)	46 (24)	46 (25)
Centrali (5)	7 (3)	22 (12)	22 (29)
Meridionali (6)	12 (3)	30 (16)	30 (10)

Dove i presidi che non effettuano controllo delle fioriture comprendono quelli senza corpi d'acqua nel loro territorio e quelli che non hanno ancora sviluppato la competenza tecnica necessaria.

La evidente tendenza all'aumento del fenomeno si conferma come parte di un generale peggioramento della qualità trofica dei corpi d'acqua italiani, già rilevata dal Ministero dell'Ambiente nei suoi Rapporti annuali sulla qualità delle acque.

Le acque interne del nostro paese ospitano fioriture tossiche ascrivibili in maggioranza alla specie *P. rubescens*, produttrice di microcistine-RR.

Questa specie, grazie alla elevata richiesta di azoto che non può fissare dall'atmosfera, e al moderato fabbisogno di fosforo, è un ottimo competitore ecologico nella maggior parte dei nostri laghi, eutrofizzati dagli apporti fognari e dai dilavamenti dei terreni agricoli iperazotati.

Il periodo di fioritura di *P. rubescens* si sviluppa durante l'autunno e l'inverno a causa della stenotermia fredda che la distingue, e che spinge la specie ad approfondarsi nell'ipolimnio durante la primavera e l'estate. Questa caratteristica in genere fa sì che le fioriture non rappresentino tanto un rischio sanitario per la balneazione estiva, quanto per l'acqua potabile prelevata durante l'estate alla profondità delle popolazioni quiescenti, e per il consumo di fauna ittica contaminata dalle tossine concentrate. Il quantitativo più alto di microcistine-RR finora

misurato nelle fioriture italiane di *P. rubescens* è stato rilevato nel lago Albano del Lazio, con 74 µg/g di alghe in peso fresco.

La seconda Cianofitea tossica per diffusione sul territorio nazionale è la *Microcystis aeruginosa*, produttrice di diverse microcistine, con prevalenza della microcistina-LR. Questa specie presenta in genere una stenotermia calda, con forme di resistenza bentoniche in inverno, e predilige acque con alti livelli di fosforo. Le sue fioriture sono spesso imponenti, e veloci nell'instaurazione come nel declino. A causa del suo ciclo annuale e della rapidità di replicazione essa può rappresentare un serio rischio sanitario per la balneazione, oltre che per la potabilità e per la contaminazione della fauna ittica. I più elevati livelli di microcistine prodotti da una fioritura di questa specie in Italia sono stati registrati nel lago di Massaciuccoli, con 170 µg/g di alghe in peso fresco.

Infine la terza specie più diffusa è l'*Anabaena flos-aquae*, con richieste nutrizionali intermedie tra le prime due e caratteristiche di stenotermia calda, con cisti di resistenza invernali bentoniche. Questa specie è in grado di fissare l'azoto atmosferico, perciò dipende in maggior grado dalla disponibilità di fosforo. Le tossine che produce, le anatossine, sono neuropatogene e responsabili degli episodi di morti aviarie a seguito del consumo di vegetazione rivierasca coperta da fioriture.

La più alta quantità di anatossina-a prodotta da una fioritura di questa specie in Italia è stata registrata nel lago Mulargia, con 100 µg/g di alga in peso fresco.

La diversità ecologica delle Cianofitee richiede spesso piani di studio adatti alle caratteristiche delle singole specie.

Sarà opportuno, ad esempio, controllare un corpo d'acqua per un intero anno (meglio, per 13 mesi) con prelievi almeno mensili al fine di definire la dinamica del fitoplancton e di intercettare eventuali fioriture stagionali sia nei mesi estivi che in quelli invernali; sarà importante anche la scelta delle stazioni, che dovranno comprendere eventuali baie soggette agli accumuli delle schiume di fioritura e almeno una stazione di centrolago con relativa colonna particolareggiata (prelievi almeno ogni cinque metri) almeno fino all'inizio dell'ipolimnio.

Questa strategia di campionamento è fondamentale per documentare adeguatamente la discesa e l'attestamento dei popolamenti di resistenza di specie come *P. rubescens*, oppure individuare i massimi picchi delle fioriture di specie come *Cylindrospermopsis raciborskii*, raggiunti di solito qualche metro sotto la superficie, che in questo caso non presenta schiume.

Sarà importante, infine, in caso di ricerca di microcistine, scegliere contenitori dei prelievi esenti da parti in metallo o PET, a causa dell'adesività delle tossine a questi materiali, con conseguente rischio di sottostime nella rilevazione.

Bibliografia di riferimento

Per le microcistine

Abe T, Lawson T, Weyers JDB, Codd G. Microcystin-LR inhibits photosynthesis of *Phaseolus vulgaris* primary leaves: implications on current spray irrigation practice. *New Phytol* 1996;133:651-8.

Babinska A, Ehrlich YH, Kornecki E. Activation of human platelets by protein kinase C antibody: role for surface phosphorylation in homeostasis. *Am J Physiol* 1996;271:H2134-44.

Bischoff K. The toxicology of microcystin-LR: occurrence, toxicokinetics, toxicodynamics, diagnosis and treatment. *Vet Human Toxicol* 2001;43(5):294-7.

Blom JF, Robinson JA, Juttner F. High grazer toxicity of [D-Asp³,(E)-Dbh⁷]microcystin-RR of *P. rubescens* as compared to different microcystins. *Toxicon* 2001;39:1923-32.

- Bury NR, Flik G, Eddy FB, Codd GA. The effects of cyanobacteria and the cyanobacterial toxin microcystin-LR on Ca^{2+} transport and Na^+/K^+ -ATPase in Tilapia gills. *J Exp Biol* 1996;199:1319-26.
- Codd GA, Metcalf JS, Beattie KA. Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. *Toxicon* 1999;37:1181-5.
- Falconer IR, Beresford A, Runnegar MTC. Evidence of liver damage in human populations exposed to toxin from a bloom of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* in a drinking water supply reservoir. *Med J Aust* 1983;1:511-5.
- Falconer IR, Buckley T H. Tumor promotion by *Microcystis* sp., a blue-green alga occurring in water supplies. *Med J Aus* 1989;150:351.
- Fitzgeorge RB, Clark SA, Keevil CW. Routes of intoxication. In: Codd GA, Jefferies TM, Keevil C.W., Rosser E. (Ed.). *Detection methods for Cyanobacterial Toxins*. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry; 1997. p. 69-77.
- Fleming LE, Rivero C, Burns J, Williams C, Bean JA, Shea KA, Stinn J. Blue-green algal (Cyanobacterial) toxins, surface drinking water, and liver cancer in Florida. *Harmful Algae* 2002;1:157-68.
- Ford SL, Abayasekara DRE, Persaud SJ, Jones PM. Role of phosphoprotein phosphatases in the corpus luteum: 1 Identification and characterization of serine/threonine phosphoprotein phosphatases in isolated rat luteal cells. *J Endocrin* 1996;150:205-11.
- Freitas de Magalhaes V, Soares MR, Azevedo SMFO. Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguà Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implications and human health risk. *Toxicon* 2001;39:1077-85.
- Freitas de Magalhaes V, Marinho MM, Domingos P, Oliveira AC, Costa SM, Azevedo LO, Azevedo SMFO. Microcystins (Cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). *Toxicon* 2003;42:289-95.
- Harada KI, Tsuji K. Persistence and decomposition of hepatotoxic Microcystins produced by Cyanobacteria in natural environment. *J Toxicol Toxin reviews* 1998;17(3):385-403.
- Hernandez M, Macia M, Padila C, Del Campo FF. Modulation of human polymorphonuclear leucocyte adherence by cyanopeptide toxins. *Environmental Research* 2000;84 Section A:64-8.
- Humpage A R, Hardy SJ, Moore EJ, Froscio SM, Falconer I R. Microcystins (cyanobacterial toxins) in drinking water enhance the growth of aberrant crypt foci in the mouse colon. *J of Toxicol And Environ Health* 2000;61 Part A:155-65.
- Kurku-Elasmo K, Meriluoto J. Microcystin uptake inhibits growth and protein phosphatase activity in mustard (*Sinapsis alba* L.) seedlings. *Toxicon* 1998;36(12):1921-1926.
- Lakshmana PV, Bhattacharya R, Parida MM, Jana AM, Bhaskar ASB. Freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (UTEX 2385) induced DNA damage in vivo and in vitro. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 1998;5:1-6.
- Leiers T, Bihlmayer A, Ammon HP, Wahl MA. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -and insulin-stimulating effect of the non membranep permeable phosphatase-inhibitor microcystin-LR in intact insulin-secreting cells (RINm5F) *Brit J Pharmacol* 2000;130:1406-10.
- Mankiewicz J, Tarczynska M, Fladmark KE, Doskeland SO, Walter Z, Zalewski M. Apoptotic effect of cyanobacterial extract on rat hepatocytes and human lymphocytes. *Environmental Toxicol* 2001;16(3): 225-33.
- Mc Dermott CM, Nho CW, Howard W, Holton B. The cyanobacterial toxin, microcystin-LR, can induce apoptosis in a variety of cell types. *Toxicon* 1998; 36(12):1981-1996.
- McElhiney J, Lawton LA, Leifert C. Investigations into the inhibitory effects of microcystins on plant growth, and the toxicity of plant tissues following exposure. *Toxicon* 2001;39:1411-20.

- Ming-Yong L, Hung-tu L. Protein phosphatase inhibitors enhance the expression of an α -amylase gene, α Amy3, in cultured rice cells. *Biochem Biophys Res Comm* 1994;205(1):807-16.
- Mohamed ZA. Accumulation of cyanobacterial hepatotoxins by *Daphnia* in some Egyptian irrigation canals. *Ecotox Environ Safety (Environ Res, Section B)* 2001;50:4-8.
- Nishiwaki-Matsushima R, Ohta T, Nishiwaki S, Suganuma M, Kohyama K, Ishikawa T, Carmichael W W, Fujiki H. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *J Cancer Res Clin Oncol* 1992;118:420-4.
- Pflugmaker S, Codd GA, Steinberg CEW. Effects of the cyanobacterial toxin microcystin-LR on detoxication enzymes in aquatic plants. *Environ Toxicol* 1999;14:111-5.
- Pilotto LS, Douglas RM, Burch MD, Cameron S, Beers M, Rouch GJ, Robinson P, Kirk M, Cowie CT, Hardiman S, Moore C, Attewell RG. Health effects of exposure to cyanobacteria (blue-green algae) during recreational water-related activities. *Aust N Z J Public Health* 1997;21:562-6.
- Pouria S, de Andrade A, Barbosa J, Cavalcanti RL, Barreto VTS, Ward CJ, Preiser W, Poon GK. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet* 1998;352:21-6.
- Rojas M, Nunez MT, Zambrano F. Inhibitory effect of a toxic peptide isolated from a waterbloom of *Microcystis* sp. (cyanobacteria) on iron uptake by rabbit reticulocytes. *Toxicon* 1990;28(11):1325-32.
- Romanowska-Duda Z, Tarczyska M. The influence of microcystin-LR and hepatotoxic cyanobacterial extract on the water plant *Spirodela oligorrhiza*. *Environ Toxicol* 2002;17:434-40.
- Romanowska-Duda Z, Mankiewicz J, Tarczyska M, Walter Z, Zalewski M. The effect of toxic cyanobacteria (blue-green algae) on water plants and animal cells. *Pol J Env Studies* 2002;11(5):561-6.
- Sayed SB, Whitehouse BJ, Jones PM. Phosphoserine/threonine phosphatases in the rat adrenal cortex: a role in the control of steroidogenesis? *Jour Endocrinol* 1997;154:449-58.
- Smith R D, Wilson JE, Walker JC, Baskin TI. Protein-phosphatase inhibitors block root hair growth and alter cortical shape of *Arabidopsis* roots. *Planta* 1994;194:516-24.
- Soong FS, Maynard E, Kirke K, Luke C. Illness associated with blue-green algae. *Med J Aust* 1992;156:67.
- Takeda S, Mano S, Ohto M, Nakamura K. Inhibitors of protein phosphatases 1 and 2a block the sugar-inducible gene expression in plants. *Plant Physiol* 1994;106:567-74.
- Teixeira da Gloria Lima Crux M, Da Conceicao Nascimento Costa M, Lucia Pires de Carvalho V, Dos Santos Pereira M, Hage E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica dam-Bahia Brazil. *Bull Pan Am Health Org* 1993;27(3):244-53.
- Turner PC, Gammie AJ, Hollinrake K, Codd GA. Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *Brit Med J* 1990;300:1440-1.
- Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, Hasegawa A, Watanabe MF, Park HD, Chen GC, Chen G, Yu SZ. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis* 1996;17(6):1317-21.
- Vasconcelos VM. Accumulation and depuration of the heptapeptide toxin microcystin-LR in *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology* 1995;32:227-37.
- Watanabe MF, Park H-D, Kondo F, Harada K-I, Hayashi H, Okino T. Identification and estimation of microcystins in freshwater mussels. *Natural Toxins* 1997;5:31-5.
- Weiss J, Liebert H-P, Braune W. Influence of Microcystin-RR on growth and photosynthetic capacity of the duckweed *Lemna minor* L. *J Applied Bot* 2000;74:100-5.
- Williams DE, Craig M, Dawe SC, Kent ML, Andersen RJ, Holmes CFB. 14 C-labeled microcystin-LR administered to Atlantic salmon via intraperitoneal injection provides in vivo evidence for covalent binding of microcystin-LR in salmon livers. *Toxicon* 1997;35(6):985-9.

WHO. *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Chorus I, Bartram (Ed.). London and New York: JE & FN Spon; 1999.

Zambrano F, Canelo E. Effects of microcystin-LR on the partial reactions of the Na⁺-K⁺ pump of the gill of carp (*Cyprinus carpio* Linneo). *Toxicon* 1996;34(4):451-8.

Zhou L, Yu H, Chen K. Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. *Biomed Env Sci* 2002;15:166-71.

Zimba PV, Khoo L, Gaunt PS, Brittain S, Carmichael WW. Confirmation of catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), mortality from *Microcystis* toxins. *J Fish Dis* 2001;24:41-7.

Per la Cilindrospermopsina

Briand JF, Robillot C, Quiblier-Lloberas C, Humbert JF, Coute A, Bernard C. Environmental context of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) bloom in a shallow pond in France. *Water Research* 2002;36(13):3183-92.

Dilwyn JG, Saker ML. The Palm Island mystery disease 20 years on: a review of research on the cyanotoxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology*. 2003;18(2):78-93.

Falconer IR, Humpage AR. Preliminary evidence for in vivo tumour initiation by oral administration of extracts of the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* containing the toxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology* 2001;16(2):192-5.

Fastner J, Heinze R, Humpage AR, Mischke U, Eaglesham GK, Chorus I. 2003. Cylindrospermopsin occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon* 42(3):313-21.

Neilan BA, Saker ML, Fastner J, Torokne A, Burns BP. Phylogeography of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Molecular Ecology* 2003;12(1):133-40.

Ohtani I, Moore RE, Runnegar MTC. Cylindrospermopsin: A potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *J Am Chem Soc* 1992;114:7941-2.

Pomati F, Rossetti C, Manarolla G, Burns BP, Neilan BA. Interactions between intracellular Na⁺ levels and saxitoxin production in *Cylindrospermopsis raciborskii* T3. *Microbiology* 2004;150(Pt 2):455-61.

Proctor VW, Malone C. Further evidence of the passive dispersal of small aquatic organisms via the intestinal tracts of birds. *Ecology* 1965;46:728-9.

Rao PV, Gupta N, Bhaskar AS, Jayaraj R. Toxins and bioactive compounds from cyanobacteria and their implications on human health. *Journal of Environmental Biology* 2002;23(3):215-24.

Saker ML, Nogueira IC, Vasconcelos VM, Neilan BA, Eaglesham GK, Pereira P. First report and toxicological assessment of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* from Portuguese freshwaters. *Ecotoxicology & Environmental Safety* 2003;55(2):243-50.

Shafik HM. Morphological characteristics of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju in laboratory cultures. *Acta Biologica Hungarica* 2001;54(1):121-36.

Shaw GR, Seawright AA, Moore MR, Lam PK. Cylindrospermopsin, a cyanobacterial alkaloid: evaluation of its toxicologic activity. *Therapeutic Drug Monitoring* 2000;22(1):89-92.

Shen X, Lam PK, Shaw GR, Wickramasinghe W. Genotoxicity investigation of a cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Toxicon* 2002;40(10):1499-501.

Per le anatoxine

Bruno M. *Le alghe tossiche marine e d'acqua dolce: impatto sanitario e strategie di controllo*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2000. (Rapporti ISTISAN 00/31).

- Bruno M, Barbini DA, Pierdominici E, Serse AP, Ioppolo A. Anatoxin-a and a previously unknown toxin in *Anabaena planctonica* from bloom found in Lake Mulargia (Italy). *Toxicon* 1994;32:369-73.
- Bruno M, Gucci, PMB, Pierdominici E, Sestili P, Ioppolo A, Sechi N, Volterra L. Microcystin-like toxins in different freshwater species of *Oscillatoria*. *Toxicon* 1992;30:1307-11.
- Bruno M, Volterra L. Caratteristiche ed attività dell'alga cianoficea *Microcystis aeruginosa*. *Acqua Aria* 1989;8:889-900.
- Bumke-Vogt C, Mallahn W, Chorus I. Anatoxin-a and neurotoxic cyanobacteria in German lakes and reservoirs. *Environ Toxicol* 1999;14:117-25.
- Carmichael WW. The toxins of cyanobacteria. *Scientific American* 1994;64-72.
- Carmichael WW, Schwartz LC. *Preventing livestock deaths from blue-green algae poisoning*. Farmer's Bulletin 2275. Washington, DC. U.S. Department of Agriculture; 1984. 11 p.
- Carmichael WW, Biggs DF, Gorham PR. Toxicology and pharmacological action of *Anabaena flos-aquae* toxin. *Science* 1975;187:542-4.
- Codd GA. The changing face of Europe: disasters, pollution and the environment. In: Keller AZ, Wilson HC (Ed.). *Proceedings of the Fourth Disaster Prevention and Limitation Conference, Volume 4*. Bradford, UK: University of Bradford; 1992. p. 33-60.
- Edwards C, Beattie KA, Scrimgeour CM, Codd GA. Identification of anatoxin-a in benthic cyanobacteria (blue-green algae) and in associated dog poisoning at Loch Insh, Scotland. *Toxicon* 1992;30:1165-75.
- Falconer IR. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia* 1996;35:6-11.
- Falconer IR, Bartram J, Chorus I, Kuiper-Goodman T, Utkilen H, Burch M, Codd GA. Safe levels and safe practices. In: Chorus I, Bartram J. (Ed.). *Toxic cyanobacteria in water*. London: E & FN Spon; 1999. p. 155-178.
- Fawell JK, James HA. *Report FR 0434/DoE3728*. Bucks, UK: Allen House; 1994.
- Fitzgeorge RB, Clark SA, Keevil, CW. Routes of intoxication. In: Codd GA, Jefferies TM, Keevil CW, Potter E (Ed.). *Detection methods for cyanobacterial toxins*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry; 1994. p. 69-74.
- Freitas de Magalhaes V, Moraes Soares R, Azevedo SMFO. Microcystin contamination in .sh from the Jacarepaguà Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological and human health risk. *Toxicon* 2001;39:1077-85.
- Gjolme N, Utkilen H. The extraction and stability of microcystin-RR in different solvents. *Phycologia* 1996;35(Suppl 6):80-2.
- Hernandez M, Macia M, Padilla C, Del Campo F. Modulation of human polymorphonuclear leukocyte adherence by cyanopeptide toxins. *Environ Res* 2000;84:64-8.
- Leiers T, Bihlmayer A, Ammon HPT, Wahl MA. [Ca₂]_i and insulin-stimulating effect of the non-membrane permeable phosphatase-inhibitor microcystin-LR in intact insulin-secreting cells (RINm5F). *Br J Pharmacol* 2000;130:1406-10.
- Lyck S, Gjolme N, Utkilen H. Iron starvation increases toxicity of *Microcystis aeruginosa* CYA 228/1 (Chroococcales, Cyanophyceae). *Phycologia* 1996;35(6):120-4.
- Mohamed ZA. Accumulation of cyanobacterial hepatotoxins by *Daphnia* in some Egyptian irrigation canals. *Ecotoxicol Environ Saf* 2001;50:4-8.
- Oberemm A, Becker J, Codd GA, Steinberg C. Effects of cyanobacterial toxins and aqueous crude extracts of cyanobacteria on the development of .sh and amphibians. *Environ Toxicol* 1999;14:77-88.
- Ohmori M. Nitrite excretion by a blue-green alga, *Oscillatoria rubescens* D.C. *Arch Hydrobiol* 1978;83:485-93.

- Padisak J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch Hydrobiol* 1999;107:563-93.
- Pilotto LS, Douglas RM, Burch MD, Cameron S, Beers M, Rouch GR, Robinson P, Kirk M, Cowie CT, Hardiman S, Moore C, Attewell RG. Health effects of recreational exposure to cyanobacteria (blue-green) during recreational water-related activities. *Aust N Z J Public Health* 1997;21:562-6.
- Pybus MJ, Hobson DP. Mass mortality of bats due to probable blue-green algal toxicity. *J Wildl Dis* 1986;22:449-50.
- Pomati F, Sacchi S, Rossetti C, Giovannardi S. The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *J Phycol* 2000;36:553-62.
- Presing M, Herodek S, Voros L, Kobor I. Nitrogen fixation, ammonium and nitrate uptake during a bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Lake Balaton. *Arch Hydrobiol* 1996;136:553-62.
- Rapala J, Sivonen K, Lukkainen R, Niemelä SI. Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena*-strains-a laboratory study. *J Appl Phycol* 1993;5:581-91.
- Ross MM, Kidwell DA, Callahan JH. Mass spectrometric analysis of anatoxin-a. *J Anal Toxicol* 1989;13:317-21.
- Salmaso N, Cavolo F, Cordella P. Fioriture di *Anabaena* e *Microcystis* nel lago di Garda. Eventi rilevati e caratterizzazione dei periodi di sviluppo. *Acqua Aria* 1994;1:17-28.
- Sayed SB, Whitehouse BJ, Jones PM. Phosphoserine/threonine phosphatases in the rat adrenal cortex: a role in the control of steroidogenesis? *J Endocrinol* 1997;154:449-58.
- Skulberg OM, Carmichael WW, Andersen RA, Matsunaga S, Moore RE, Skulberg R. Investigations of a neurotoxic oscillatorian strain (Cyanophyceae) and its toxin. Isolation and characterization of homoanatoxin-a. *Environ Toxicol Chem* 1992;11:321-9.
- Sivonen K, Jones G. Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartlyram J (Ed). *Toxic cyanobacteria in water*. London: E & FN Spon; 1999. p 41-111.
- Teixeira Mda G, Costa Mda G, de Carvalho VL, Pereira Mdos S, Hage E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia Brazil. *Bull Pan Am Health Organ* 1993;27:244-53.
- Teubner K, Feyerabend R, Henning M, Nicklisch A, Woitke P, Kohl JG. Alternative blooming of *Aphanizomenon flos-aquae* or *Planktothrix agardhii* induced by the timing of the critical nitrogen:phosphorus ratio in hypertrophic riverine lakes. *Arch Hydrobiol Special Issues Adv Limnol* 1999;54:325-44.
- Turner PC, Gammie AJ, Hollinrake K, Codd GA. Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *Br Med J* 1990;300:1440-1.
- Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, Hasegawa A, Watanabe MF, Park HD, Chen GC, Yu SZ. Detection of microcystins, a bluegreen algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis* 1996;17:1317-21.

FIORITURE TOSSICHE NEGLI INVASI DELLA SARDEGNA

Grazia Cattina

SIAN (Servizi Igiene degli Alimenti e della Nutrizione), AUSL n. 4 Lanusei, Nuoro

In Sardegna, numerosi impianti d'acquedotto sono alimentati, anche in via esclusiva, da acque dolci superficiali provenienti dai 36 invasi artificiali presenti; le risorse profonde per quanto numerose, infatti, non sono sufficienti a soddisfare le crescenti richieste d'acqua.

L'invaso artificiale denominato Alto Flumendosa, classificato come meso-eutrofico, alimenta un impianto d'acquedotto, l'Acquedotto Ogliastro, a servizio di nove paesi del nord dell'Ogliastro.

L'Ogliastro, il cui territorio corrisponde a quello dell'Azienda USL n.4 di Lanusei, si trova nella parte centro orientale dell'isola. Una popolazione di circa 60.000 abitanti, distribuiti in 23 paesi, insiste su un territorio di 1.854 Km².

Durante il periodo estivo, si registrano notevoli e repentini aumenti della popolazione legati al flusso turistico che interessa soprattutto i paesi del litorale costiero.

Di seguito si illustrano le caratteristiche dell'Alto Flumendosa e dell'acquedotto Ogliastro:

Alto Flumendosa

- Invaso artificiale di proprietà dell'ENEL
- Volume mc 61,4 milioni
- Area mq 3,2 milioni
- Profondità media m 19,2
- Acque classificate in A3 (DL.vo 152/1999).

Acquedotto Ogliastro

- Trattamento:
 - Preossidazione (biossido di cloro) alcalinizzazione (idrossido di calcio)
 - Coagulazione (policloruro di alluminio)
 - Flocculazione, sedimentazione
 - Filtrazione rapida
 - Disinfezione con biossido di cloro
 - Controllo dell'aggressività
- L'impianto tratta, nell'arco delle 24 ore, in media, 53 l/s
- Paesi serviti in via esclusiva: Baunei, Triei, Ardali, Girasole, Elini
- Paesi serviti anche da altre risorse: Tortoli, Lanusei, Ilbono, Loceri.

I controlli interni al fine di valutare l'efficienza dell'impianto, sono effettuati dall'Ente Sardo Acquedotti e Fognature (ESAF), ente gestore l'Acquedotto Ogliastro. Le analisi microscopiche, eseguite dal Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale dell'Università degli Studi di Sassari, hanno consentito di rilevare, nel corso degli ultimi dieci anni, su acque in arrivo all'impianto di trattamento, valori indicativi di periodiche fioriture di un ceppo d'*Oscillatoria aghardii-rubescens* noto come tossico.

La prima fioritura documentata, iniziata nel mese di ottobre dell'anno 1993, risulta essersi protratta sino al mese d'aprile dell'anno 1994 (Figura 1).

Nell'anno 1996 una fioritura è stata rilevata dal mese di settembre al mese di dicembre (Figura 2), nell'anno 1998 dal mese di aprile al mese d'agosto (Figura 3).

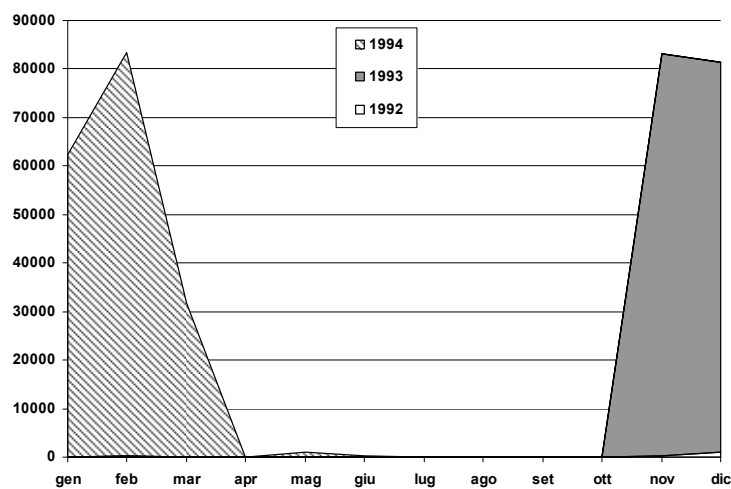


Figura 1. Alto Flumendosa: fioriture di *Oscillatoria ar* dal 1992 al 1994

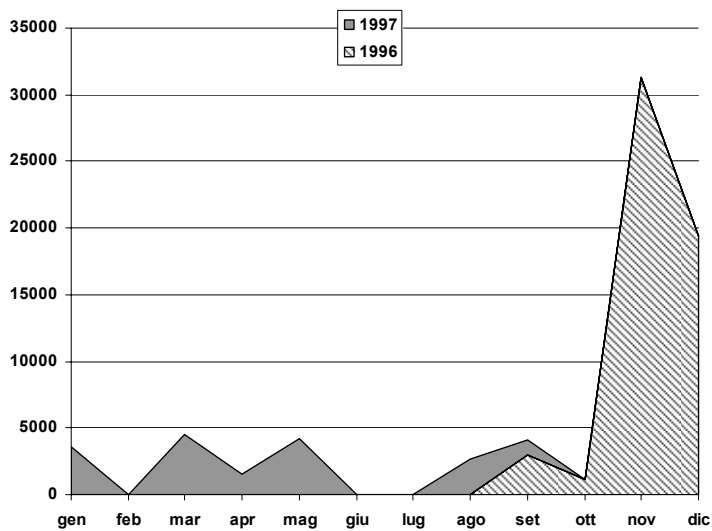


Figura 2. Alto Flumendosa: fioriture di *Oscillatoria ar* nel 1996 e 1997

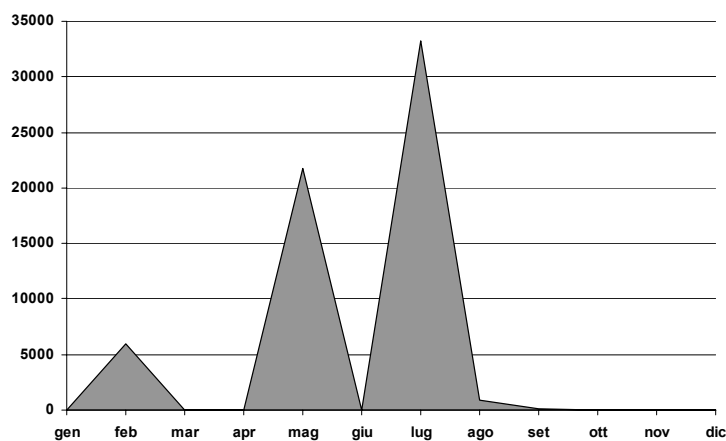


Figura 3. Alto Flumendosa: fioriture di *Oscillatoria ar* nel 1998

Una fioritura, iniziata nel mese d'ottobre dell'anno 2002 risulta, invece, essere proseguita sino al mese di settembre dell'anno 2003 (Figura 4).

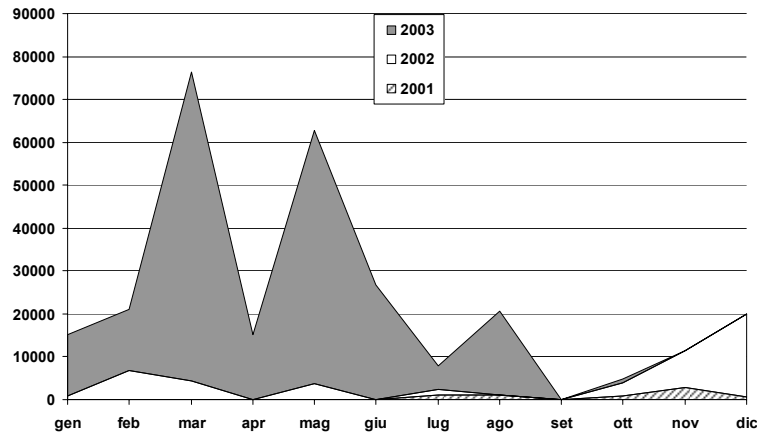


Figura 4. Alto Flumendosa: fioriture di *Oscillatoria ar* dal 2001 al 2003

Le densità maggiori sono state rilevate nel corso degli anni 1993 e 1994 (picchi di oltre 80 milioni di cellule/litro) e nell'anno 2003 (picchi di oltre 70 milioni di cellule/litro). Nel corso delle fioriture rilevate negli altri anni non sono stati superati i valori di 30-35 milioni di cellule/litro. I valori di densità algale raggiunti nel corso delle diverse fioriture, hanno indotto a ritenere possibile la produzione di quantità significative di tossine che, per le caratteristiche dell'impianto di trattamento, era possibile prevedere si ritrovassero nelle acque immesse nelle reti di distribuzione.

Com'è noto l'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) ha definito un valore guida, per l'acqua da bere, di microcistina-LR pari a 1 µg/L per la tossicità acuta e di 0,3 µg/L per l'azione cancerogena. Si assume che tali valori corrispondano ad un quantitativo pari, rispettivamente, a circa 6 e 2 milioni cellule/litro di cianobatteri. Dato che nel nostro caso si configurava una situazione di possibile rischio per la salute umana, si è ritenuto necessario ricercare delle strutture che potessero fornire le informazioni sulle quali fondare un giudizio d'idoneità d'uso delle acque, tenuto conto del fatto che nessuno dei Presidi Multizonali di Prevenzione, in Sardegna, effettua analisi biotossicologiche o chimiche delle tossine cianobatteriche.

Campioni d'acqua in arrivo e/o in uscita dall'impianto di trattamento delle acque dell'Alto Flumendosa sono stati sottoposti a biosaggi, effettuati dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), mentre le prove biologiche di tossicità acuta su topi sono state assicurate dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna (Tabella 1).

Tabella 1. Risultati delle analisi biotossicologiche e di tossicità su campioni d'acqua provenienti dall'Alto Flumendosa

Data	Tipo di acque	Esito
<i>Analisi biotossicologica mediante Microtox</i>		
17/12/1996	in entrata in uscita dall'impianto	positivo per tossicità acuta negativo per tossicità acuta
27/02/2003	in uscita dall'impianto	debolmente positivo
12/03/2003	grezze e in uscita	negativo
<i>Prove biologiche di tossicità acuta su topi</i>		
04/07/2002	in uscita dall'impianto	negativo
26/02/2003	grezze e in uscita	negativo

Gli esiti dei test e, nell'anno 2003, la modifica dei trattamenti da parte dell'ente gestore con l'utilizzo di carbone attivo, hanno consentito di escludere il ricorso a provvedimenti cautelari di limitazione dell'uso delle acque distribuite dall'Acquedotto Ogliastro.

Conclusioni

Nonostante i dati forniti dalla letteratura scientifica in merito all'azione tossica acuta e cronica delle cianotossine, nonostante l'OMS abbia definito i valori guida per alcune di queste e molte nazioni si siano dotate, nella propria legislazione, di valori limite, la normativa italiana non prevede valori di parametro per le cianotossine; la stessa rimanda però all'Autorità sanitaria competente che a suo giudizio può, qualora vi sia motivo di sospettarne la presenza in concentrazioni tali da rappresentare un potenziale pericolo per la salute umana, disporre il controllo delle alghe previste tra i parametri accessori (Art. 8 e Allegato I DL.vo 31/2001).

Gli invasi artificiali della Sardegna, dai quali è derivato circa il 90% delle acque utilizzate per la produzione d'acque destinate al consumo umano, risultano, in larga parte, eutrofici e con una composizione algale dominata dalla presenza di Cianofitee, Cianobatteri, mentre rimane ancora da definire in quale misura siano interessati dal problema delle fioriture di ceppi produttori di tossine.

Di seguito si descrive la composizione algale degli invasi della Sardegna:

- Flagellati
Gymnodinium, Cryptomonas, Chlamidomonas, Rhodomonas, Chromonas, Ceratium;
- Diatomee
Cyclotella, Asterionella, Synedra, Achnanthes, Melosira, Fragilaria;
- Clorofitee
Oocystis, Monorafidium, Coelastrum, Scenedesmus, Sphaerocystis, Pediastrum, Chlorella, Ankistrodesmus, Nephocitium, Dictyosphaerium, Elakatotrix, Cricigeniella, Tetraedron, Staurostrum gracile;
- Cianofitee
Oscillatoria ar, Aphanizomenon flos-aquae, Microcystis, Aphanothece clathrata e nidulans, Gomphosphaeria, Woronichinia, Naegeliana, Anabaena planctonica, Aphanocapsa.

I dati della letteratura e la nostra esperienza c'inducono, pertanto, a considerare opportuno che, nelle more di una revisione del DL.vo 31/2001, i competenti Servizi delle AUSL, i Servizi Igiene degli Alimenti e della Nutrizione (SIAN), promuovano e verificano l'inserimento dei controlli algali, e/o delle determinazioni delle cianotossine, nei programmi di controllo interno delle acque dolci superficiali destinate al consumo umano, attuati dagli enti gestori, al fine di rilevare e/o monitorare eventuali problemi.

I dati relativi allo storico potrebbero consentire, quando disponibili, una più adeguata valutazione del rischio.

Gli esiti dei controlli interni, nel caso di fioriture tossiche, dovrebbero essere oggetto di comunicazioni, sistematiche e tempestive, da parte degli enti gestori ai SIAN i quali dovrebbero disporre di procedure, da attivare a seguito di comunicazione di fioriture di specie algali tossiche, al fine di valutare la congruità e l'efficacia dei provvedimenti posti in essere dagli enti gestori nonché l'idoneità per il consumo umano delle acque in distribuzione.

Ovviamente, i laboratori utilizzati per i controlli esterni dovrebbero assicurare, se non le determinazioni microscopiche, almeno i dosaggi delle tossine.

La presenza, nella linea di trattamento delle acque, di passaggi atti a determinare un abbattimento dei valori di tossine, eventualmente presenti nelle acque grezze, non dovrebbe essere motivazione sufficiente per escludere dal controllo, ma solo per calendarizzare adeguatamente, le determinazioni succitate.

Bibliografia di riferimento

- Ade P, Funari E. *Valutazione del rischio sanitario associato alle fioriture di cianobatteri*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2000. (Rapporti ISTISAN 00/30).
- Annadotter H, Cronberg G, Lawton LA, Hansson H-B, Göthe U, Skulberg OM. An extensive outbreak of gastroenteritis associated with the toxic cyanobacterium *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales, Cyanophyceae) in Scania, South Sweden. In: Chorus I (Ed.). *Cyanotoxins, occurrence, causes, consequences*. Berlin: Springer; 2001. p. 200-8.
- Boyer GL, Yang XY, Patchett EA, Gao HL, Satchwell MF. *Cyanobacteria toxins in upstate New York waters: A comparison on Onondaga Lake and Oneida Lake*. 2nd Annual Onondaga Lake Conference. Syracuse, New York: November 20, 2000.
- Bruno M, Melchiorre S. *Descrizione delle tossine algali e del loro effetto sull'uomo e sull'ambiente*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2000. (Rapporti ISTISAN 00/31).
- Carmichael WW, Azevedo SMFO, An JS, Molica RJR, Jochimsen EM, Lau S, Rinehart KL, Shaw GR, Eaglesham GK. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environ Health Perspect* 2001;109:663-8.
- Chorus I (Ed.). *Cyanotoxins, occurrence, causes, consequences*. Heidelberg, Springer; 2001.
- Dillenberg HO, Dehnel MK. Toxic waterbloom in Saskatchewan, 1959. *Canadian Medical Association Journal* 1960;83:1151-4.
- Falconer IR. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia* 1996;35(6):6-11.
- Falconer IR, Humpage AR. Tumour promotion by cyanobacterial toxins. *Phycologia* 1996;35(6):74-9.
- Fleming LE, Rivero C, Burns J, Williams C, Bean JA, Stephan WB. Cyanobacteria exposure, drinking water and colorectal cancer. In: Steidinger KA, Landsberg JH, Tomas CR, Vargo GA (Ed.). *Harmful Algae 2002*. Proceedings of the X International Conference on Harmful Algae. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. In press.
- Foundation for Water Research. *An investigation of the degradation of microcystin-LR*. Report no. FR0292. Marlow, UK: FWR; 1992.
- Hindman SH, Favero MS, Carson LA, Petersen NJ, Schonberger LB, Solano JT. Pyrogenic reactions during haemodialysis caused by extramural endotoxin. *Lancet* 1975;2:732-4.
- Jochimsen EM, Carmichael WW, An JS, Cardo DM, Cookson ST, Holmes CE, Antunes MB, de Melo Filho DA, Lyra TM, Barreto VS, Azevedo SM, Jarvis WR. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N Engl J Med* 1998;338(13):873-8.
- Kotak B, Lam A, Prepas E, Kenefick SL, Hruddy SE. Variability of the hepatotoxin microcystin-LR in hypereutrophic drinking water lakes. *Journal of Phycology* 1995;31:248-63.
- Lugliè A, Manca G, Sechi N. Studi limnologici sul Lago Alto Flumendosa (Sardegna centrale): studio trofico e fitoplancoton. *Boll Soc Sarda Sci Nat* 1996;31:83-100.
- Mez K, Hanselmann K, Preisig HR. Environmental conditions in high mountain lakes containing toxic benthic cyanobacteria. *Hydrobiologia* 1998;368:1-16.
- Morari M. *Profilo tossicologico delle tossine prodotte dai cianobatteri*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2000. (Rapporti ISTISAN 00/31).

Nishiwaki-Matsushima R, Ohta T, Nishiwaki S, Suganuma M, Kohyama K, Ishikawa T, Carmichael WW, Fujiki H. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 1992;118(6): 420-4.

Sechi N. *La struttura algale e lo stato trofico dei laghi della Sardegna*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2000. (Rapporti ISTISAN 00/30).

Teixera MGLC, Costa MCN, Carvalho VLP, Pereira MS, Hage E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. *Bulletin of the Pan American Health Organization* 1993;27:244-53.

Tisdale ES. Epidemic of intestinal disorders in Charleston (West Virginia) occurring simultaneously with unprecedented water supply conditions. *American Journal of Public Health* 1931;21:198-200.

Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, Hasegawa A, Watanabe M, Park HD, Chen GC, Yu SZ. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis* 1996;17(6): 1317-21.

World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Addendum to Volume 2. Health criteria and other supporting information*. Geneva: WHO; 1998.

Yu SZ. Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *J Gastr Hepatol* 1995;10:674-82.

FIORITURE TOSSICHE DI *PLANKTOTHRIX RUBESCENS AGARDHII* NEI LAGHI DELLA PROVINCIA DI MACERATA

Fabiola Serenelli

ARPAM, Servizio Acque, Dipartimento provinciale di Macerata

La cianoficea tossica d'acqua dolce *Planktothrix rubescens agardhii* da molti anni sta interessando i laghi della provincia di Macerata, in particolare il lago Fiastrone e i bacini a lui collegati: il Borgiano e le Grazie.

Il lago del Fiastrone, è un bacino artificiale, costruito nell'anno 1952, possiede una superficie max di 0,926Km², una profondità massima di 80 metri e volume totale teorico di 20,4 milioni di m³, rappresenta il più grande serbatoio per uso idroelettrico della regione; nonostante ciò possiede spiccate caratteristiche di seminaturalità e una spiccata valenza turistica, a cui è legato lo sviluppo economico locale basato sul turismo naturalistico, le attività ricreative e sportive come la pesca e la gara di triathlon. Il suo bacino idrografico ha un'estensione di 8.800 ettari; ed è compreso all'interno del Parco Nazionale dei Monti Sibillini. Sull'intero bacino risiede una scarsa popolazione e risultano limitate anche le attività produttive. Attraverso il torrente Fiastrone confluiscono nel lago le acque trattate e non dei collettori di scarico dei comuni di Bolognola e Acquacanina e direttamente vi si immettono le acque in uscita del depuratore comunale e la maggioranza dei reflui non trattati del comune di Fiastra. Il fiume Fiastrone, dopo aver raccolto le acque dai affluenti montani, le riversa nel serbatoio idroelettrico denominato Lago di Fiastra o Fiastrone. Dal lago Fiastrone la maggior parte delle acque vengono captate per la produzione di energia elettrica attraverso la centrale idroelettrica di Valcimarra e la restante parte segue il percorso naturale per raggiungere il fiume Chienti (Figura 1).

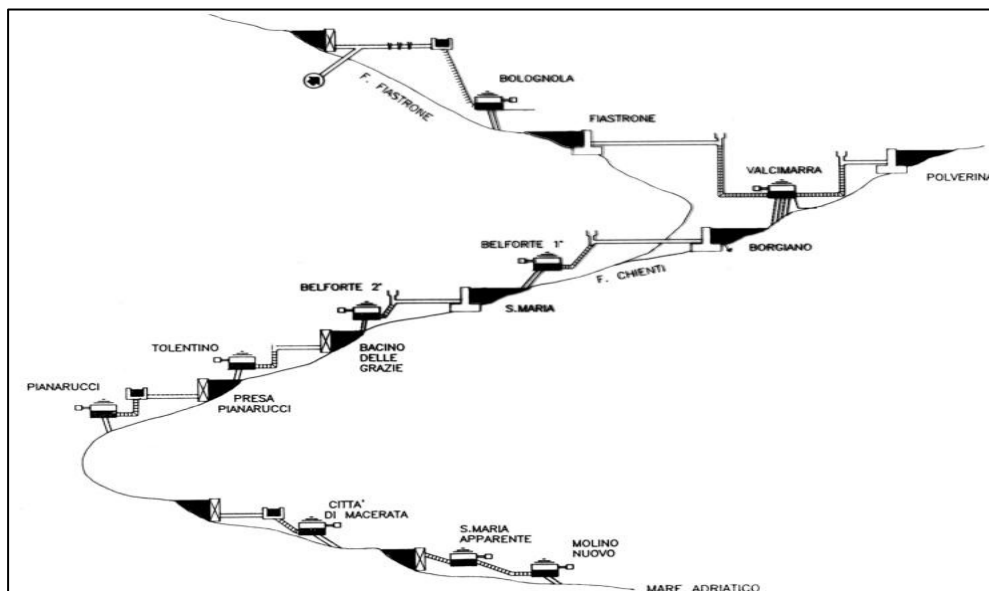


Figura 1. Centrali idroelettriche sul fiume Chienti

Alla centrale idroelettrica di Valcimarra giungono anche le acque del serbatoio artificiale denominato lago di Polverina situato lungo l'asta fluviale del fiume Chienti. All'uscita della centrale idroelettrica le acque vengono convogliate nel fiume Chienti per poi racchiuderle in un ulteriore serbatoio idroelettrico denominato lago di Borgiano anch'esso situato lungo il percorso del fiume Chienti. Anche le acque del Borgiano vengono captate per la produzione di energia elettrica e convogliate in un altro serbatoio del fiume Chienti: il lago delle Grazie, le cui acque vengono utilizzate per scopo idropotabile e potabilizzate da un impianto in grado di erogare alla rete acquedottistica del comune di Tolentino una portata massima di 50 litri al secondo.

Metodologia dell'indagine

Prelevamento dei campioni

I prelievi vengono effettuati con una bottiglia di Niskin (TH3), dalla capacità di 5 litri nei punti prestabiliti. Si prelevano due campioni per ogni punto: il primo a 0,5 metri di profondità e il secondo a circa 1 metro dal fondo. L'acqua prelevata viene messa in bottiglie scure di vetro o di plastica (500 mL per l'esame biologico, 1.000 mL per l'esame chimico) e trasportata in laboratorio in un contenitore termico ad una temperatura di + 4 °C.

La frequenza dei campionamenti è stata mensile o quindicinale a seconda della densità del fenomeno eutrofico (Tabella 1).

Tabella 1. Punti di campionamento

Prelevamento	Profondità (metri)
<i>Lago Fiastrone</i>	
20 metri dalla diga	0,5
20 metri dalla diga	40
centro del lago	0,5
centro del lago	20
inizio del lago	0,5
inizio del lago	2
<i>Lago di Borgiano</i>	
20 metri dalla diga	0,5
20 metri dalla diga	15
centro del lago	0,5
centro del lago	7
inizio del lago	0,5
inizio del lago	2
<i>Lago le Grazie</i>	
20 metri dalla diga	0,5
20 metri dalla diga	13
al centro del lago	0,5
al centro del lago	7
all'inizio del lago	0,5
all'inizio del lago	2

I parametri chimici sono stati determinati seguendo i metodi ufficiali pubblicati dall'IRSA-CNR. La ricerca delle alghe potenzialmente tossiche è stata eseguita seguendo il metodo qualitativo riportato dalla Nota ministeriale n. IX.400.4/13.1/3/562. La ricerca delle microcistine è stata determinata utilizzando un metodo immunoenzimatico semi-quantitativo.

Lago Fiastrone

Dal novembre 1997 nel lago Fiastrone si verificano fioriture sostenute dalla *P. rubescens agardhii*, che negli ultimi anni risultano sempre più consistenti e spesso caratterizzate dalla formazione di densi *scum*.

Dall'osservazione dei grafici si evidenzia che la cianoficea trova le migliori condizioni di sviluppo nei periodi autunnali e primaverili (Figure 1 e 2).

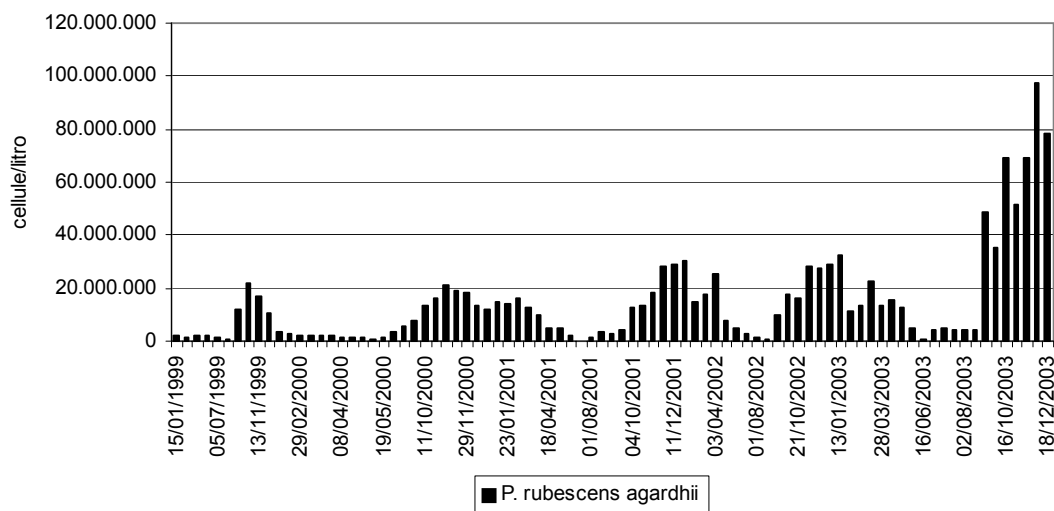


Figura 1. Lago Fiastrone: andamento di *P. rubescens agardhii* (1999-2003)

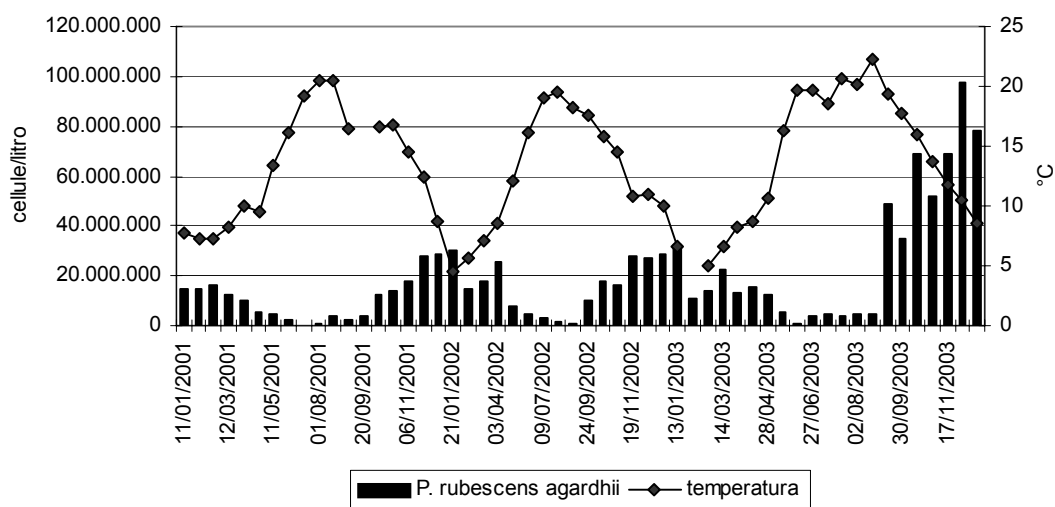


Figura 2. Lago Fiastrone: andamento di *P. rubescens agardhii* e temperatura (2001, 2002, 2003)

Dallo studio dei dati ottenuti dal monitoraggio chimico biologico effettuato dall'Arpam Dipartimento di Macerata in collaborazione con l'Amministrazione Provinciale di Macerata durante l'anno 2003, si rileva che, anche in questo anno, la cianoficea tossica d'acqua dolce *Planktothrix rubescens agardhii*, ha interessato il lago di Fiastrone, raggiungendo densità mai

rilevate durante gli anni precedenti; la fioritura di questa alga è stata riscontrata durante tutto il monitoraggio (Figura 3).

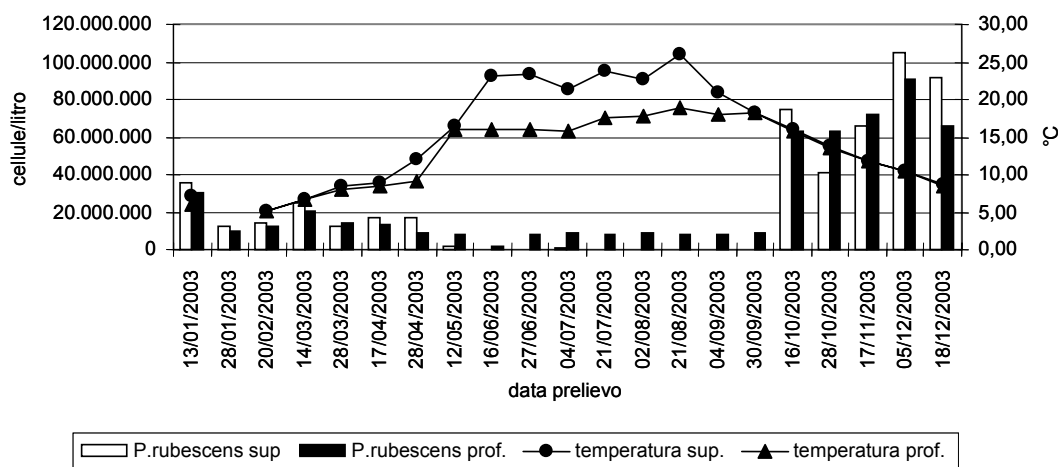


Figura 3. Lago Fiastrone: andamento di *P. rubescens agardii* e temperatura (2003)

Nel periodo gennaio-febbraio, l'alga era presente su tutta la colonna d'acqua con una densità media oscillante tra i 20.000.000 e i 30.000.000 cellule/litro; poi, lentamente, ha iniziato a regredire (da giugno ad agosto), fino a raggiungere valori inferiori ai 5.000.000 cellule/litro, limite stabilito dalla circolare ministeriale, oltre il quale si ha l'interdizione delle acque, per cui, da giugno, si è potuto revocare il divieto di balneazione delle acque del lago, in vigore dal settembre 2002. Però, nonostante in questo periodo la densità media della cianoficea si trovi al di sotto dei 5.000.000 cellule/litro, si è evidenziata una marcata stratificazione algale, raggiungendo in data 9 settembre 2003, solo in profondità, i 9.000.000 cellule/litro.

Dai campionamenti successivi, precisamente inizio settembre, si è rilevato un notevole aumento della densità algale (circa 50.000.000 cellule/litro), fino a raggiungere, nei mesi di novembre e dicembre, i valori medi più alti (circa 100.000.000 cellule/litro), con un interessamento di tutta la colonna d'acqua. Questo ha comportato, nuovamente, l'interdizione delle acque del lago dal mese di settembre a tutt'oggi. Questo andamento ciclico, già evidenziato dai monitoraggi eseguiti durante gli anni precedenti, è dovuto ad una correlazione diretta tra la presenza della cianoficea e la temperatura dell'acqua.

Con il diminuire della temperatura dell'acqua si ha un aumento della densità della *P. rubescens agardii* (in quanto predilige temperature al di sotto dei 18 °C) e, viceversa, con l'aumentare della temperatura si riduce la presenza della cianoficea. Essa, comunque, non scompare del tutto durante i mesi estivi, in quanto, essendo dotata di vacuoli citoplasmatici, riesce a migrare lungo la colonna d'acqua, proteggendosi da una eccessiva intensità luminosa, che potrebbe danneggiare il suo sistema fotosintetico e che le permette di disporsi in strati dove è maggiore la disponibilità dei nutrienti.

Durante i mesi di novembre e dicembre, in condizioni di assenza di vento e di moto ondoso, a causa dell'elevata densità della cianoficea, si sono formati spessi tappeti di color rosso galleggianti sulla superficie del lago, che hanno ridotto notevolmente la trasparenza delle acque. Durante tutto il periodo monitorato, in particolare nei mesi autunnali e invernali, è notevolmente ridotta la presenza di altre specie algali; soltanto nei mesi di maggio e luglio, nei punti in superficie, all'inizio del lago, l'alga dorata *Dinobryon* spp ha raggiunto 1.000.000 cellule/litro.

Il lago ha mostrato un valore costante di pH (7,9-8,3) e una buona ossigenazione delle acque sia in superficie che nel fondo, tranne nel campionamento eseguito in data 30 settembre 2003, nei punti di prelievo, situati in profondità (valore minimo 3,2 mg/L).

L'analisi dei parametri chimici, come già riscontrato negli anni precedenti, evidenzia che il lago non presenta un'elevata concentrazione dei nutrienti e che comunque il fenomeno eutrofico è sostenuto (Teubner, Bruno *et al.*) da un rapporto N/P superiore a 10 (Figure 4 e 5).

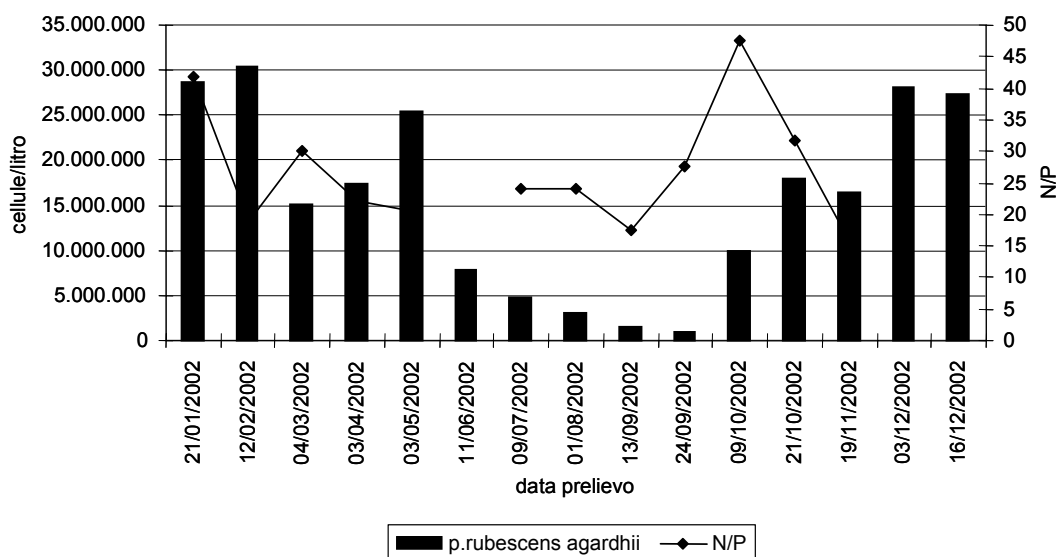


Figura 4. Lago Fiastrone: andamento di *P. rubescens agardhii*, N/P (2002)

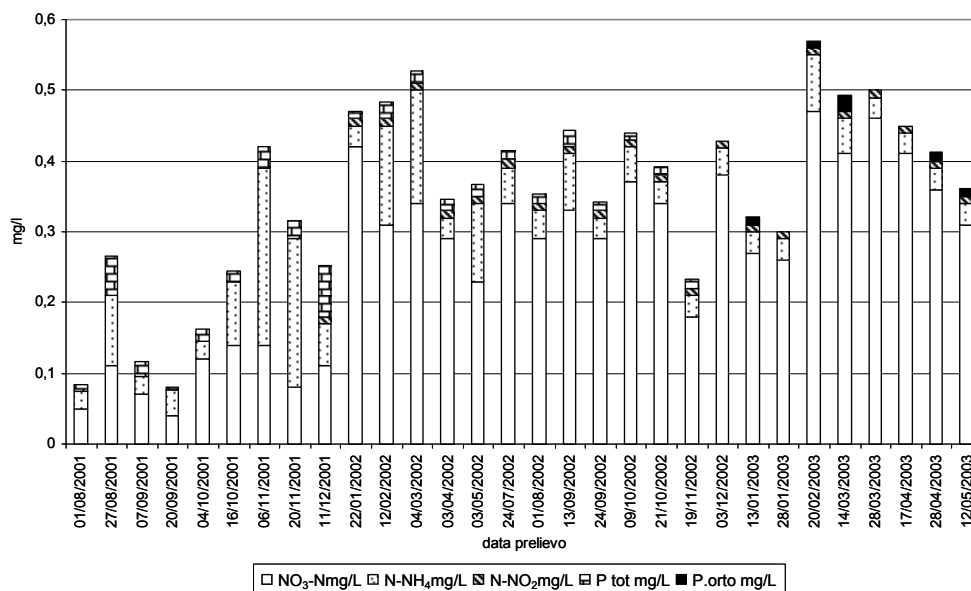


Figura 5. Lago Fiastrone: azoto nitrico, nitroso, ammoniacale e fosforo totale (agosto 2001-maggio 2002, luglio 2002-maggio 2003)

I dati relativi alla ricerca delle microcistine nelle acque, evidenziano che la concentrazione è risultata sempre inferiore a 0,5 ppb, tranne che nel campionamento effettuato in data 30 settembre 2003 nel punto in superficie in prossimità della diga, e in data 16 ottobre 2003 su tutte le stazioni monitorate, (la concentrazione è risultata all'interno dell'intervallo 0,5-3 ppb), in corrispondenza di una maggior densità della *P. rubescens*.

Lago di Borgiano

Il lago di Borgiano, anche durante l'anno 2003, è stato interessato dalla presenza della cianoficea *P. rubescens agardhii*.

Dallo studio dei dati ottenuti dal monitoraggio algale, risulta evidente che l'andamento dell'alga è analogo a quello del lago di Fiastra, seppur in concentrazioni inferiori (Figure 6 e 7).

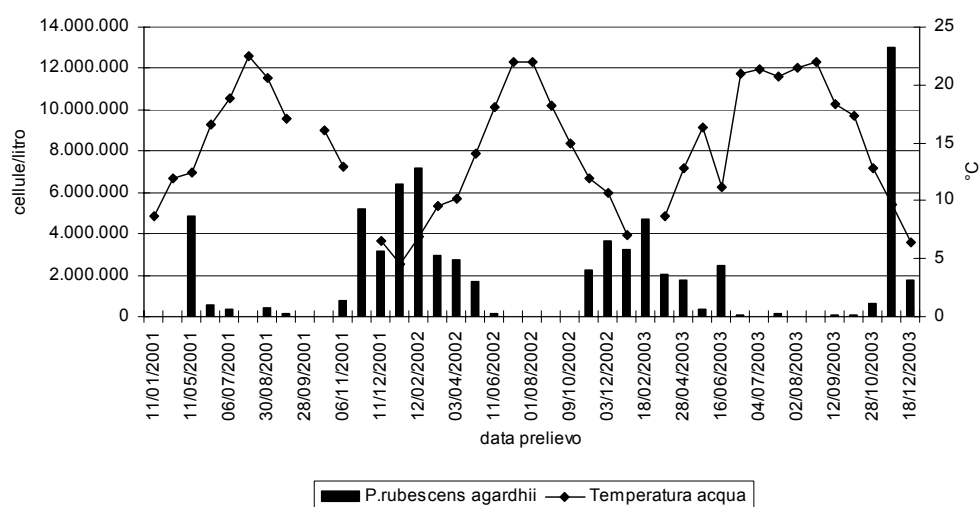


Figura 6. Lago di Borgiano: andamento di *P. rubescens agardhii* e temperatura (2001, 2002, 2003)

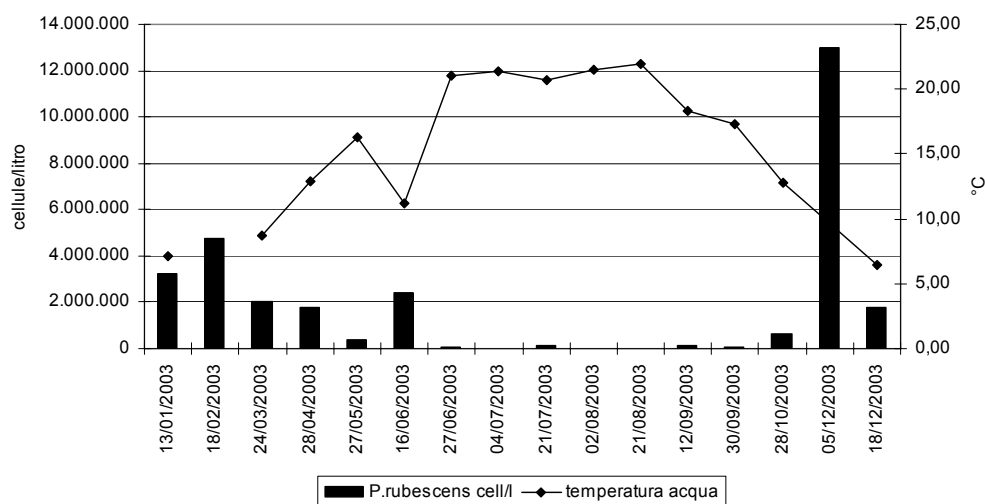


Figura 7. Lago di Borgiano: andamento di *P. rubescens agardhii* e temperatura (2003)

Precisamente, durante il periodo gennaio-giugno, la cianoficea è presente su tutta la colonna d'acqua e la sua densità da 3.200.000 cellule/litro, registrata a gennaio, passa 70.000 cellule/litro a fine giugno.

Da giugno a settembre, la presenza della cianoficea è quasi nulla e ricomincia ad aumentare durante il mese di ottobre, fino a raggiungere i valori massimi nella prima quindicina di dicembre (13.000.000 cellule/litro), per poi ridursi, notevolmente, a fine dicembre, dove raggiunge la densità di 1.700.000 cellule/litro.

Questa notevole riduzione coincide con l'interruzione della derivazione della centrale idroelettrica di Valcimarra.

Da questo si deduce che la fioritura algale della *P. rubescens agardhii* nel lago di Borgiano è dovuta, esclusivamente, all'arrivo di acque ricche di filamenti algali, provenienti dal Fiastrone, mediante la centrale idroelettrica di Valcimarra, fenomeno verificato anche dai monitoraggi svolti durante gli anni precedenti.

Inoltre il lago di Borgiano, essendo caratterizzato da un veloce ricambio idrico, non favorisce l'instaurarsi delle condizioni ottimali per la *P. rubescens agardhii*.

A differenza del lago Fiastrone, il Borgiano è interessato, nei vari periodi dell'anno, da varie fioriture algali, sostenuti da varie alghe, appartenenti al gruppo delle *Diatomee*, come la *Cyclotella* spp, la *Synedra*, l'alga dorata *Dinobryon* spp, l'alga verde *Scenedesmus* spp. (Figura 8).

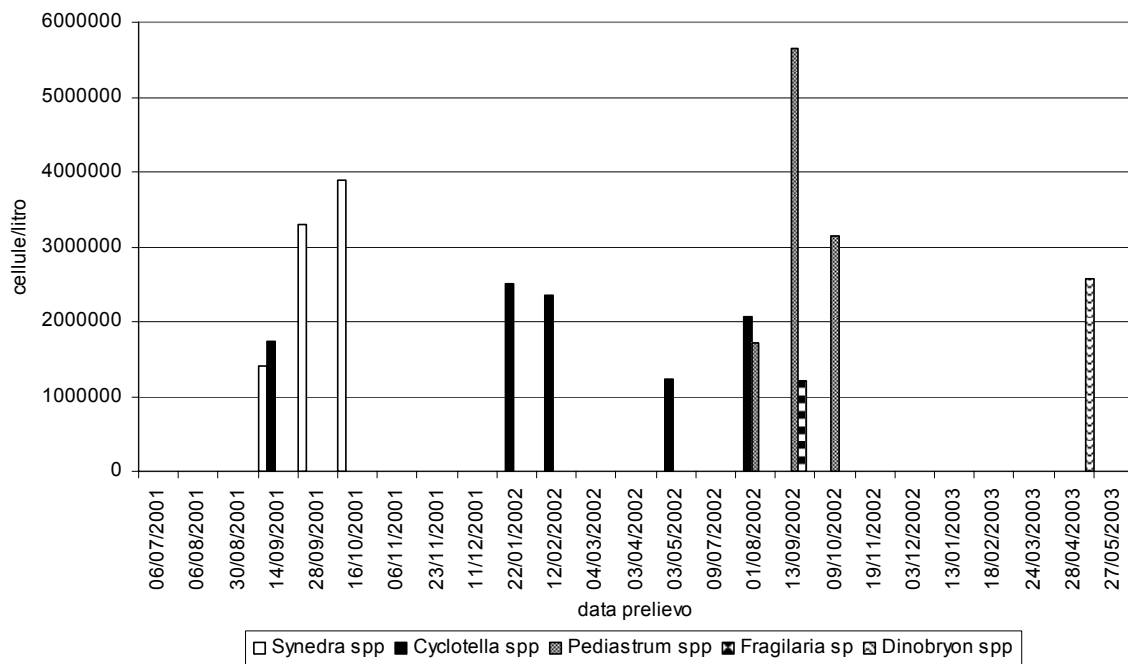


Figura 8. Lago di Borgiano: altre fioriture algali (luglio 2001 maggio 2003)

La presenza di questi numerosi fenomeni eutrofici, spiegano le elevate concentrazioni di clorofilla *a* e valori di ossigeno disciolto spesso maggiori al 100%.

Queste fioriture algali avvengono frequentemente in quanto il lago è risultato ricco di nutrienti, soprattutto azotati (valori max N-NO₃ 1,29 mg/l, N-NH₄ 0,18 mg/L) (Figura 9).

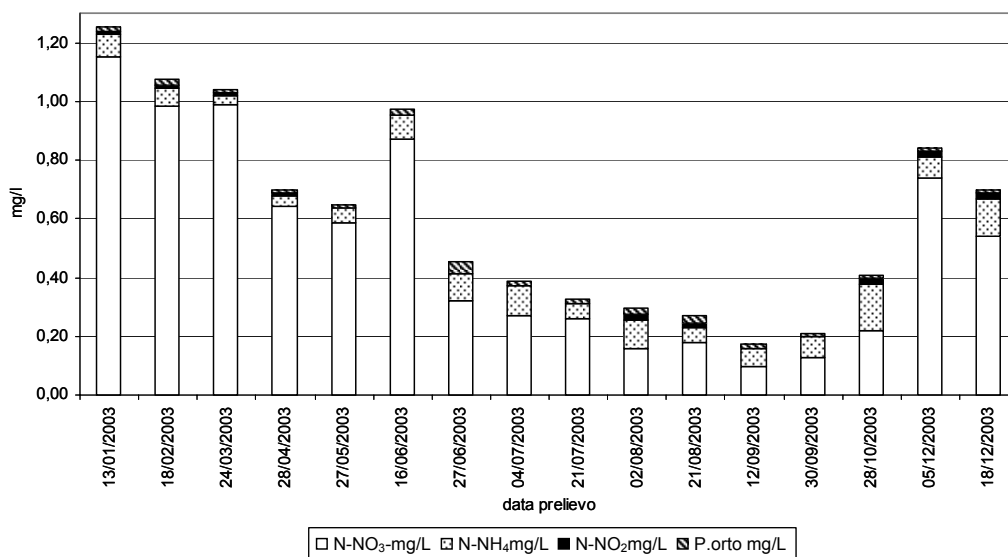


Figura 9. Lago di Borgiano: nutrienti (2003)

Le alghe che hanno sostenuto i vari fenomeni eutrofici, a differenza della *P. rubescens agardhii*, non risultano potenzialmente tossiche per l'uomo, ma comunque pericolose per la fauna ittica e stanno ad indicare un alterato equilibrio lacustre.

Lago le Grazie

Anche il lago Le Grazie, durante l'anno 2003, è stato interessato dalla presenza della *P. rubescens agardhii*, che ha dato fioritura nei mesi di gennaio, febbraio e dicembre (Figure 10 e 11).

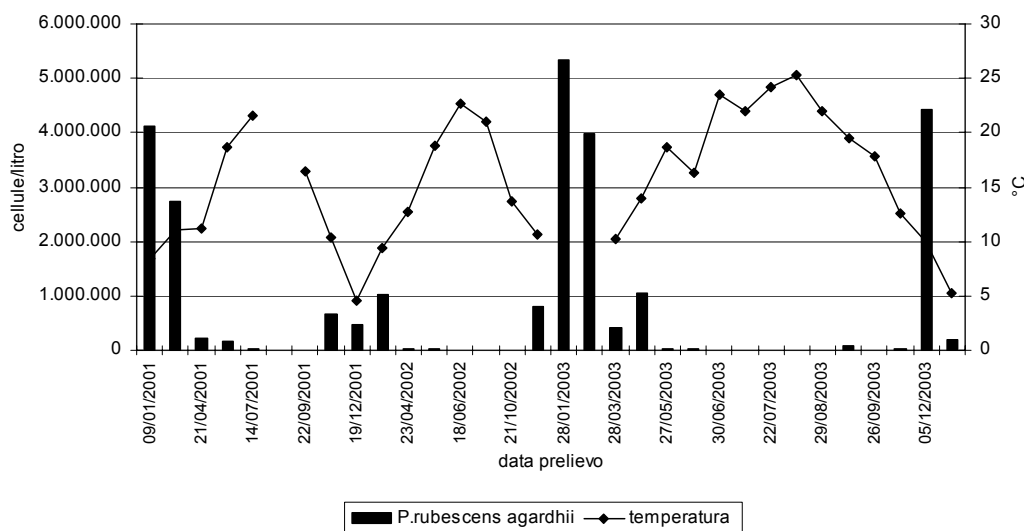


Figura 10. Lago Le Grazie: andamento di *P. rubescens agardhii* (2001, 2002, 2003)

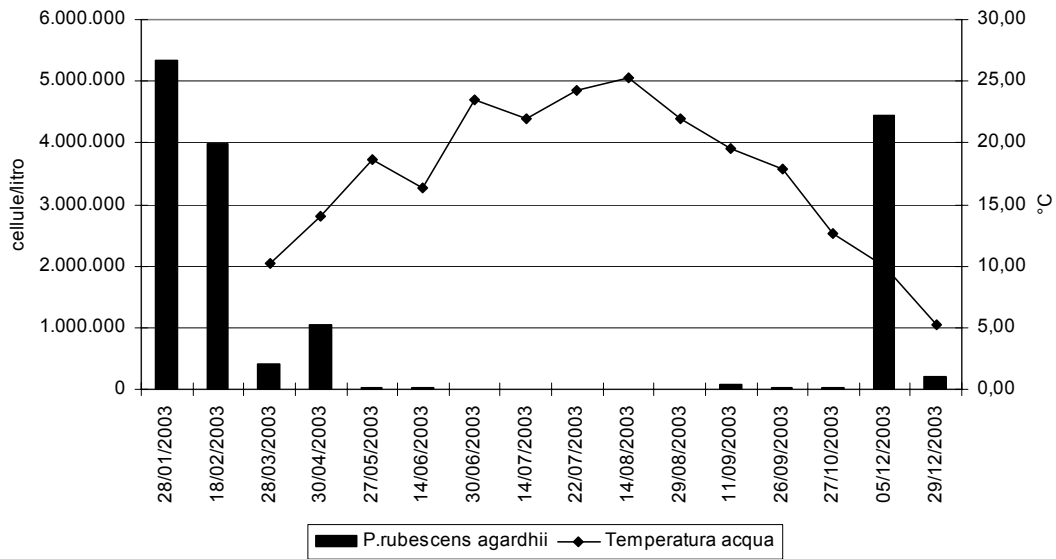


Figura 11. Lago le Grazie: andamento di *P. rubescens agardhii* e temperatura (2003)

Nel lago Le Grazie la presenza della *P. rubescens* è dovuta all'arrivo di acque ricche di filamenti algali, provenienti dal fiume Chienti.

Dall'analisi dei parametri chimici come N e P (Figura 12) si rileva che il lago presenta una concentrazione di nutrienti maggiore rispetto al Fiastrone e può essere definito un meso-eutrofico, in grado di sostenere lo sviluppo di elevate biomasse algali; infatti, oltre alla fioritura sostenuta dalla *P. rubescens agardhii*, il lago è stato interessato da numerose fioriture algali, causati da specie appartenenti al gruppo delle Diatomee come *Synedra* spp, *Asterionella* spp ecc. (Figura 13).

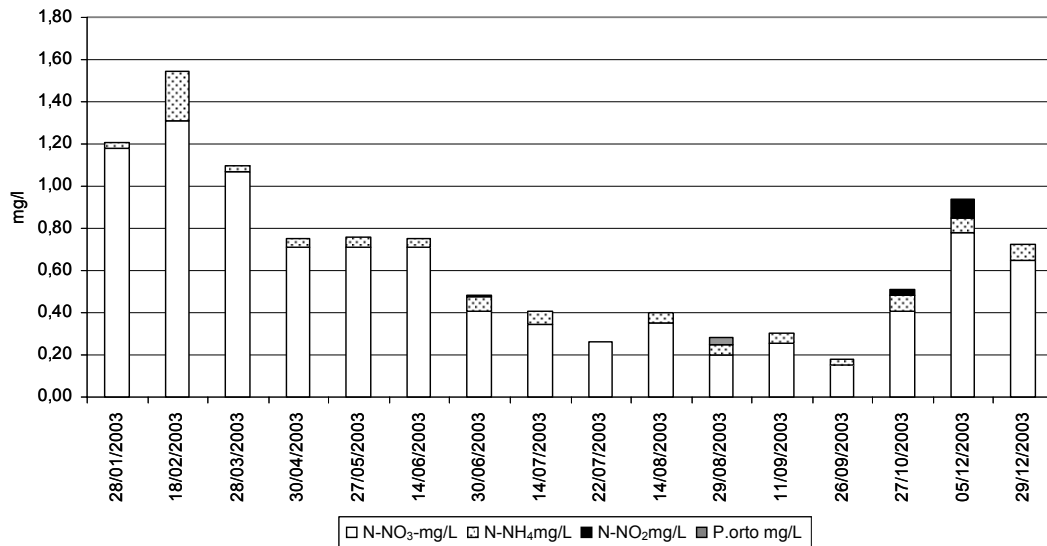


Figura 12. Lago le Grazie: nutrienti (2003)

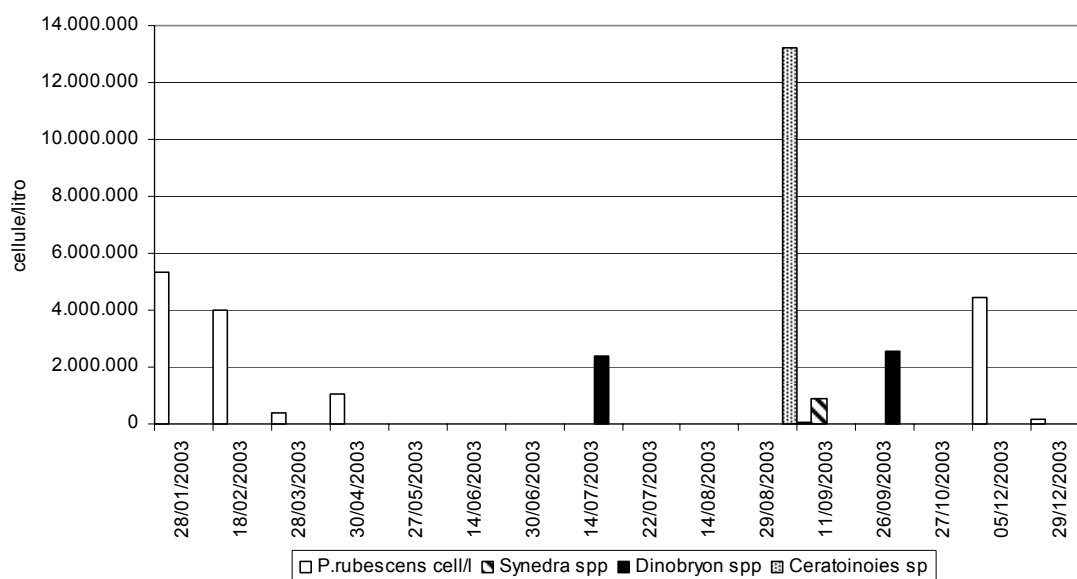


Figura 13. Lago Le Grazie: fioriture algali (2003)

Questo spiega le elevate concentrazioni di clorofilla *a*, spesso accompagnate da elevate concentrazioni di ossigeno disciolto. Nonostante ciò non si sono mai verificati episodi di carenza di ossigeno, in seguito alla decomposizione algale.

Come abbiamo già detto per il lago di Borgiano, queste alghe non risultano, potenzialmente, tossiche per l'uomo, ma possono causare problemi alla fauna ittica e il loro continuo succedersi, ormai da vari anni, sta ad indicare un'alterazione dell'equilibrio del sistema lacustre.

Visto che la densità della *P. rubescens agardhii* dal mese di ottobre 2002, è aumentata notevolmente in tutti i laghi monitorati e all'entrata dell'impianto di potabilizzazione, si è ritenuto opportuno monitorare la presenza delle microcistine anche nelle acque del lago Le Grazie.

Dalle analisi condotte nei mesi di ottobre e dicembre 2002, gennaio, ottobre e dicembre 2003 è emerso che la concentrazione di microcistine è risultata sempre inferiore a 0,5 ppb.

Nonostante la moderata densità della cianoficea nel lago Le Grazie, tale presenza è stata sufficiente a causare problemi nella rete di distribuzione dell'acquedotto del Comune di Tolentino. Infatti le acque del lago Le Grazie vengono captate per servire un'utenza di 12.000 abitanti del Comune di Tolentino; nonostante possiede un'impianto di potabilizzazione con sistema di filtri a carbone attivi che attualmente risultano i più sicuri nel trattenere la tossina.

Parallelamente al monitoraggio sul lago è stato svolto un controllo mirato alla ricerca delle cellule algali dell'acqua all'entrata e all'uscita del potabilizzatore e in alcuni punti della rete idrica del Comune di Tolentino al fine di accertare l'idoneità della stessa al consumo umano.

Dalla Figura 14 si evidenzia che durante l'anno 2003 la densità della cianoficea all'entrata del potabilizzatore supera il valore di 1.000.000 cellule/litro nel periodo gennaio-aprile e nel mese di novembre.

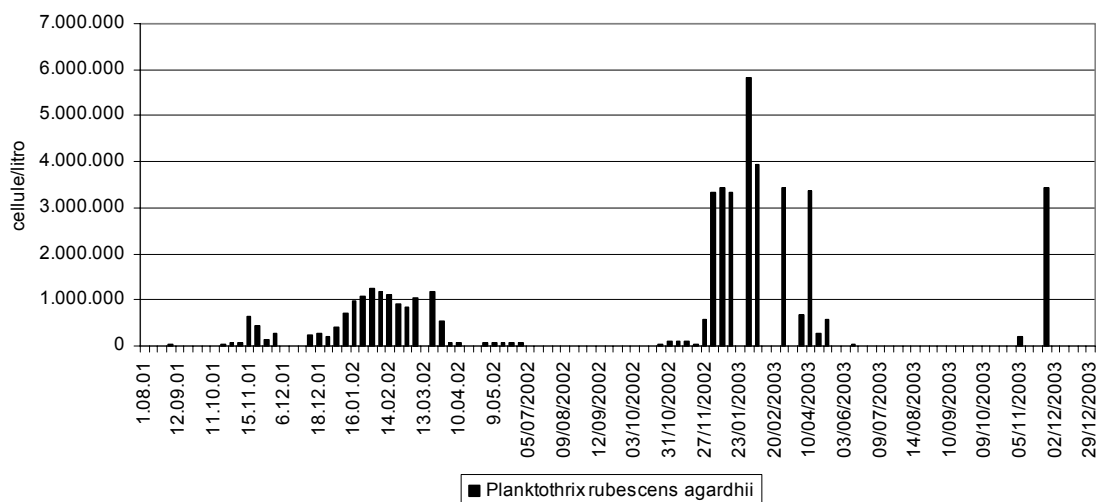


Figura 14. *P. rubescens agardhii*: andamento all'ingresso dell'impianto di potabilizzazione (2001, 2002, 2003)

Dalla Figura 15 che riporta la densità di *P. rubescens agardhii* all'uscita dell'impianto di potabilizzazione si rileva che la cianofeica è di norma assente ad eccezione del periodo dal 17 novembre 2003 al 29 dicembre 2003.

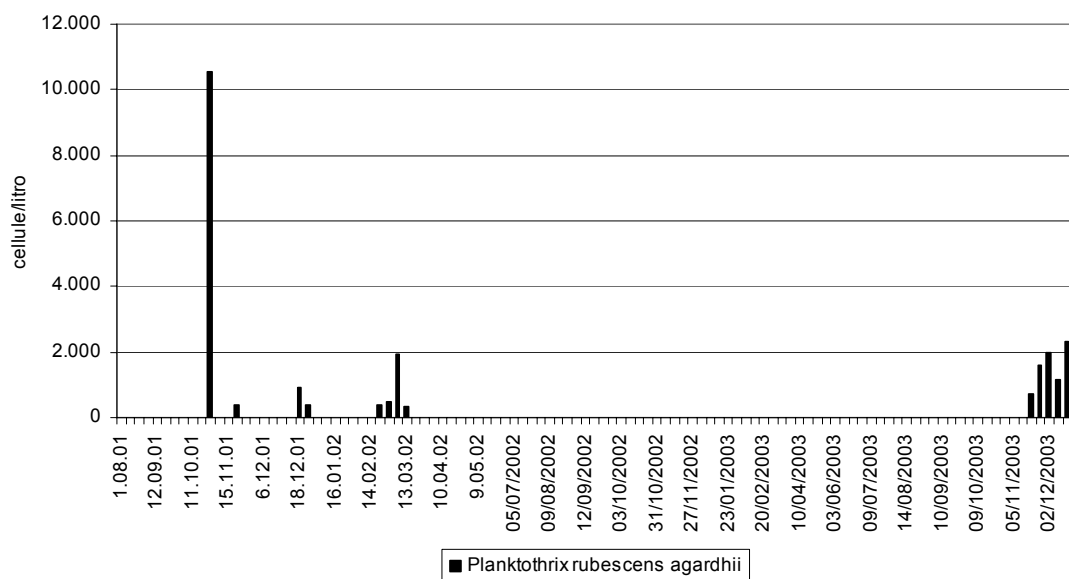


Figura 15. *P. rubescens agardhii*: andamento all'uscita dell'impianto di potabilizzazione (2001, 2002, 2003)

Da questi ultimi grafici si evidenzia che all'uscita dell'impianto di potabilizzazione durante il periodo gennaio-aprile le cellule algali risultavano assenti nonostante ve ne entrarono una discreta quantità, ciò non si può dire per il periodo di novembre-dicembre pur essendoci all'entrata una densità inferiore.

Lago di Gerosa

Negli ultimi anni, precisamente 2003 e 2004, la cianoficea tossica d'acqua dolce *P. rubescens* sta interessando anche un altro lago della Regione Marche: il lago di Gerosa, situato nella provincia di Ascoli Piceno.

Durante i campionamenti eseguiti durante l'anno 2003 la densità dell'alga superava la densità di 1.000.000 cellule/litro.

Nel campionamento eseguito in data 3 aprile 2004 la cianoficea ha raggiunto, nel punto di campionamento posto alla profondità di 22 m una densità di 40.000.000 cellule/litro.

Normativa

La vigente normativa sulla qualità delle acque destinate al consumo umano di cui al DL.vo 2 febbraio 2001, n. 31 e successive modifiche, considera la ricerca delle alghe nelle acque potabili un parametro accessorio, senza fissarne i limiti, considerando questi microrganismi come indesiderabili.

Dalla predisposizione di un protocollo d'intesa si è stabilito che qualora su 4 campioni d'acqua prelevati in vari punti della rete, ve ne siano 2 che superano il limite di 1.000 cell L⁻¹, si procede ad un nuovo controllo e alla ricerca di microcistine, se i dati saranno confermati, il Sindaco emette Ordinanza Sindacale per il divieto d'utilizzo dell'acqua.

Vista la continua presenza della fioritura della cianoficea sul lago Fiastrone e sui bacini a lui collegati, gli Enti preposti al controllo e alla protezione dell'ambiente e della salute pubblica, durante l'anno 2001 hanno formato un gruppo tecnico ristretto (costituito dai rappresentanti ANPA, ISS, ARPAM Dipartimento di Macerata, Dipartimenti di prevenzione AUSL 9 e AUSL 10, Istituto Zooprofilattico, ENEL Green Power), e ha definito un protocollo per la gestione dell'inquinamento algale del lago Fiastrone e dei bacini dell'alto Chienti, tenendo conto della Circolare Ministeriale del 31 luglio 1998 che fissa il limite di 5.000.000 cell L⁻¹ oltre il quale le acque devono essere interdette alla balneazione.

Protocollo per la gestione dell'inquinamento algale

Ambito territoriale di riferimento

L'ambito territoriale di riferimento del presente protocollo è costituito dai laghi del Fiastrone, Polverina, Borgiano e Le Grazie, interessati direttamente e/o indirettamente dal fenomeno inquinante in questione.

Attività gestionali da realizzare

1. Attività relative al bacino idrografico del lago del Fiastrone e dei laghi di Polverina, Borgiano e le Grazie, indipendenti dalla concentrazione algale

- controllo annuale degli scarichi di acque reflue di aziende e attività ricadenti nel bacino a monte del lago del Fiastrone;
- rispetto delle disposizioni conseguenti l'utilizzazione agronomica dei suoli agrari, in particolare inclusi nelle aree sensibili e/o vulnerabili ai nitrati, individuate dal Piano regionale di tutela delle acque;
- promozione da parte degli Enti interessati di azioni di politica agricola finalizzate a migliorare le pratiche agricole in funzione della criticità da carico di nutrienti e l'applicazione del Codice di Buona Pratica Agricola;
- rigoroso rispetto del divieto di scarichi idrici di ogni genere non a norma;

- divieto al singolo pescatore di detenere e utilizzare più di 1 kg di bigattini e più di 1,5 kg di pasture per ogni giornata di pesca;
 - immediata realizzazione dei progetti di risanamento del bacino del lago del Fiastrone e degli altri bacini;
 - evitare per quanto possibile, periodi prolungati di fermo acque e rapide oscillazioni del livello del lago del Fiastrone;
 - escursione massima consentita del livello delle acque del lago del Fiastrone fino alla quota minima di invaso di 631 m;
 - comunicazione mensile, o settimanale in caso di fioritura, delle portate del lago del Fiastrone in ingresso, in uscita e derivate;
 - obbligo del Gruppo Tecnico di riunirsi almeno una volta allorquando si superi la soglia dei 10 milioni di cell mL⁻¹, per analizzare lo stato delle attività programmate e monitorare l'evoluzione delle diverse forme di collaborazione;
- 2. Popolazione algale nel Lago Le Grazie superiore a 1 milione cell mL⁻¹**
- attivazione del monitoraggio settimanale della presenza algale nella rete acquedottistica nel Comune di Tolentino;
 - contemporanea ricerca di tossine algali all'ingresso della rete dell'acquedotto;
 - emanazione di Ordinanza Sindacale di divieto di utilizzo dell'acqua potabile nel Comune di Tolentino qualora dalle attività di monitoraggio della rete acquedottistica si rilevi il superamento del limite di presenza algale stabilito in 1.000 cell mL⁻¹ in due campioni su quattro, se confermati da verifica analitica dei prelievi ripetuti entro 24 ore.
- 3. Popolazione algale nel lago del Fiastrone e/o negli altri bacini interessati al di sotto della soglia di 5 milioni cell mL⁻¹**
- normali canoni di monitoraggio della densità algale e dei parametri chimico-fisici con prelievi mensili;
 - nessuna restrizione dell'uso delle acque.
- 4. Popolazione algale nel lago del Fiastrone e/o negli altri bacini interessati, compresa tra 5 milioni cell mL⁻¹ e 10 milioni cell mL⁻¹**
- continuazione di tutte le attività previste al terzo punto e inoltre:
 - intensificazione del monitoraggio con prelievi da effettuarsi al massimo ogni quindici giorni;
 - al superamento dei 5 milioni cell mL⁻¹ in ogni bacino interessato, emanazione di ordinanze sindacali:
 - di divieto dell'utilizzo dell'acqua per uso potabile, in assenza di impianti di potabilizzazione;
 - di divieto di pesca, anche sportiva, di qualsiasi specie ittica;
 - di divieto di balneazione;
 - dell'uso dell'acqua per irrigazione a pioggia;
 - dell'uso dell'acqua per abbeveraggio del bestiame.
- 5. Popolazione algale nel lago del Fiastrone e/o negli altri bacini interessati, maggiore di 10 milioni cell mL⁻¹**
- continuazione di tutte le attività previste al quarto punto e inoltre:
 - intensificazione del monitoraggio di densità algale con frequenza settimanale nel Lago Le Grazie;
 - ricerca di tossine algali nelle acque dei laghi;
 - espletamento di indagini istologiche e delle tossine nei fegati e nelle masse muscolari della fauna ittica e selvatica, qualora dalle indagini del punto precedente emerga la presenza di tossine algali nelle acque di lago;
 - produzione di energia elettrica mediante turbinazione delle acque derivate dal lago del Fiastrone con le portate del fiume Chienti a monte (lago di Polverina) in rapporto di almeno 1:2.

FIORITURE DI CIANOBATTERI NEI LAGHI PROFONDI DELL'ITALIA SETTENTRIONALE

Nico Salmaso
 Dipartimento di Biologia, Università di Padova

Introduzione

L'ampia zona di transizione tra le Alpi meridionali e la Pianura Padana è fortemente caratterizzata dalla presenza di uno dei più grandi distretti lacustri europei, al quale appartengono, da est a ovest, i laghi di Garda, Iseo, Como, Lugano e Maggiore (Figura 1 e Tabella 1).

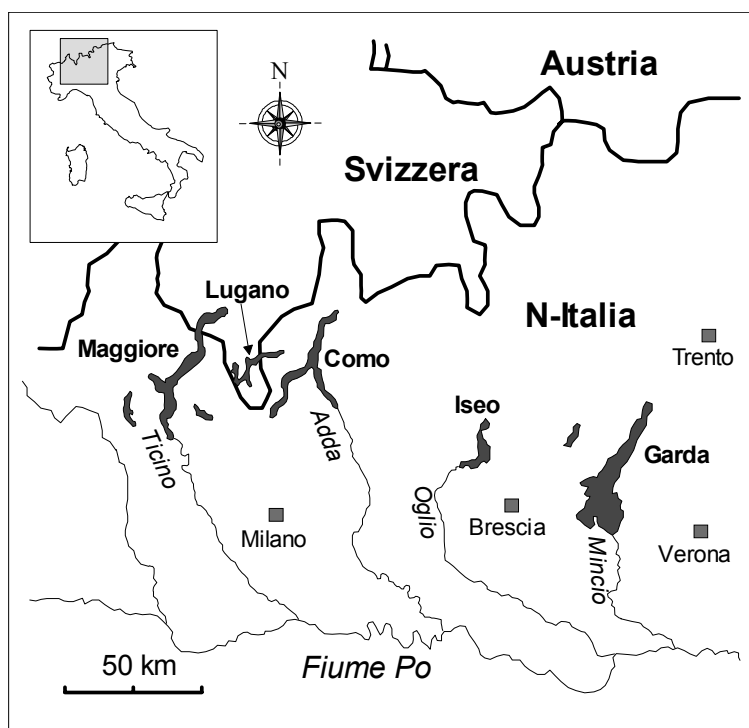


Figura 1. Ubicazione dei laghi profondi sudalpini

Tabella 1. I bacini considerati

Lago	Superficie (km ²)	Volume (km ³)
Garda	368	49
Iseo	62	7,6
Como	146	22,5
Lugano	28	4,7
Maggiore	213	37,5

Complessivamente, l'areale del bacino imbrifero di questi laghi si estende per circa 15.300 km². Il volume totale è di oltre 120×10⁹ m³, mentre l'acqua in uscita dagli emissari rende conto di oltre il 40% della portata del fiume Po (Carollo & Libera, 1992; Ambrosetti & Barbanti, 1997). Oltre a essere luoghi di rinomato interesse turistico, i laghi profondi sudalpini costituiscono un'importante risorsa per l'agricoltura, l'industria, la pesca e l'approvvigionamento di acqua potabile. Negli ultimi decenni questi laghi hanno subito un progressivo scadimento della qualità delle acque, documentato dall'aumento di nutrienti algali (composti di fosforo e azoto) e da un generale aumento dei processi riconducibili all'eutrofizzazione (Mosello & Giussani, 1997). Nel recente periodo, e dopo i massimi livelli trofici raggiunti nella seconda metà degli anni '70 (meso-eutrofia), l'unico bacino che ha subito un evidente processo di oligotrofizzazione dovuto a una stringente politica di riduzione dei carichi esterni di nutrienti è costituito dal Lago Maggiore (Mosello *et al.*, 2000).

L'aumento delle concentrazioni di nutrienti algali e del livello trofico nei corpi lacustri determina una serie di effetti negativi sulla qualità e utilizzabilità delle acque (Ryding & Rast, 1989). I più evidenti comprendono l'incremento della biomassa fitoplanctonica, il cambiamento della struttura e composizione delle comunità vegetali e animali, il consumo ipolimnetico di ossigeno (con la possibile comparsa di composti tossici) e il deterioramento delle caratteristiche estetiche delle acque. Per quanto riguarda l'utilizzo ricreativo e potabile delle risorse idriche uno degli effetti più gravi dell'eutrofizzazione è costituito dalla tendenza all'aumento dei cianobatteri (Watson *et al.*, 1997). Questi organismi costituiscono una fonte di rischio potenziale per la salute umana, in quanto sono in grado di produrre un'ampia gamma di composti tossici (Sivonen & Jones, 1999).

Al pari degli altri organismi fitoplanctonici i cianobatteri sono costituiti da cellule microscopiche, con dimensioni variabili da frazioni di micrometri (nel caso del *picoplancton procarionte*), fino a poche decine di micrometri (per esempio, le cellule vegetative e di resistenza delle Nostocales). Relativamente alle forme coloniali i cianobatteri possono tuttavia diventare visibili ad occhio nudo, sotto forma, per esempio, di isolati ammassi di forma globulare o appiattita (come nel caso, rispettivamente, di *Anabaena* spp. e *Microcystis aeruginosa*). La presenza di questo gruppo di organismi diviene particolarmente evidente durante la formazione delle cosiddette "fioriture algali", fenomeni nei quali alcune specie di cianobatteri possono addensarsi negli strati superficiali dando luogo alla formazione di "schiume", "strie", "marezzi" e "colorazioni dell'acqua". Tali fenomeni, quando si manifestano con elevata frequenza e intensità, costituiscono non solo un problema di carattere "estetico", con implicazioni pesanti dal punto di vista dello sfruttamento turistico e ricreativo, ma anche sanitario, data la forte concentrazione di cellule cianobatteriche presenti in corrispondenza dei massimi addensamenti delle fioriture.

Nel corso dell'ultimo decennio episodi di fioriture di cianobatteri sono stati riportati, con sempre maggiore frequenza, anche nella quasi totalità dei laghi profondi sudalpini. Di seguito, dopo un breve inquadramento sulle condizioni trofiche attuali del gruppo di laghi in esame, sarà riportata una breve rassegna dei casi osservati, cui seguirà un commento sulle cause che possono favorire sia lo sviluppo delle specie responsabili dei fenomeni, sia dello sviluppo vero e proprio delle fioriture algali.

Condizioni trofiche recenti dei laghi profondi sudalpini

Le condizioni trofiche recenti dei principali laghi del distretto lacustre sudalpino sono riportate nella Figura 2. I dati utilizzati, ricavati dalle analisi riportate da Salmaso *et al.* (2003), si riferiscono ai valori medi epilimnetici di fosforo totale e clorofilla *a* calcolati sulla base delle

osservazioni mensili effettuate nei trienni 1997-1999 (Maggiore) e 1998-2000 (Garda, Iseo e Lugano), e nel periodo tra settembre 1997 e agosto 1999 (lago di Como, stazioni ubicate nel bacino occidentale-Como e orientale-Abbadia Lariana). Utilizzando i limiti definiti dall'OECD (1982), i laghi di Garda e Maggiore sono in una condizione di oligo-mesotrofia, il lago di Como è mesotrofo, mentre i laghi di Iseo e Lugano sono caratterizzati da condizioni al limite inferiore dell'eutrofia

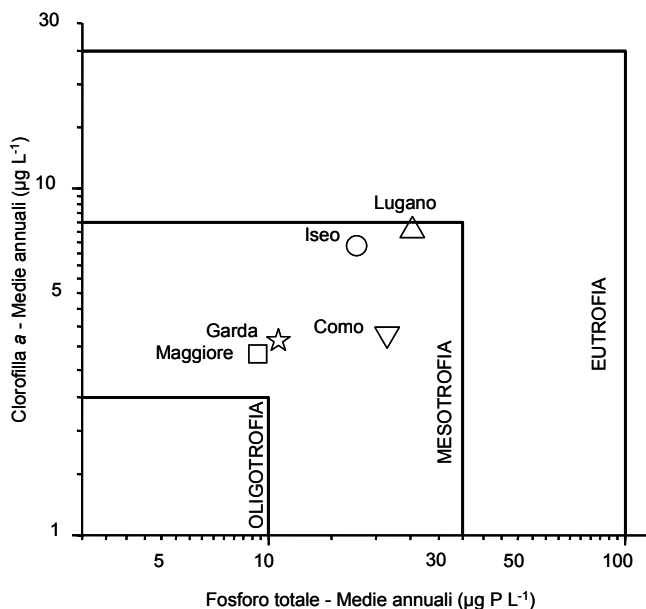


Figura 2. Classificazione trofica dei laghi profondi

Fioriture di cianobatteri nei corpi d'acqua dolce: inquadramento generale

Negli ambienti di acqua dolce le fioriture sono dovute quasi esclusivamente allo sviluppo di cianobatteri. Occasionalmente, però, si possono creare condizioni adatte anche per lo sviluppo massivo e visibile di alghe eucariote, costituite, tra l'altro, da dinoflagellati, *Dinobryon* spp., *Euglena* spp. e *Uroglena* spp. (quest'ultima rilevata in forma visibile, con *U. americana*, nel lago di Como (Buzzi, 2000).

Prima di procedere alla descrizione dei casi osservati nei laghi profondi sudalpini è necessario fornire una definizione del termine "fioritura" o, perlomeno, il significato col quale questo termine sarà utilizzato in questo lavoro. Ciò diviene opportuno se si considera che in letteratura questo termine viene impiegato per descrivere un'ampia gamma di fenomeni che vanno dalla formazione di veri e propri ammassi superficiali, fino allo sviluppo (non visibile però a occhio nudo) di elevate densità di cianobatteri (o anche di altri organismi).

Secondo Reynolds & Walsby (1975) il termine fioritura (*water-bloom*) indica un accumulo di cianobatteri alla superficie dei corpi d'acqua dolce (laghi e serbatoi). In questo lavoro si è ritenuto opportuno distinguere due tipi di accumulo superficiale, dovuti a due diversi gruppi di cianobatteri, caratterizzati da capacità e modalità differenti di migrazione verticale lungo la colonna d'acqua (Mur *et al.*, 1999). Al primo gruppo appartengono generi in grado di formare colonie macroscopiche quali *Anabena*, *Microcystis* e *Aphanizomenon*. In condizioni opportune, le specie appartenenti a questi generi possono raggiungere elevate velocità di migrazione verticale, dando luogo alla formazione di ammassi (schiume, strie, marezzi) più o meno

strettamente localizzati alla superficie dei corpi d'acqua. Al secondo gruppo appartengono varie specie filamentose in grado di svilupparsi con elevate densità, senza formare però aggregati macroscopici (es. *P. rubescens* e *Limnothrix* spp.). In questo caso, considerate le minori dimensioni delle colonie, le velocità di migrazione verticale risultano ridotte, ciò che favorisce la formazione di fioriture maggiormente disperse nella colonna d'acqua (è il caso dei fenomeni delle acque rosse, dovuti allo sviluppo di *P. rubescens*). Sulla base delle definizioni che sono state fornite, le fioriture si configurano pertanto come dei fenomeni visibili ad occhio nudo, indipendentemente dalla quantità di cellule che le hanno originate (Salmaso, 2000). Per converso, fenomeni caratterizzati da elevati sviluppi di fitoplancton, senza manifestazioni visibili, non saranno classificati, in questo contesto, tra i casi di fioriture algali.

Fioriture di cianobatteri nei laghi profondi sudalpini

La Tabella 1 riporta l'elenco dei cianobatteri che hanno dato luogo a fioriture algali nei laghi profondi sudalpini nel corso dell'ultimo decennio. I cianobatteri in questione sono rappresentati da tre specie in grado di formare schiume e mazzetti (due appartenenti alle Nostocales, *Anabaena lemmermannii* e *Aphanizomenon flos-aquae*, e una alle Chroococcales, *Microcystis aeruginosa*) e da una specie responsabile della formazione di acque colorate (*P. rubescens*, appartenente alle Oscillatoriales).

Tabella 1. Fioriture di cianobatteri rilevate nel corso dell'ultimo decennio nei laghi profondi sudalpini

	<i>Anabaena lemmermannii</i>	<i>Planktothrix rubescens</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>
Garda	*	-	(*)	-
Iseo	*	*	-	-
Como	-	-	*	-
Lugano	-	-	-	*
Maggiore	-	-	-	-

Il caso tra parentesi si riferisce in particolare a una fioritura di *Microcystis* (associata ad *Anabaena*; Salmaso *et al.*, 1994) rilevata nel bacino orientale del Garda nel 1990.

Dall'analisi della Tabella emergono alcune considerazioni immediate. In primo luogo ogni specie ha formato fioriture in uno o al massimo due laghi. Le fioriture nei singoli laghi sono state inoltre determinate da una o, al massimo, due specie. A differenza di tutti gli altri, il Lago Maggiore è stato l'unico bacino nel quale non sono stati documentati episodi di fioriture algali.

Di seguito sarà fornita una breve descrizione dei casi osservati. È da sottolineare comunque che, per quanto riguarda l'identificazione dei fenomeni, quelli riportati si riferiscono a quelli effettivamente ed esclusivamente documentati da personale afferente ai vari laboratori di ricerca attivi nei diversi laghi, costituendo pertanto solo un campione rappresentativo – e probabilmente molto sottostimato – dei casi effettivamente avvenuti.

Lago di Garda

Le prime fioriture di cianobatteri nel Lago di Garda furono documentate circa una quindicina di anni fa nel bacino orientale. In quell'occasione venne osservata un'estesa fioritura di *A.*

lemmermannii associata a *Microcystis aeruginosa* (Salmaso *et al.*, 1994). Ulteriori casi di fioriture furono identificati anche negli anni successivi, come illustrato nella Tabella 2, anche se a carico quasi esclusivamente di *A. lemmermannii*. Nell'ottobre 1990 (e, in parte, settembre 2001), le fioriture erano associate a una significativa presenza di *Microcystis aeruginosa*.

Tabella 2. Fioriture di *A. lemmermannii* rilevate nel Lago di Garda (bacino orientale e/o occidentale)

	Giugno	Luglio	Agosto	Settembre	Ottobre	Novembre
1990	–				X	–
1991	–	X	–	–	–	–
1992	–	X	–	X	–	–
1993	–	X	–	–	–	–
1994	X	–	–	–	–	–
1995	–	(X)	–	–	–	–
1996	–	X	–	–	–	–
1997	–	–	X	–	–	–
1998	–	–	–	–	–	–
1999	–	(X)	–	(X)	–	–
2000	–	X	X	(X)	–	–
2001	–	–	–	(X)	–	(X)
2002	X	X	X	–	(X)	–
2003	X	–	(X)	–	–	–

I casi riportati fra parentesi si riferiscono a deboli addensamenti superficiali individuati, probabilmente, durante le fasi iniziali o finali delle fioriture.

A parte alcuni casi sporadici rilevati fra ottobre e novembre, la gran parte degli episodi è stata individuata nei mesi estivi (fra giugno e settembre). La Tabella 2 deve essere comunque considerata largamente incompleta, in quanto basata su osservazioni effettuate nell'ambito delle ricerche limnologiche e di sorveglianza algale svolte mensilmente dal Dipartimento di Biologia dell'Università di Padova e dall'ARPAV, e su occasionali segnalazioni da parte di operatori sia dell'ARPAV sia di altre amministrazioni. D'altra parte, le osservazioni riportate costituiscono un campione rappresentativo in grado di fornire indicazioni sui periodi nei quali è più probabile la comparsa delle fioriture di *Anabaena*.

Le fioriture si sono manifestate sotto forma di sottili strati e strie giallo-verdi galleggianti sulla superficie dell'acqua (in uno strato all'incirca di 2 cm). Tali episodi, essendo il risultato di un rapido accumulo e localizzazione superficiale di popolazioni preesistenti nella colonna d'acqua, possono dare una falsa impressione di abbondanza algale (Reynolds & Walsby, 1975). Ciò è confermato dai conteggi condotti sui campioni raccolti negli strati integrati tra 0-2 m, 9-10 m e 19-21 m (con densità rispettivamente di 948, 15 e 3 cells mL⁻¹) nel primo pomeriggio del 23 luglio 1996, nel corso degli ultimi stadi di una fioritura di *Anabaena*. In prima approssimazione, considerando un accumulo completo (e orizzontalmente omogeneo) di tutte le colonie rilevate nei primi due metri in un sottile strato di 1 e 2 cm, si arriverebbe ad una concentrazione ipotetica di 190.000 e 95.000 cell mL⁻¹, rispettivamente. Tali stime possono essere considerate come una indicazione della potenziale concentrazione delle cellule di *Anabaena* all'interno delle chiazze osservate (Salmaso, 2000). Il calcolo implicitamente assume l'esistenza di un'adeguata velocità di migrazione verticale delle colonie, stimata, da Walsby *et al.* (1991), tra 0,65-0,87 m h⁻¹.

All'inizio della loro comparsa le fioriture apparivano strettamente localizzate nel bacino orientale (Salmaso *et al.*, 1994; Salmaso, 2000). A partire dalla fine degli anni '90, invece, estesi accumuli superficiali di *Anabaena* sono stati documentati in tutte le zone del lago, comprese quelle più a nord. L'ampliamento della zona interessata dalle fioriture potrebbe essere

dovuta a un'ulteriore affermazione di *Anabaena* nel lago, a seguito dell'aumentata potenzialità trofica dello stesso (Salmaso *et al.*, 2001; 2003; Salmaso, 2005), come pure allo sviluppo di particolari condizioni meteo-climatiche. È da sottolineare infatti che la formazione delle fioriture richiede una colonna d'acqua stabile e assenza di vento: in caso contrario, una forte turbolenza tenderebbe a distribuire omogeneamente le colonie lungo la verticale. La forma allungata del bacino occidentale favorisce l'azione di forti venti, i quali risultano invece generalmente assenti nel bacino orientale, più piccolo e riparato. Queste differenze potrebbero spiegare, in parte, la maggiore frequenza con cui si sono manifestate le fioriture nel bacino est. L'azione del vento come fattore di prevenzione delle fioriture si è manifestata chiaramente, per es., nel luglio 1991 nel bacino occidentale quando, a fronte di un numero sufficiente di cellule nel primo metro (oltre $1.300 \text{ cell mL}^{-1}$), le acque superficiali non presentavano segni visibili di accumuli superficiali, a differenza di quanto osservato nel bacino orientale (Salmaso *et al.*, 1994). L'azione di questo fattore nel controllo delle fioriture sarà discusso in dettaglio in una delle prossime sezioni.

Come abbiamo avuto già modo di osservare, gli episodi rilevati sono stati determinati, più che da un abnorme sviluppo in situ, da processi di migrazione verticale di gran parte delle colonie presenti negli strati sub-superficiali. D'altra parte, come vedremo più in dettaglio, le concentrazioni di *Anabaena* nello strato tra 0-20 m nel periodo tra il 1995 e il 2003 non hanno mai superato le 250 cell mL^{-1} . Per questa ragione, e in considerazione anche delle mai eccessive concentrazioni di sostanza organica misurate nelle acque superficiali e dell'irregolarità nella distribuzione delle chiazze (spesso limitate a poche decine o centinaia di metri), gli episodi rilevati nella zona pelagica del Garda sono stati classificati come fioriture oligotrofe (Salmaso, 2000). Ben diversa è invece la situazione che si può venire a creare lungo i litorali o i porti riparati, dove le strie e schiume di *Anabaena* possono essere ammassate in forte quantità dalle leggere brezze ($<1-2 \text{ m s}^{-1}$), causando la completa copertura delle zone interessate da un irregolare ma discreto (fino circa a 1 cm) strato di sostanza organica di colore giallo-verde. Episodi di questo tipo – per il momento non molto frequenti – sono stati per esempio documentati nel porto di Bardolino verso la fine di agosto del 2002.

Lago d'Iseo

Nel corso degli anni '90 nel Lago d'Iseo sono state individuate sporadiche ma importanti fioriture di *A. lemmermannii* e *P. rubescens* (Garibaldi *et al.*, 1997) (Tabella 1).

Estese fioriture di *Anabaena* furono in particolare osservate lungo i litorali nel corso delle estati del 1997 e 1998. In tali occasioni vennero vietati il consumo del pescato e l'utilizzo dell'acqua per scopi irrigui e per la balneazione (Garibaldi *et al.*, 2000). Le fioriture dell'Iseo hanno presentato modalità di sviluppo paragonabili a quelle osservate nel Garda, con la formazione di chiazze e marezzi derivati dall'accumulo di popolazioni precedentemente diradate nella colonna d'acqua, fornendo quindi, anche in questo caso, una falsa impressione di effettiva abbondanza algale negli strati trofogenici. A riprova di ciò basti pensare che tra il 1998 e il 2000, sulla base di prelievi mensili, le cellule di *Anabaena* nello strato tra 0-10 m non hanno mai superato le 200 cell mL^{-1} , raggiungendo, nel corso del 2001, concentrazioni di poco superiori a 400 cell mL^{-1} (Garibaldi *et al.*, 1997).

Nell'Iseo un'intensa fioritura di *P. rubescens* fu osservata nelle prime due settimane di gennaio 1999 in un'ampia fascia litorale nei pressi di Lóvere (BG) e in prossimità dello sbocco dell'Oglio a lago. In quel periodo le acque assunsero una tipica colorazione rossa, somigliante, secondo alcune testimonianze dei locali, a un inquinamento del litorale dovuto a sversamento di alcool denaturato. Nel corso dell'estate dello stesso anno fu osservato un ulteriore e ingente

sviluppo di *Planktothrix* sulle sponde bergamasche e bresciane, con valori di densità (dell'ordine di milioni di cell mL⁻¹) tali da indurre le USL a vietare le attività di balneazione (Garibaldi *et al.*, 2000). Nei campioni pelagici raccolti tra 0-10 m e con frequenza mensile tra il 1998 e il 2000 *P. rubescens* fu rinvenuta con densità massime attorno a 25.000 cell mL⁻¹ (Garibaldi *et al.*, 2003).

Lago di Como

Nel lago di Como le più recenti fioriture di cianobatteri (dovute a *Microcystis aeruginosa*) sono state osservate e studiate solo nel corso del 2000 e 2003 (Tabella 1). Prima di questi casi recenti altri episodi certi (causati sempre da *M. aeruginosa*) furono riportati e documentati solo nella prima metà degli anni '80 nel ramo occidentale del lago (Mosello *et al.*, 1991).

Le fioriture, dovute a *Microcystis aeruginosa*, sono state individuate nella seconda metà di agosto del 2000 e tra agosto e settembre del 2003. Gli episodi si sono manifestati sotto forma di addensamenti superficiali o sub-superficiali (0-1 m) di numerose colonie a forma di fiocchi presentanti dimensioni massime attorno al centimetro. L'addensamento delle colonie è risultato particolarmente visibile soprattutto nell'estremità meridionale del ramo di Como e all'estremo nord del lago, probabilmente a causa dell'ammassamento degli organismi a opera di leggere questa specie diminuiva rapidamente, fino a raggiungere densità inferiori a 1.500 cell mL⁻¹ in prossimità del litorale di Torno.

Fioriture di simile intensità brezze di vento. In particolare, nello strato d'acqua superficiale della baia di Como *Microcystis* fu rilevata con valori molto elevati (330.000 cell mL⁻¹). Subito più a nord, invece, la presenza di hanno caratterizzato anche i casi osservati nel corso dell'estate del 2003. Estesi ammassamenti di questa specie sono stati documentati, tra l'altro, nell'intero ramo occidentale (Como) e nella parte alta del lago. Le analisi svolte su campioni raccolti negli strati superficiali hanno evidenziato concentrazioni di *Microcystis* attorno a 110.000 cell mL⁻¹ (Como), 71.000 cell mL⁻¹ (Argegno) e 100.000 cell mL⁻¹ (zona "laghetto di Piona"). In particolare, in un campione raccolto in prossimità della riva del laghetto di Piona, sono state rilevate quantità apprezzabili di microcistina, con concentrazioni attorno a 1,3 µg L⁻¹ (Buzzi, 2002).

Lago di Lugano

Nel Lago di Lugano l'unica manifestazione visibile di sviluppo algale superficiale nel corso dell'ultimo decennio è stata rilevata nel gennaio 1999 nel bacino nord, al largo di Gandria (Simona, 2003). In quell'occasione le acque del lago avevano assunto una colorazione azzurra, dovuta alla presenza di numerose colonie di *Aphanizomenon flos-aquae* in degradazione. Prima di questo episodio isolato altri casi di fioriture, a carico però di *P. rubescens*, erano stati segnalati solo nella prima metà degli anni '80. Comunque, a differenza dell'*Anabaena* rilevata nell'Iseo e nel Garda, le colonie di *Aphanizomenon* nel Lago di Lugano (stazione di Gandria) hanno presentato un forte sviluppo nell'intero strato trofogenico (0-20 m), con concentrazioni massime, tra il 1999 e il 2002, comprese tra 1.400 e 6.500 cell mL⁻¹, raggiungendo, nelle stazioni del bacino sud, picchi fino a 33.700 cell mL⁻¹ (LSA, 2000-2002; UPDA, 2003). I dati attualmente a disposizione sembrano suggerire come *Aphanizomenon* possa costituire un potenziale rischio non tanto per la formazione di fioriture (finora scarse), ma piuttosto per la sua consistente presenza negli strati produttivi.

Lago Maggiore

Tra i laghi insubrici presi in considerazione il Maggiore è l'unico nel quale non sono state rilevate fioriture nel corso dell'ultimo decennio. Gli unici addensamenti superficiali di colore rosso furono rilevati nella zona svizzera attorno agli anni '60 in coincidenza con il peggioramento delle condizioni trofiche del lago (Ravera & Vollenveider, 1968).

Fattori regolanti lo sviluppo dei cianobatteri nei laghi profondi subalpini

Distribuzione dei cianobatteri in relazione al gradiente trofico

Le osservazioni raccolte nell'arco di poco più di un decennio indicano chiaramente che le fioriture di cianobatteri nei laghi profondi sudalpini sono in grado di svilupparsi entro un discreto intervallo di condizioni trofiche che vanno dall'oligo-mesotrofia del Garda fino al limite inferiore dell'eutrofia del Lugano e dell'Iseo.

Ciò ci pone di fronte a un serio problema di interpretazione in quanto la distribuzione dei fenomeni osservati sembra suggerire una certa indipendenza dei casi osservati dal livello trofico. In aggiunta a ciò si consideri anche l'elevata esclusività che presentano determinate specie nello sviluppare fioriture solo in uno o due laghi.

Di seguito cercheremo di approfondire alcuni aspetti del problema valutando la distribuzione dell'intero complesso dei cianobatteri (e delle altre specie dominanti) nei cinque laghi presi in considerazione in questo studio.

La Tabella 3, tratta da Salmaso et al. (2003), riporta un elenco delle specie dominanti dei laghi profondi sudalpini ordinate lungo un gradiente trofico, dall'oligotrofia all'eutrofia.

Tabella 3. Ordinamento dei taxa fitoplanctonici dominanti nei laghi profondi sudalpini lungo un gradiente trofico, dall'eutrofia all'oligotrofia (modificato, da Salmaso et al., 2003).

Specie	Presenza		
	Lago di Como	Garda e Iseo (E)	Maggiore e Lugano (O)
Eutrofiche			
<i>Scenedesmus</i> spp.	p	p	p
<i>Tribonema</i> sp.	p	p	p
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	p	p	p
<i>Oocystis</i> spp.	p	p	p
<i>Pandorina morum</i> - <i>P. minodi</i>	p	p	p
<i>Melosira varians</i>	a	a	p
<i>Snowella</i> spp.	p	a	p
Meso-eutrofiche			
<i>Coelastrum</i> spp.	p	p	p
<i>Staurastrum</i> spp.	p	p	p
<i>Carteria</i> spp.	p	p	p
<i>Closterium aciculare</i>	a	a	p
<i>Leptolyngbyoideae</i> ⁽¹⁾	p	a	p
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	p	p	a

segue

continua

<i>Cryptomonas</i> spp.	p	p	p
<i>Monoraphidium</i> spp.	p	p	p
<i>Sphaerocystis schroeteri</i>	p	p	p
<i>Aulacoseira islandica</i>	p	p	p
<i>Mougeotia</i> sp.	a	a	p
Ochromonadaceae	p	a	p
<i>Mallomonas</i> spp.	p	p	p
Meso-oligotrofiche	p	p	p
<i>P. rubescens</i>	p	p	p
<i>Rhodomonas minuta</i> ⁽²⁾	p	p	p
<i>Fragilaria crotonensis</i>	p	p	p
<i>Gymnodinium helveticum</i>	p	p	p
<i>Stephanodiscus</i> spp.	p	p	p
<i>Ceratium hirundinella</i>	p	p	p
<i>Asterionella formosa</i>	p	p	p
<i>Diatoma tenuis</i>	p	p	p
<i>Aulacoseira granulata-A. ambigua</i>	a	a	p
<i>Cyclotella</i> spp. (small centric diatoms)	p	p	p
<i>Aphanocapsa/Aphanothece</i>	p	p	p
<i>Tabellaria fenestrata-T. flocculosa</i>	a	p	a
<i>Gymnodinium</i> sp.	p	p	p
<i>Gomphosphaeria lacustris</i>	p	p	p
<i>Dinobryon sociale</i>	p	p	p
Oligotrofiche	p	p	p
<i>Oscillatoria limnetica</i>	p	p	p
<i>Chrysochromulina parva</i>	p	p	p
Limnotrichoideae	p	p	p
<i>Uroglena</i> spp.	a	p	a

⁽¹⁾ Sensu Anagnostidis & Komarek, 1988; perlopiù *Planktolyngbya limnetica*; ⁽²⁾ Comprende *R. minuta* v. *nannoplanctica* (*Plagioselmis nannoplanctica*); p = presenza, a = abbondanza.

La Tabella è stata ottenuta mediante l'applicazione di un'analisi delle corrispondenze applicata ai dati raccolti mensilmente tra il 1997-1999 nel Lago Maggiore, tra il 1998-2000 nei laghi di Garda, Iseo e Lugano, e tra settembre 1997 e agosto 1999 nel lago di Como. Nella tabella sono state considerate solo le specie dominanti, caratterizzate da picchi di biovolume negli strati trofogenici superiori, almeno in un'occasione, a $100 \text{ mm}^3 \text{ m}^{-3}$. Relativamente alle variabili trofiche il gradiente è positivamente correlato (dall'oligo-alla eutrofia) alle concentrazioni medie annuali di clorofilla *a* e biovolume algale, e alle concentrazioni medie annuali epilimnetiche di fosforo totale. Il gradiente, inoltre, presenta una correlazione positiva con la conducibilità, l'alcalinità e, in parte, pH, e negativa con la silice reattiva. Le caratteristiche più evidenti che emergono dall'analisi della tabella riguardano l'elevato carattere eutrofico delle cloroficee (*Chlorococcales*, *Pandorina* e *Carteria*) e l'elevata dispersione dei cianobatteri lungo lo spettro trofico. Per quanto riguarda quest'ultimo gruppo, le colonie di *Snowella*, le *Leptolyngbyoideae* (perlopiù *Planktolyngbya limnetica*) e *Aphanizomenon flos-aquae* sono tutti collocati nella parte eutrofica del gradiente, mentre i filamenti del complesso *Planktothrix rubescens/agardhii* si confermano come tipici costituenti del fitoplancton di acque mesotrofiche (Sommer, 1986). All'estremo opposto del gradiente trofico trovano invece collocazione le colonie di *Aphanothece/Aphanocapsa* e *Gomphosphaeria*, insieme ai filamenti di *Oscillatoria limnetica* e alle Limnotrichoideae (*Limnothrix* sp.). Ulteriori informazioni sulle caratteristiche delle specie considerate (distribuzione stagionale e geografica) sono riportate nel lavoro citato, dal quale è stata tratta la Tabella 3. Nell'elenco non sono state considerate le colonie di *Microcystis aeruginosa* e *A. lemmermannii*, sempre rilevate, nel periodo considerato, e negli strati trofogenici, con picchi di biovolume inferiori a $100 \text{ mm}^3 \text{ m}^{-3}$. Per quanto riguarda *Microcystis* sappiamo comunque, per quanto

riportato nelle sezioni precedenti, che questa specie nel lago di Como si è sviluppata con densità e biovolumi elevati negli anni successivi (2000 e 2003). Considerando inoltre che *Microcystis* è stata responsabile di intense fioriture anche nel corso degli anni '80, immediatamente dopo il massimo livello trofico raggiunto dal Como (Mosello *et al.*, 2000), questa specie può adeguatamente essere classificata tra i cianobatteri meso-eutrofici. *A. lemmermannii*, invece, può essere considerata tipica di ambienti meno produttivi (mesotrofici) (Salmaso, 2000). A conferma di ciò, Reynolds *et al.* (2002) hanno separato, nell'ambito delle Nostocales, le specie più tipicamente eutrofiche (*Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae*, *A. circinalis* e *A. spiroides*) da quelle tipiche di laghi più estesi e meno eutrofizzati (*A. lemmermannii*). Sulla base della classificazione trofica delle specie descritte poc' anzi gli organismi responsabili delle fioriture algali nei laghi profondi sudalpini si collocano, lungo il gradiente trofico, in una posizione compresa tra la mesotrofia e l'eutrofia.

Condizioni ambientali che controllano lo sviluppo stagionale dei cianobatteri nei laghi profondi sudalpini

L'analisi in dettaglio sulle condizioni che favoriscono la crescita dei cianobatteri va oltre lo scopo di questo contributo, in considerazione anche delle diverse strategie di sviluppo adottate dai differenti generi, per cui, in questo gruppo, possiamo ritrovare specie tipicamente estive, così come specie presenti in gran parte dell'anno (Salmaso, 2000; Salmaso *et al.*, 2003). Una dettagliata analisi sulle relazioni tra condizioni ambientali e sviluppo dei cianobatteri è stata recentemente svolta da Hyenstrand *et al.* (1998), cui si rimanda. In questa sezione considereremo due soli esempi, limitando la nostra attenzione ai fattori che favoriscono lo sviluppo stagionale delle colonie di *Anabaena* e *Planktothrix* nel Lago di Garda. L'ecologia delle altre specie di cianobatteri dominanti nei laghi profondi sudalpini è stata considerata nei lavori di Buzzi (2002), Morabito *et al.* (2002), Salmaso (2002), Garibaldi *et al.* (2003), Salmaso *et al.* (2003) e Simona (2003).

La Figura 3a riporta l'evoluzione temporale delle densità di *A. lemmermannii* rilevate nello strato tra 0-20 m dal 1995 al 2003; la distribuzione delle frequenze delle densità di questo cianobatterio lungo l'asse temporale annuale è invece riportata nella Figura 3b.

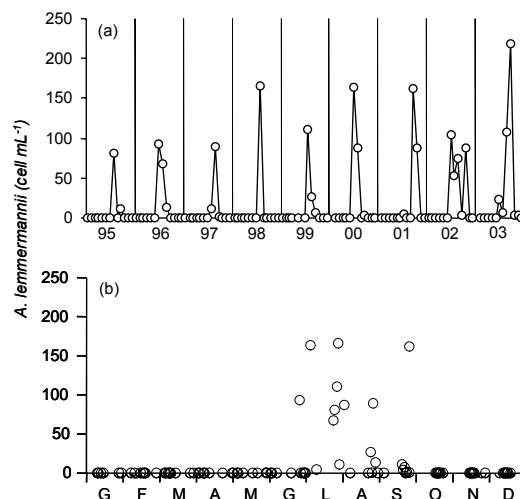


Figura 3. (a) Evoluzione temporale delle densità di *A. lemmermannii* nel Lago di Garda tra gennaio 1995 e dicembre 2003. (b) Distribuzione mensile delle densità di *Anabaena* tra il 1995 e il 2003; l'interpolazione dei dati è stata effettuata con la tecnica DWLS (Systat, 2002). I dati si riferiscono a conteggi effettuati su campioni raccolti nello strato 0-20 m del bacino occidentale (stazione di Brenzone)

Nel periodo considerato *Anabaena* è sempre stata rilevata con densità piuttosto basse nello strato trofogenico, in genere mai superiori a 200 cell mL^{-1} . Il limitato sviluppo di *Anabaena* è confermato anche dalle modeste densità massime con cui è stata riscontrata nei primi due metri di profondità (sempre inferiori a 650 cell mL^{-1}). *A. lemmermannii* presenta una spiccata stagionalità, comparso, a parte alcuni sporadici casi rilevati in pieno autunno, nel periodo compreso tra la fine di giugno e la fine di settembre.

La corrispondente evoluzione temporale di *Planktothrix* tra il 1995 e il 2003 e la distribuzione delle frequenze delle densità sono riportate nella Figura 4.

Come nel caso precedente anche le colonie di *Planktothrix* non hanno mai raggiunto, nel Garda, densità elevate. Se si escludono un paio di singole occasioni (nel 1999 e 2003) le densità di questa specie nello strato trofogenico hanno sempre presentato valori inferiori a $5.000 \text{ cell mL}^{-1}$ (Figura 4a), mentre negli strati integrati tra 0-2 m, 9-11 m e 19-21 m le densità hanno raggiunto rispettivamente valori di $6.310 \text{ cell mL}^{-1}$, $9.844 \text{ cell mL}^{-1}$ e $10.138 \text{ cell mL}^{-1}$. Questa specie presenta il suo massimo sviluppo nel periodo che va da fine maggio fino a dicembre anche se, nel periodo considerato, e a differenza di *Anabaena*, densità significative (fino a $1.500 \text{ cell mL}^{-1}$) sono state riscontrate anche tra gennaio e aprile (Figura 4b). La diversa ampiezza nello sviluppo stagionale dei due cianobatteri considerati indica una maggiore capacità di crescita di *Planktothrix* in rapporto alla variabilità delle condizioni ambientali.

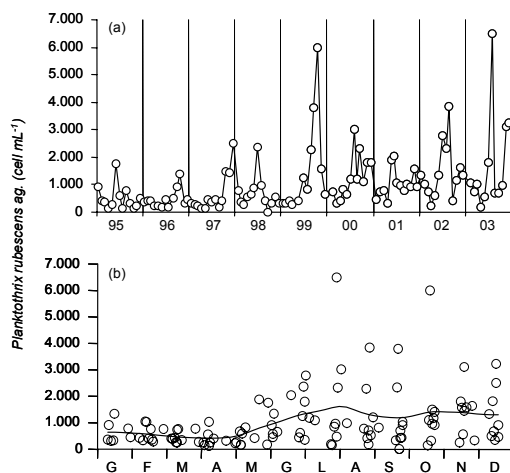


Figura 4. (a) Evoluzione temporale delle densità di *P. rubescens* nel Lago di Garda tra gennaio 1995 e dicembre 2003. (b) Distribuzione mensile delle densità di *Planktothrix* tra il 1995 e il 2003; l'interpolazione dei dati è stata effettuata con la tecnica DWLS (Systat, 2002). I dati si riferiscono a conteggi effettuati su campioni raccolti nello strato 0-20 m del bacino occidentale (stazione di Brenzone)

Al fine di stimare le condizioni favorevoli per lo sviluppo delle due specie, la Figura 5 riporta una stima delle condizioni ottimali di crescita e le corrispondenti tolleranze calcolate seguendo i criteri descritti in ter Braak & van Dam (1989) e Salmaso (2003). I metodi utilizzati per la misura delle variabili ambientali considerate sono riportati in Salmaso (2003). *Anabaena* è in grado di svilupparsi in acque piuttosto calde (in media attorno a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$), presentando una limitatissima tolleranza alle basse temperature ($<17 \text{ }^{\circ}\text{C}$) (Figura 5a). Analogamente, *Anabaena* richiede, per il suo sviluppo ottimale, condizioni stabili della colonna d'acqua, esemplificate da valori di tolleranza delle differenze di densità tra 0 m e 20 m comprese tra ca. $0,5 \text{ g dm}^{-3}$ e $1,5 \text{ g dm}^{-3}$ (Figura 5b), cui corrispondono, grossomodo, differenze di temperatura nello strato considerato comprese tra ca. $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e oltre $8 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Per converso, le colonie di *Planktothrix* presentano valori ottimali di crescita inferiori

sia per la temperatura (associati in questo caso anche ad una maggiore tolleranza) sia per la stabilità della colonna d'acqua. Questa specie è in grado di svilupparsi con elevate densità anche in condizioni di completa turbolenza dello strato trofogenico (Figura 5b). Le due specie considerate presentano uno sviluppo ottimale di crescita per valori di radiazione solare compresi tra 10-15 MJ m⁻² d⁻¹ (Figura 5c). Le ampie tolleranze riscontrate nei valori di insolazione sono dovute alla variabilità della copertura nuvolosa, presente persistentemente anche in alcuni periodi estivi. *Anabaena* mostra uno sviluppo ottimale in corrispondenza di elevati valori di pH (in media attorno a 8,5, con tolleranze comprese tra 8,4 e 8,6) (Figura 5d). Relativamente a questa variabile, *Planktothrix* presenta invece valori ottimali di crescita leggermente più bassi e associati a una maggiore tolleranza. *Anabaena*, inoltre, è in grado di svilupparsi con concentrazioni di azoto piuttosto basse (Figura 5e), con valori ottimali attorno a 150 µg N L⁻¹ (le relazioni tra le concentrazioni di azoto epilimnetiche e lo sviluppo di Nostocales nei laghi profondi sudalpini sono state discusse da Salmaso, 2000). Per converso, lo sviluppo ottimale di *Planktothrix* è stato riscontrato in campioni caratterizzati mediamente da maggiori concentrazioni di N-NO₃. Infine, entrambe le specie hanno mostrato una discreta capacità di sviluppo anche in presenza di concentrazioni di fosforo totale inferiori a 10 µg P L⁻¹ (Figura 5f).

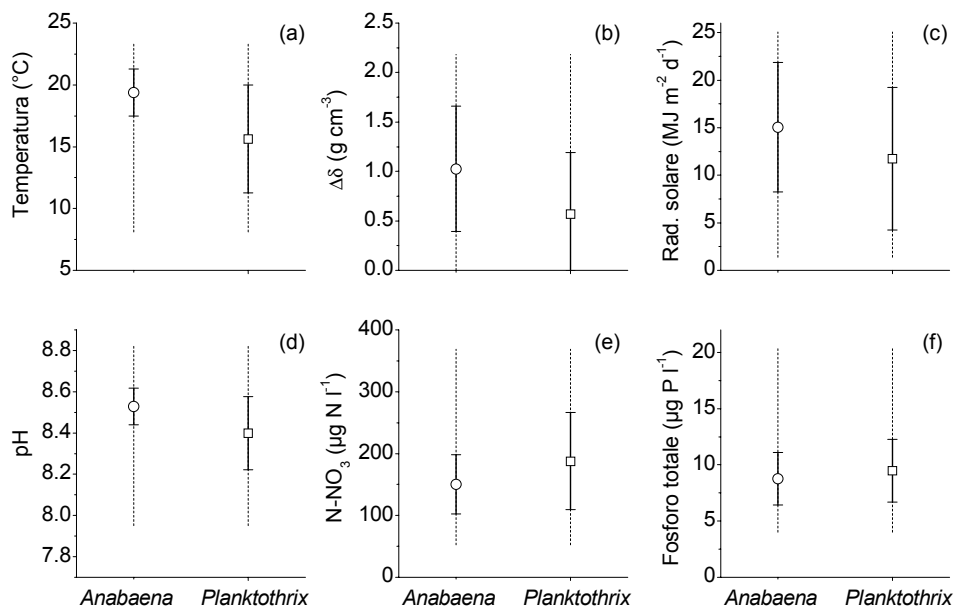


Figura 5. Condizioni apparenti ottimali di crescita (simboli vuoti) e tolleranze (linee spesse) di *A. lemmermannii* e *P. rubescens* calcolate sulla base di rilevazioni mensili tra il 1995 e il 2003; per ogni singola variabile ambientale le linee tratteggiate riportano l'intervallo di variazione. (a) Medie di temperatura nello strato 0-20 m; (b) differenze di densità tra 0-20 m; (c) radiazione solare totale media nei tre giorni precedenti il prelievo; (d) valori medi di pH tra 0-20 m; (e) concentrazioni medie tra 0-20 m di N-NO₃ e (f) fosforo totale

Le informazioni disponibili sull'evoluzione temporale e sui valori ottimali di crescita di *A. lemmermannii* e *P. rubescens/agardhii* sono state schematizzate nelle Figura 6a e 6b, le quali riportano la distribuzione delle densità delle due specie sul piano definito dai primi due assi ottenuti con l'applicazione di un'analisi delle componenti principali (con rotazione varimax). Le variabili utilizzate sono quelle considerate nella Figura 5, con l'aggiunta della zona eufotica (Zeu). I singoli punti nella Figura 6 indicano la posizione dei rispettivi campioni. I primi due assi spiegano rispettivamente il 48% e il 31% della varianza totale. Il primo asse mostra una correlazione positiva con la temperatura, il pH, la stabilità della colonna d'acqua e la radiazione

solare, e negativa con i nitrati e la zona eufotica. Il secondo asse è positivamente correlato con i nutrienti algali e la zona eufotica, e negativamente correlato con la temperatura e, in misura minore, con il pH. L'evoluzione temporale dei singoli campioni segue un ciclo annuale. Ciò diviene particolarmente evidente considerando l'evoluzione dei centroidi dei singoli mesi, individuati considerando le medie mensili delle coordinate lungo gli assi X e Y. Dalla sovrapposizione, sul piano dei primi due assi, dei valori di densità rilevati nei singoli campioni, appare subito evidente come *Anabaena* sia in grado di svilupparsi in un ambito estremamente limitato di condizioni ambientali, caratterizzate da elevati valori di temperatura, pH, stabilità della colonna d'acqua e radiazione solare, ed elevata tolleranza verso basse concentrazioni di nutrienti ed estensione della zona eufotica (Figura 6a). Per converso, l'analisi conferma la maggiore adattabilità di *Planktothrix* a condizioni ambientali maggiormente diversificate (Figura 6b).

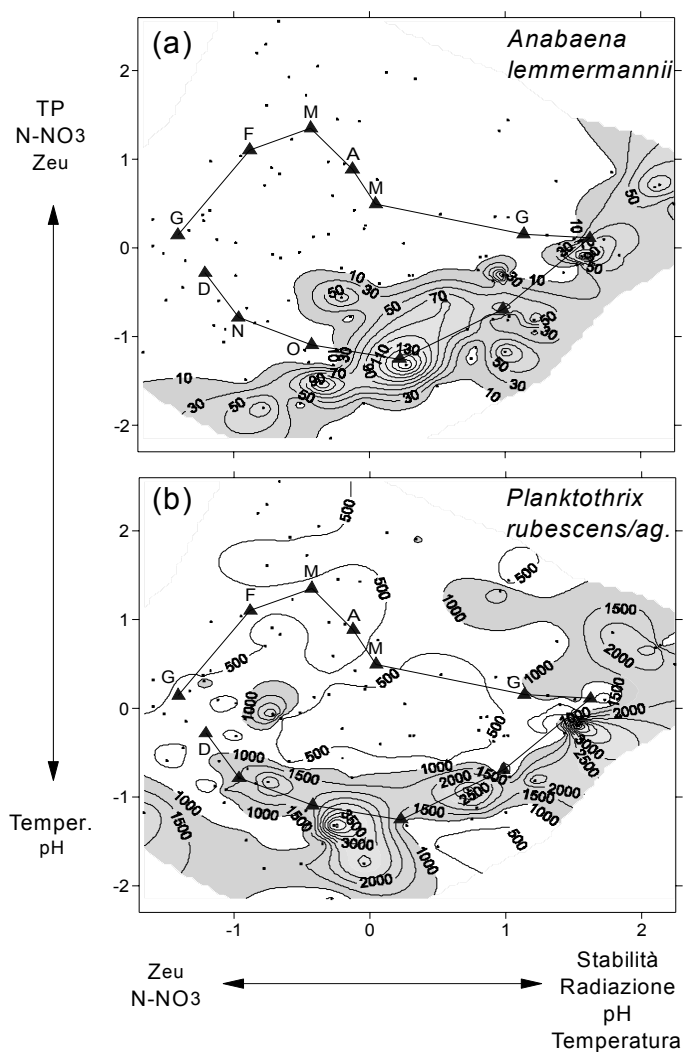


Figura 6. Distribuzione dei valori di densità (cell mL^{-1}) di (a) *A. lemmermannii* e (b) *P. rubescens ag.* sul piano definito dalle prime due componenti di un'analisi delle componenti principali (con rotazione varimax) calcolata sulla base delle variabili ambientali rilevate mensilmente tra il 1995 e il 2003. I punti si riferiscono ai singoli campioni. I triangoli pieni rappresentano i centroidi dei singoli mesi; per evitare sovrapposizioni sono state riportate le iniziali solo di alcuni mesi. Le frecce indicano le principali correlazioni-positive e negative-delle variabili ambientali considerate con il primo e il secondo asse. La differenza di densità tra 0-20 m è riportata come "stabilità".

È importante sottolineare che sia la determinazione dei valori ottimali di crescita sia la posizione delle due specie nello spazio multivariato forniscono un'indicazione sull'ampiezza della nicchia realizzata, cioè sullo spettro di risorse effettivamente utilizzate da *Anabaena* e *Planktothrix* nel Lago di Garda. Le indicazioni fornite, le quali sono derivate da osservazioni sul campo, non coincidono infatti necessariamente con le condizioni ottimali fisiologiche di crescita; questi argomenti sono stati discussi criticamente in Salmaso (2003).

Condizioni che favoriscono l'innescò delle fioriture

Dettagliate ricerche condotte nella seconda metà del secolo scorso hanno permesso di definire le principali cause che determinano l'innescò delle fioriture, confermando che esse traggono origine da un accumulo di popolazioni (spesso caratterizzate da crescita zero) preesistenti nella colonna d'acqua verso i primi centimetri della superficie, confutando pertanto l'opinione diffusa che attribuiva la loro formazione a fenomeni di rapida e improvvisa crescita. Sulla base di queste considerazioni, Reynolds & Walsby (1975) conclusero che per la formazione di una fioritura di cianobatteri dovevano essere soddisfatte contemporaneamente almeno tre condizioni: i) la presenza di una sostanziale popolazione di cianobatteri nella colonna d'acqua, ii) la diminuzione delle densità intracellulari, con la formazione di colonie galleggianti, e iii) la diminuzione della turbolenza dell'acqua, altrimenti in grado di contrastare la tendenza al galleggiamento delle colonie. La prima di queste condizioni è stata analizzata, relativamente ad *A. lemmermannii* e *Planktothrix rubescens agardhii*, nella sezione precedente.

Relativamente al secondo punto, in passato sono stati effettuati numerosi studi riguardanti i meccanismi di regolazione delle densità intracellulari; a questo scopo, per approfondimenti, si possono consultare i numerosi lavori citati e criticamente descritti da Reynolds (1987) e Oliver & Ganf (2000). In questo lavoro ci limiteremo ad accennare brevemente al fatto che i cianobatteri sono in grado di controllare la loro posizione verticale in risposta alle condizioni ambientali sia attraverso la regolazione (velocità di formazione, diluizione o collassamento) del numero delle vescicole gassose, sia attraverso il controllo della zavorra cellulare, ovvero con la regolazione della quantità di carboidrati e proteine accumulati all'interno delle cellule. Questi fattori di controllo sono mediati dall'intensità della luce (PAR, *Photosynthetically Active Radiation*) e dalle concentrazioni di nutrienti. In particolare, osservazioni effettuate su molti cianobatteri provvisti di vescicole gassose hanno permesso di verificare l'esistenza di una relazione inversa tra galleggiabilità e intensità luminosa (Reynolds, 1987). Elevati valori di irradianza possono determinare, a seconda dei cianobatteri interessati e dello stato fisiologico delle cellule, un efficiente accumulo di carboidrati ad elevata densità o una significativa produzione di intermedi metabolici a basso peso molecolare, in grado di innalzare la pressione osmotica intracellulare, favorendo il collassamento delle vescicole gassose (Oliver & Ganf, 2000); l'aumento della densità intracellulare, in queste condizioni, può essere favorito anche dal blocco della produzione di vescicole gassose (Utkilen *et al.*, 1985). Per converso, quando le cellule sono esposte a basse intensità luminose, l'energia utilizzata è inferiore rispetto alle esigenze nutrizionali dell'organismo, determinando un'utilizzazione delle riserve di carboidrati e un conseguente aumento della galleggiabilità delle cellule. Questi meccanismi sono stati invocati per spiegare i cicli migratori rilevati in molte (ma non tutte!) fioriture del Garda, le quali presentavano il loro massimo sviluppo nelle prime ore del mattino, e una significativa riduzione nelle ore pomeridiane (Salmaso *et al.*, 1994). Continui accumuli superficiali possono manifestarsi, comunque, a seguito della persistente galleggiabilità delle colonie (*overbuoyancy*). È stato infatti dimostrato che in alcune condizioni caratterizzate da elevate irradianze le colonie di *A. lemmermannii* non sarebbero in grado di accumulare una sufficiente quantità di carboidrati necessari per contrastare l'eccessiva galleggiabilità prodotta dalle vescicole gassose (Walsby *et*

al., 1991). Le fioriture che si formano in queste condizioni sono frequenti nelle zone litorali riparate e sono in grado di persistere a lungo, potendo essere alimentati continuamente dalle popolazioni pelagiche (è il caso delle fioriture litorali di *Anabaena* rilevate nel 2002 nel bacino orientale del Lago di Garda).

Per quanto riguarda la terza condizione, molte osservazioni effettuate in passato hanno messo in evidenza come le fioriture si sviluppino in condizioni di sostanziale calma di vento e in periodi di alta pressione. Queste condizioni di “bel tempo” sono essenziali per consentire la migrazione verticale delle colonie, le quali, altrimenti, verrebbero facilmente diluite negli strati d’acqua rimescolati. Al fine di valutare l’effetto della turbolenza dell’acqua sulla formazione delle fioriture, di seguito saranno esaminati due casi limite, caratterizzati dalla presenza di popolazioni paragonabili di *Anabaena* negli strati trofogenici e da condizioni differenti di stratificazione e stabilità degli strati superficiali. I casi presi in esame si riferiscono a due campionamenti effettuati nell’estate del 2002 nel bacino occidentale, contraddistinti dalla presenza (30 luglio) o assenza (27 agosto) di fioriture visibili in atto. In entrambi i casi le densità di *Anabaena* nello strato tra 0-2 m erano di 158 cell mL⁻¹ e 221 cell mL⁻¹, rispettivamente. Al contrario, i profili termici rilevati nelle due occasioni presentavano marcate differenze. A luglio il lago presentava un’elevata stabilità nei primi metri della colonna d’acqua, associata a uno spiccato gradiente termico superficiale (con la formazione, cioè, di un metalimnio superficiale) (Figura 7).

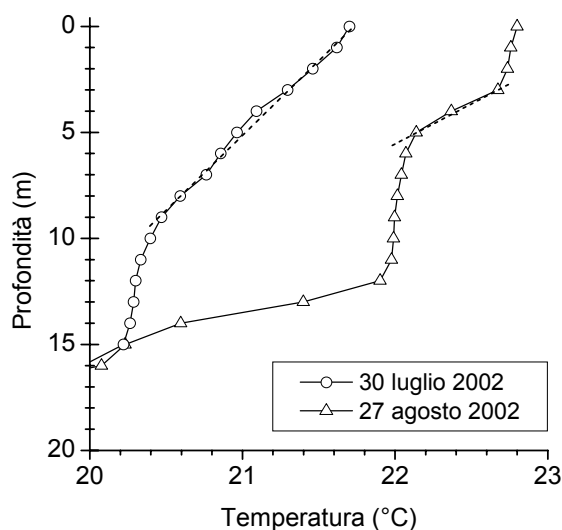


Figura 7. Profili di temperatura rilevati nel bacino occidentale nell’estate del 2002. Le linee rette tratteggiate indicano le zone di massimo gradiente termico e stabilità della colonna d’acqua

Il profilo di temperatura di agosto indicava invece la formazione di uno strato rimescolato superficiale, dello spessore di 3 m, e un metalimnio compreso tra circa 3-5 m di profondità. Le differenti condizioni di stabilità della colonna d’acqua nei due campionamenti estivi hanno avuto profonde conseguenze sulla distribuzione verticale delle colonie di *Anabaena* nello strato superficiale. A luglio, infatti, *Anabaena* è stata in grado di accumularsi massivamente nei primi centimetri della colonna d’acqua, formando ampie chiazze di fioriture, mentre in agosto le colonie si presentavano uniformemente distribuite negli strati sub-superficiali. Questo sottolinea come, nel caso specifico del Garda, le fioriture di *Anabaena* possano avere luogo solamente in

presenza di un metalimnio superficiale, e quindi in condizioni di calma di vento. Più in generale, è stato osservato come venti con velocità attorno a 3-4 m s⁻¹ possano creare uno strato rimescolato superficiale con spessori inferiori o attorno a 1 m, con caratteristiche tali, pertanto, da impedire la formazione di schiume (Reynolds, 1987). Velocità del vento di 3 m s⁻¹ costituiscono un valore limite oltre il quale si osservano increspature alla superficie dell'acqua e l'inizio della formazione di deboli onde (George & Edwards, 1976; Webster & Hutchinson, 1994).

Osservazioni conclusive

Le ricerche svolte nel corso dell'ultimo decennio hanno messo in evidenza la presenza di regolari o sporadiche fioriture algali in quasi tutti i laghi profondi sudalpini. Almeno nel periodo recente, l'unico bacino che non sembra essere stato interessato da fenomeni di sviluppi algali appariscenti è il Lago Maggiore. Anche nel lago di Lugano, data la bassa frequenza con cui sono state rilevate, le fioriture algali sembrano costituire più l'eccezione che la regola. È da sottolineare che in molti dei casi osservati le fioriture si sono sviluppate in maniera così appariscente da fornire un'impressione estremamente esagerata dell'effettiva importanza delle specie responsabili dei vari fenomeni nell'ambito della comunità fitoplanctonica. È il caso, in particolare, delle fioriture rilevate nel Garda e nell'Iseo a opera di *Anabaena*, specie altrimenti presente con densità estremamente basse negli strati trofogenici. D'altra parte è fuor di dubbio che tali fenomeni, specie se localizzati nei porti o lungo i litorali, possono costituire un motivo di seria preoccupazione a causa della forte concentrazione di cellule potenzialmente tossiche presenti nei primi centimetri dello strato d'acqua. Il rischio, comunque, tende a divenire più serio e generalizzato per quelle specie che, oltre a manifestarsi sotto forma di fioriture, sono presenti con elevate densità anche negli strati trofogenici. È il caso di *Planktothrix* e *Aphanizomenon*, presenti con elevate quantità (e occasionalmente con fioriture) rispettivamente nell'Iseo e nel Lugano.

Ricerche effettuate recentemente hanno messo in evidenza un'ampia presenza di cianobatteri in tutti i laghi profondi sudalpini, da quelli tendenzialmente oligotrofi, quale il Maggiore, a quelli meso-eutrofici (quali l'Iseo e il Lugano), ma con significative differenze sia nella distribuzione geografica sia nell'importanza relativa delle specie nell'ambito delle rispettive comunità. Fermando la nostra attenzione sulle specie responsabili delle fioriture, almeno due sono state rilevate esclusivamente e regolarmente solo in alcuni bacini. Si tratta di *A. lemmermannii* e *Aphanizomenon flos-aquae* (presenti rispettivamente nei laghi di Garda e Iseo, e nel Lago di Lugano). In questi casi il problema della irregolare distribuzione geografica delle fioriture coincide essenzialmente con i fattori che regolano la presenza di queste specie nei diversi laghi insubrici (Salmaso *et al.*, 2003). Per esempio, l'occasionale rinvenimento di *Aphanizomenon* (specie eutrofica) nel Lago Maggiore (bacino oligo-mesotrofico) è stato messo in relazione con il fatto che questo bacino riceve le acque del Fiume Tresa, emissario del Lugano.

La possibilità per una fioritura di svilupparsi dipenderà però non solo dalla presenza di una popolazione regolarmente presente, ma anche dal tipo di cianobatteri. Nel caso delle specie formanti schiume (grandi colonie di Nostocales), fioriture evidenti, interessanti i primi centimetri dello strato d'acqua, si potranno formare anche in presenza di modeste densità nello strato trofogenico. Le specie che danno invece luogo alle "acque colorate" (*Planktothrix*) potrebbero richiedere, per la formazione di fioriture visibili, popolazioni più consistenti. Per la loro forma e per le minori dimensioni tali colonie sono infatti caratterizzate da velocità di migrazione più basse; inoltre, la formazione di "acque colorate", interessando tendenzialmente

strati più ampi, richiede anche una maggiore quantità di biomassa. Queste considerazioni che andrebbero valutate attentamente con osservazioni sperimentali-potrebbero spiegare il motivo dell'assenza di fioriture di *Planktothrix* nel Garda; per converso, un'elevata presenza di questa oscillatoriale non necessariamente implica un suo sviluppo sotto forma di fioriture (le quali risultano assenti nel Como, nonostante un'elevata presenza di *Planktothrix* in rapporto agli altri laghi profondi sudalpini; Salmaso *et al.*, 2003). È da sottolineare, però, che la mancanza di osservazioni specifiche riguardanti l'effettiva frequenza di comparsa e dinamica delle fioriture nell'intero complesso dei grandi laghi sudalpini rende piuttosto arduo cercare di enucleare le reali cause alla base del loro sviluppo e della loro distribuzione geografica. I dati attualmente raccolti sembrerebbero indicare comunque una sostanziale indipendenza di questi fenomeni dal livello trofico, il quale sembra controllare maggiormente, invece, la composizione specifica della comunità (Salmaso *et al.*, 2003).

A conclusione di questo lavoro è importante sottolineare che l'unica soluzione per poter contrastare le fioriture algali nei laghi profondi sudalpini è costituita dal controllo a monte dello sviluppo dei cianobatteri. In particolare, quelli che si sono resi responsabili delle fioriture appartengono tutti a specie indicatrici di condizioni mesotrofiche o eutrofiche. Nel caso del Garda alcune di queste (*Anabaena* e *Planktothrix*) risultavano del tutto assenti nel periodo precedente agli anni '50 e '60, quando il lago presentava condizioni oligotrofiche (Salmaso, 2002). La diminuzione delle specie più tipicamente eutrofiche nell'ambito di questo gruppo, basata su una seria politica di riduzione del carico di nutrienti, costituisce pertanto l'unica strategia da adottare per abbattere significativamente la probabilità di comparsa delle fioriture algali.

Ringraziamenti

Le informazioni sulle fioriture osservate nei laghi di Iseo, Como, Lugano e Maggiore sono state fornite, rispettivamente, da Letizia Garibaldi (Università di Milano), Fabio Buzzi (ARPA di Lecco), Marco Simona (Laboratorio Studi Ambientali, Lugano, CH) e Giuseppe Morabito (CNR-ISE, Pallanza).

Bibliografia

- Ambrosetti W, Barbanti L. Alcune problematiche fisiche dei grandi laghi sudalpini. *Documenta Ist Ital Idrobiol* 1997;61:3-18.
- Buzzi F. Phytoplankton assemblages in two sub-basins of Lake Como. *J Limnol* 2002;61: 117-28.
- Crollo A, Libera V. Geographical characteristics of the main Italian lakes. *Mem Ist ital Idrobiol* 1992;50:29-35.
- Garibaldi L, Anzani A, Marieni A, Leoni B, Mosello R. Studies on the phytoplankton of the deep subalpine Lake Iseo. *J Limnol* 2003;62(2):177-89.
- Garibaldi L, Brizzio MC, Mezzanotte V, Varallo A, Mosello R. Evoluzione idrochimica e trofica del Lago d'Iseo. *Documenta Ist Ital Idrobiol* 1997;61:135-51.
- Garibaldi L, Buzzi F, Morabito G, Salmaso N, Simona M. *I cianobatteri fitoplanctonici dei laghi profondi dell'Italia Settentrionale*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2000. (Rapporti ISTISAN 00/30).
- George DG, Edwards RW. The effect of wind on the distribution of chlorophyll a and crustacean plankton in a shallow eutrophic reservoir. *J Appl Ecol* 1976;13:667-90.
- Hyenstrand P, Blomqvist P, Petterson A. Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems-a literature review. *Archiv fuer Hydrobiologie Spec Issues: Advances in Limnology* 1998;51: 41-62.

- Laboratorio Studi Ambientali (LSA). *Ricerche sull'evoluzione del Lago di Lugano. Aspetti limnologici. Campagne annuali 1999-2001*. Lugano: Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere; 2000-2002.
- Morabito G, Ruggiu D, Panzani P. Recent dynamics (1995-1999) of the phytoplankton assemblages in Lago Maggiore as a basic tool for defining association patterns in the Italian deep lakes. *J Limnol* 2002;61:129-45.
- Mosello R, Giussani G (Ed.). Evoluzione recente della qualità delle acque dei laghi profondi sudalpini. *Documenta Ist Ital Idrobiol* 1997;61: 228 pp.
- Mosello R, Calderoni A, de Bernardi R. Le indagini sulla evoluzione di laghi profondi subalpini svolte dal C.N.R. Istituto Italiano di Idrobiologia. In: Politecnico di Milano (Ed.). *Atti della Giornata di Studio: I Laghi come Risorsa per lo Sviluppo*. Milano, 16 ottobre 1998. Milano: Consiglio Regionale della Lombardia, CNR-III Pallanza e Associazione ex Consiglieri Regionali della Lombardia. 2000. p. 19-38.
- Mosello R, Ruggiu D, Pugnetti A, Moretti M. Observed trends in the trophic conditions and possible recovery of the deep subalpine Lake Como (N. Italy). *Mem Ist ital Idrobiol* 1991;49:79-97.
- Mur LR, Skulberg OM, Utkilen H. Cyanobacteria in the environment. In: Chorus I, Bartram J (Ed.). *Toxic cyanobacteria in water*. London: E & FN Spon; 1999. p.15-40.
- Organisation for Economic Co-operation and Development. *Eutrophication of waters. Monitoring, assessment and control*. Paris: OECD; 1982.
- Oliver RL, Ganf GG. Freshwater bloom. In: Whitton BA, Potts M (Ed.). *The ecology of cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers;2000. p.149-194.
- Ravera O, Vollenweider RA. *Oscillatoria rubescens* D.C. as an indicator of Lago Maggiore eutrophication. *Schweiz Zeit Hydrol* 1968;30:374-80.
- Reynolds CS. Cyanobacterial Water-Bloom. *Adv Bot Res* 1987;13:67-143.
- Reynolds CS, Walsby AE. Water-Blooms. *Biol. Rev* 1975;50:437-81.
- Reynolds CS, Huszar VLM, Kruk C, Naselli-Flores L, Melo S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J Plankton Res* 2002;24:417-28.
- Ryding SO, Rast W (Ed.). *The control of eutrophication of lakes and reservoirs*. Paris: UNESCO and The Partenon Publishing Group; 1989.
- Salmaso N. Factors affecting the seasonality and distribution of cyanobacteria and chlorophytes: a case study from the large lakes south of the Alps, with special reference to Lake Garda. *Hydrobiologia* 2000;438:43-63.
- Salmaso N. Ecological patterns of phytoplankton assemblages in Lake Garda: seasonal, spatial and historical features. *J Limnol* 2002;61:95-115.
- Salmaso N. Life strategies, dominance patterns and mechanisms promoting species coexistence in phytoplankton communities along complex environmental gradients. *Hydrobiologia* 2003;502:13-36.
- Salmaso N. Effects of climatic fluctuations and vertical mixing on the interannual trophic variability of Lake Garda, Italy. *Limnol Oceanogr* 2005. In press.
- Salmaso N, Cavolo F, Cordella P. Fioriture di Anabaena e Microcystis nel Lago di Garda. Eventi rilevati e caratterizzazione dei periodi di sviluppo. *Acqua Aria* 1994;1:17-28.
- Salmaso N, Decet F, Franzini G, Cordella P. Evoluzione trofica del Lago di Garda in relazione alla completa circolazione delle acque del 1999 e 2000. *Atti Associazione Italiana Oceanologia e Limnologia (AIOL)* 2001;14:109-23.
- Salmaso N, Morabito G, Mosello R, Garibaldi L, Simona M, Buzzi F, Ruggiu D. A synoptic study of phytoplankton in the deep lakes south of the Alps (lakes Garda, Iseo, Como, Lugano and Maggiore). *J Limnol* 2003;62(2):207-27.

- Simona M. Winter and spring mixing depths affect the trophic status and composition of phytoplankton in the northern meromictic basin of Lake Lugano. *J Limnol* 2003;62(2):190-206.
- Sivonen K, Jones G. Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J (Ed.). *Toxic cyanobacteria in water*. London: E & FN Spon; 1999. p. 41-111.
- Sommer U. The periodicity of phytoplankton in Lake Constance (Bodensee) in comparison to other deep lakes of central Europe. *Hydrobiologia* 1986;138:1-7.
- SystatTM 10.2 Statistics I and II*. Richmond, CA: Systat Software Inc.; 2002.
- ter Braak CJ, van Dam H. Inferring pH from diatoms: a comparison of old and new calibration methods. *Hydrobiologia* 1989;178: 209-23.
- Ufficio Protezione e Depurazione Acque. *Ricerche sull'evoluzione del Lago di Lugano. Aspetti limnologici. Campagna 2002*. Lugano: Commissione Internazionale per la Protezione delle Acque Italo-Svizzere. UPDA; 2003.
- Utkilen HC, Oliver RL, Walsby AE. Buoyancy regulation in a red Oscillatoria unable to collapse gas vacuoles by turgor pressure. *Arch. Hydrobiol* 1985;102:319-29.
- Walsby AE, Kinsman R, Ibelings BW, Reynolds CS. Highly buoyant colonies of the cyanobacterium *Anabaena lemmermannii* form persistent surface waterbloom. *Arch Hydrobiol* 1991;121:261-80.
- Watson SB, McCauley E, Downing JA. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of differing nutrient status. *Limnol Oceanogr* 1997;42:487-95.
- Webster IT, Hutchinson PA. Effect of wind on the distribution of phytoplankton cells in lakes revisited. *Limnol Oceanogr* 1994;39:365-73.

FIORITURE ALGALI IN EMILIA ROMAGNA: LE VALLI DI COMACCHIO E L'OASI NATURALISTICA DI VALLE SANTA

Erika Manfredini, Francesco Ghion

Agenzia Regionale Prevenzione Ambiente (ARPA) dell'Emilia Romagna, Sezione Provinciale di Ferrara

Vengono illustrati due casi particolari di fioriture algali registrati nella Provincia di Ferrara.

Il primo è stato segnalato nelle acque salate delle Valli di Comacchio ed è sostenuto da *Nannochloropsis gaditana*; la presenza della fioritura è nota dagli anni '80 ma solo nel 1995 è stata identificata l'alga responsabile. La permanenza di acqua torbide in tutte le stagioni ha avuto conseguenze pesanti nello stato ecologico delle Valli.

Il secondo caso è stato registrato nel corso del 2003 in un'oasi naturalistica di acqua dolce (Valle Santa, Comune di Argenta, Ferrara). Responsabile della fioritura è risultata la cianoficea *Cylindrospermopsis raciborskii*, alga in grado di produrre tossine.

In tema di fioriture algali riteniamo interessante riportare le osservazioni che da anni stiamo conducendo nelle Valli di Comacchio ove si assiste ad una fioritura del tutto particolare: la eccezionalità della fioritura di Comacchio consiste nel fatto che è presente da oltre 20 anni e permane in tutte le stagioni.

Per meglio comprendere il fenomeno e i suoi effetti nell'ecologia delle Valli è opportuno ricordare che le Valli di Comacchio sono costituite da un bacino di circa 10.000 ettari che comunica con il Mare Adriatico attraverso tre canali, di cui uno quasi sempre ostruito (Figura 1).



Figura 1. Valli di Comacchio e stazioni di campionamento

Recentemente sono state riattivate, dopo un ventennio, le comunicazioni con le acque dolci del fiume Reno. La profondità della valle si mantiene sui 50-150 cm. Le comunicazioni sono regolate mediante chiaviche poste lungo i canali.

Come è noto, la fama di Comacchio è legata all'attività di pesca delle anguille: oggi l'attività acquacolturale risulta assai ridotta, mentre maggiore valenza viene attribuita agli aspetti

ecologici e alla fruizione turistica dell'ambiente vallivo, che rappresenta la parte più importante del Parco del Delta del Po.

Le prime osservazioni del fenomeno sono state eseguite nel 1993 dal Prof. Yuri Sorokin, microbiologo dell'Accademia Russa delle Scienze, con il quale abbiamo collaborato in quel periodo.

I risultati di queste ricerche sono stati pubblicati nei due lavori riportati nella bibliografia. Il primo lavoro affronta i principali aspetti ecologici e biologici esaminati nel 1993, il secondo tratta in maniera specifica del metabolismo del fosforo.

Tra le altre considerazioni, le principali conclusioni del prof. Sorokin sono state:

1. identificazione di cianobatteri come responsabili della fioritura algale; nella stagione estiva raggiungevano valori di densità numerica superiore ai 100 milioni per mL, costituendo sino al 97% della biomassa totale del fitoplancton. Le principali specie identificate furono *Coelosphaerium kutzengianum*, *C. minutissimum*, *Synechococcus* sp, *Aphanothece salina*;
2. altre specie fitoplanctoniche apparivano assai scarse sia qualitativamente che quantitativamente: venivano identificati soprattutto *Chlorella* e piccoli flagellati, con valori numerici assai modesti rispetto ai cianobatteri;
3. oltre a ciò appariva assai ridotta anche la popolazione zooplanctonica e bentonica;
4. i nutrienti (N e P) vengono rapidamente utilizzati e quindi scarsamente presenti nell'acqua nelle loro forme solubili.

In conclusione il prof. Sorokin denunciò per primo la presenza di condizioni ecologiche critiche e profondamente alterate nelle Valli di Comacchio.

Dopo queste osservazioni si avviò dal 1995 un programma di monitoraggio integrato (analisi chimiche, studio del fitoplancton, zooplancton e bentos) con la costituzione di un gruppo di lavoro in cui operavano e operano tuttora oltre ad ARPA anche le Università di Ferrara, Parma e Padova.

I primi due anni di attività portarono alla pubblicazione che compare in bibliografia (Andreoli *et al.* 1999) e alla realizzazione di un convegno a Comacchio in cui furono presentati i risultati principali del monitoraggio, risultati che rispecchiano anche l'attuale situazione e che possono così essere riassunti:

1. responsabile della fioritura fitoplanctonica è risultata essere la specie identificata dal Prof. C. Andreoli come la *Eustigmatoficea Nannochoropsis gaditana* (Figura 2), che raggiunge in valle densità di 500-800.000 cellule per mL durante la stagione estiva ed è presente in quantità rilevanti in tutti i periodi dell'anno;
2. le cianofite sono rappresentate prevalentemente da *Synechococcus* sp. e in quantità assai meno rilevante rispetto a *N. gaditana*;
3. la fioritura fitoplanctonica permanente mantiene la trasparenza dell'acqua tra i 20 e i 30 cm durante tutto l'anno,
4. tale scarsa trasparenza ha fatto scomparire del tutto la flora di macrofite che caratterizzavano i fondali delle Valli di Comacchio e con essa tutta quella popolazione faunistica che viveva tra la vegetazione.

In definitiva la situazione ecologica delle valli risulta alquanto alterata se confrontata con le condizioni antecedenti il manifestarsi della fioritura algale. Anche i quantitativi di pescato denunciano una notevole diminuzione di produttività.

Tale alterata condizione ambientale può essere attribuita ai notevoli interventi di antropizzazione che hanno coinvolto negli ultimi decenni sia le valli stesse che l'ambiente circostante.

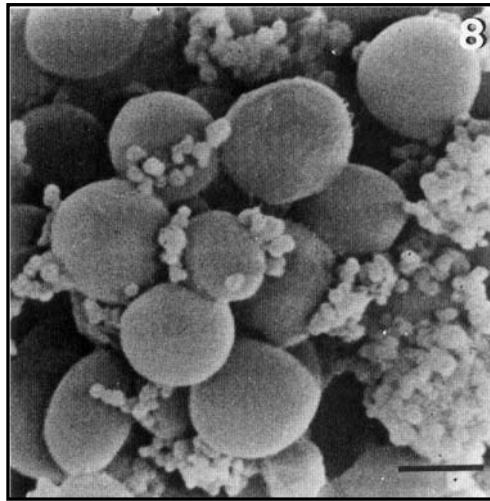


Figura 2. Immagine al SEM di cellule di *N. gaditana* (da Andreoli et al., 1999)

Il secondo caso di fioritura algale si è manifestato in un bacino di acqua dolce all'interno Dell'oasi naturalistica di Argenta.

L'Oasi di circa 1.600 ettari comprende tre bacini denominati Valle Campotto, Valle Santa (Figura 3) e Cassa Bassarone adibiti a casse di espansione alla confluenza del torrente Idice, Sillaro e del fiume Reno. Questi ambienti costituiscono zone umide permanenti, caratterizzati da profondità compresa tra 50 e 200 cm. In esse si riscontrano caratteristiche popolazioni animali e vegetali di rilevante importanza, tale da essere considerate una delle zone umide interne più importanti d'Europa. L'area fa parte integrante del Parco Regionale del Delta del Po. All'interno di un Progetto Life Natura (Ripristino di equilibri ecologici per la conservazione di habitat e specie di interesse comunitario) di riqualificazione di Valle Santa è stata condotta un'attività di monitoraggio della popolazione fitoplanctonica nel periodo giugno-dicembre 2003.



Figura 3. Oasi di Argenta: bacino di Valle Santa

I campionamenti d'acqua sono stati effettuati con cadenza quindicinale in due stazioni all'ingresso (Stazione 1) e all'uscita (Stazione 4) di Valle Santa; le osservazioni e il conteggio delle specie dominanti sono state effettuate sul materiale fissato con Lugol e utilizzando il metodo Uthermol. Nella Tabella 1 sono riportate le concentrazioni delle principali forme fitoplanctoniche presenti nei campioni della Stazione 1, tra l'altro non significativamente diverse dalla Stazione 2. Si evince con chiarezza (Figura 4) che all'inizio del monitoraggio la situazione del fitoplancton appare quella caratteristica dei bacini d'acqua dolce poco corrente, con presenza dei principali gruppi; nel mese di giugno ad esempio dominano le Diatomee (52%) con presenza di Cloroficee (20%) ed Euglenoficee (17%), mentre le Cianoficee rappresentano l'8% del numero totale.

Tabella 1. Concentrazioni (cell mL⁻¹) dei principali gruppi fitoplanctonici rilevati nella Stazione 1 (2003)

Data prelievo	Chlorof.	Euglenof.	Diatomee	Cianof.	Cryptof.	Crysof.	Dinof.	Totale
18/06	1.782	1.532	4.534	719	188	94	0	8.849
02/07	9.750	21.000	10.250	91.125	6.500	0	0	138.625
16/07	2.188	625	4.750	5.156	500	94	125	13.438
28/07	2.700	290	4.858	115.817	3.378	0	129	127.172
13/08	9.063	625	3.813	168.000	875	188	125	182.689
03/09	13.125	750	27.375	417.375	3.500	0	0	462.125
18/09	7.188	188	6.438	193.188	688	313	0	208.003
01/10	7.250	406	9.344	84.750	5.094	0	188	107.032
16/10	15.750	1.563	28.313	32.313	4.750	375	125	83.189
29/10	547	112	7.496	97	1.030	643	64	9.989
12/11	3.313	250	6.688	0	188	0	125	10.564
03/12	1.406	203	3.828	0	1.641	328	0	7.406
10/12	2.516	125	5.172	0	1.406	156	109	9.485

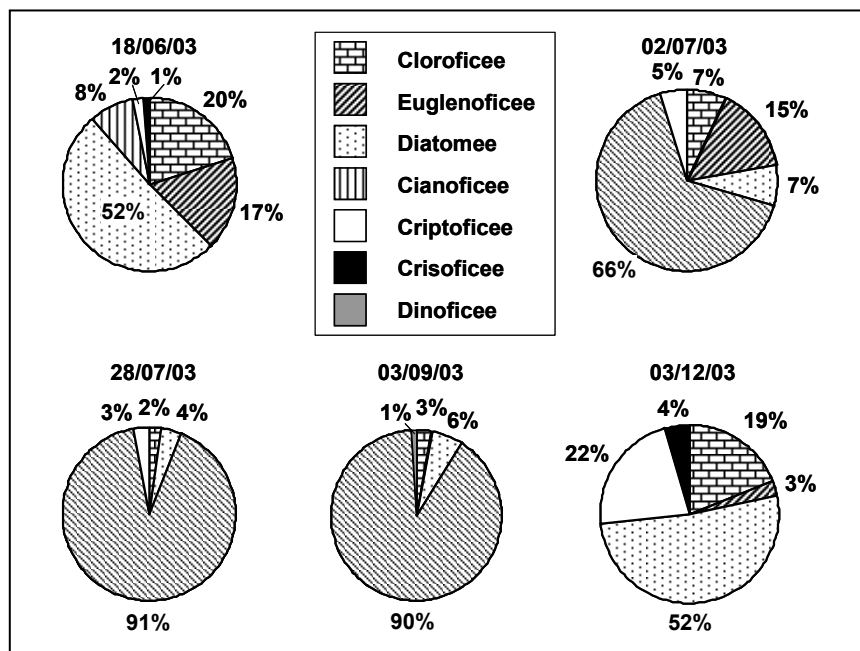


Figura 4. Valori percentuali delle principali forme fitoplanctoniche registrati nella Stazione 1

Con l'avanzare della stagione estiva si osserva un progressivo aumento del numero delle Cianofitofite e una notevole riduzione delle altre forme di cellule fitoplanctoniche, sino ad arrivare a valori delle Cianofitofite di oltre 460.000 cellule per mL, che rappresentano il 90% della popolazione fitoplanctonica.

Trascorsa l'estate si assiste alla progressiva scomparsa delle Cianofitofite e all'incremento delle altre specie appartenenti prevalentemente a Diatomee, Criptofite e Clorofite.

La fioritura di Cianofitofite è risultato sostenuto dalla specie *Cylindrospermopsis raciborskii* (Figura 5). Si tratta di una cianofitea che può risultare invasiva nelle regioni calde dell'Europa e in grado di produrre tossine.



Figura 5. Immagine al microscopio ottico di *Cylindrospermopsis raciborskii*

Nell'ambiente esaminato non è stato registrato nessun fenomeno di mortalità di specie ittiche che potesse essere legato in qualche maniera alla presenza di questi cianobatteri; tuttavia le indagini qui condotte contemporaneamente su macrobentos, avifauna, ecc. hanno evidenziato una situazione ambientale alterata, le cui cause non sono ancora state accertate.

Certamente la dominanza di alghe azzurre in Valle Santa può essere giustificata da condizioni di eutrofizzazione, legata anche a scarsa circolazione idraulica e da presenza di fondali ad alto contenuto organico.

In effetti il Progetto Life Natura di riqualificazione di Valle Santa prevede tra gli altri interventi anche il dragaggio dei canali sublagunari. Il proseguimento della nostra attività di monitoraggio del fitoplancton nel corso del 2004 potrà evidenziare gli eventuali benefici effetti degli interventi attuati.

Bibliografia

Sorokin YI, Sorokin PY, Gnes A. Structure and functioning of the anthropogenically transformed Comacchio lagoonal ecosystem (Ferrara, Italy). *Mar Ecol Prog Ser* 1996;133:57-71

Sorokin YI, Dallochio F, Gelli F, Pregnolato L. Phosphorus metabolism in anthropogenically transformed lagoon ecosystem: the Comacchio Lagoons (Ferrara, Italy). *J Of Sea Res* 1996;35(4):243-50.

Andreoli C, Bresciani E, Moro I, Scarabel L, La Rocca N, Dalla Valle L, Ghion F. A Survey on a persistent greenish bloom in the Comacchio lagoons (Ferrara, Italy). *Bot Mar* 1999;42:467-79.

VALUTAZIONI STATISTICHE DI USO COMUNE IN CAMPO AMBIENTALE

Mauro Mecozzi

Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare (ICRAM), Roma

Lo studio della statistica è normalmente demandato agli opportuni corsi universitari per gli studenti e alla consultazione dei testi più appropriati nei casi di coloro che essendo “utilizzatori della statistica” si trovano per le ragioni del proprio lavoro, a dover utilizzare solo alcuni degli strumenti della statistica. Tra i due approcci esiste ovviamente una notevole differenza in quanto se lo studente per il conseguimento del titolo di studio necessita di conoscere “tutta la statistica”, “l'utilizzatore della statistica” ha invece un approccio meno didattico e più pragmatico in quanto necessita di conoscere solo alcuni strumenti statistici. Gli studiosi in campo ambientale appartengono alla categoria degli “utilizzatori della statistica” in quanto la conoscenza e l'utilizzo dello strumento statistico deve semplicemente rispondere alla richiesta di fornire una informazione specifica per verificare una ipotesi relativa al significato dei dati ambientali esaminati.

Questo capitolo è rivolto agli “utilizzatori della statistica” e pertanto il suo scopo è quello di chiarire alcuni aspetti relativi al corretto utilizzo di alcuni test statistici sottolineando il significato interpretativo connesso alla elaborazione dei dati.

Pertanto verranno introdotti i concetti relativi alla distribuzione dei dati, all'analisi della varianza e della regressione, all'analisi delle serie temporali e all'analisi multivariata.

Tutti gli utilizzatori di questo testo sono comunque invitati a riesaminare gli argomenti illustrati in questa sezione mediante la consultazione di specifici testi perché il confronto è sempre il miglior metodo di apprendimento e verifica delle conoscenze acquisite attraverso la nota introduttiva di questo capitolo.

Distribuzioni dei dati

Il primo e più semplice test statistico che si applica ad una serie di dati è il calcolo del valore medio e della deviazione standard (DS).

Data la serie x_1, x_2, \dots, x_n costituita da n -numeri, il valore medio x_m e la DS saranno rispettivamente:

$$x_m = (x_1 + x_2 + \dots + x_n) / n$$

$$DS = (\sum (x_m - x_i)^2 / (n-1))^{1/2}$$

Queste funzioni possono essere facilmente calcolate con il software Excel presente nel pacchetto Microsoft Office dalla versione 2000 fino alle successive mediante le apposite funzioni statistiche incluse:

$$= \text{media}(a1:a_n)$$

$$= \text{DS}(a1:a_n)$$

dove $a1:a_n$ rappresenta la sezione della colonna del foglio elettronico dove sono stati collocati i valori numerici della serie x .

Ma dietro questa apparente semplicità si nasconde un tranello. Siamo sicuri di utilizzare correttamente questi due test? La domanda non è oziosa in quanto media e DS sono grandezze legate a serie di dati aventi una distribuzione normale (gaussiana). Una serie di dati è detta avere una distribuzione normale quando i valori della serie x_1, x_2, \dots, x_n sono equidistribuiti intorno al valore medio x_m . Se infatti noi avessimo una serie di n-dati normalmente distribuiti e costruiamo un diagramma riportando sulle ascisse i valori della serie e sull'asse delle ordinate quello del numero di volte (frequenze) con cui ogni i-esimo valore si ripete all'interno della serie, avremmo un diagramma finale come quello di Figura 1.

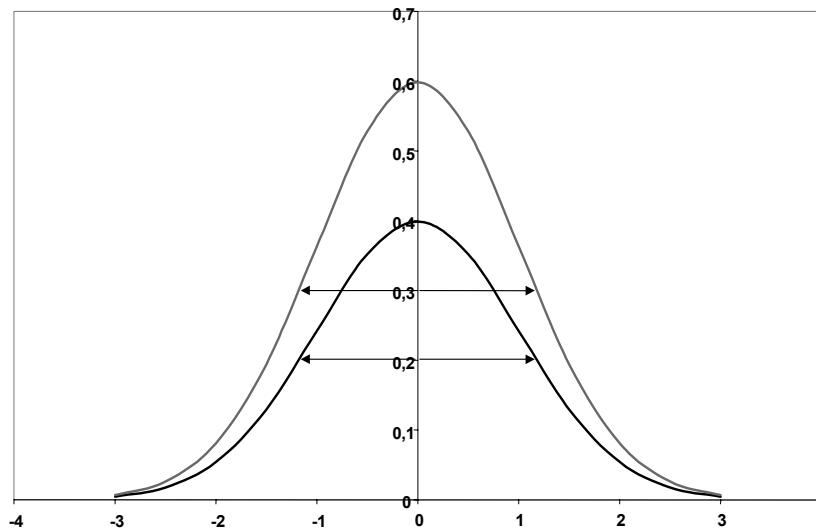


Figura 1. Distribuzioni normali per serie di dati aventi uguale valore medio e deviazioni standard diverse

Nella Figura 1 vediamo due serie di dati aventi il medesimo valore medio ma deviazioni standard diverse e quindi diverse distribuzioni. Infatti nelle distribuzioni normali la simmetrica ampiezza (distribuzione) dei dati stessi è data dalla relazione:

$$\Lambda(1/2) = 2 \Lambda * (\text{LN}(2))^{1/2}$$

con Λ pari all'ampiezza della curva, $\Lambda(1/2)$ pari alla ampiezza della curva a mezza altezza e $\text{LN}(2)$ è il logaritmo naturale di 2. In questa ampiezza noi avremo il 99,7% di probabilità di trovare il "vero" valore medio della distribuzione compreso nell'intervallo $x_m \pm 3*DS$. Occorre quindi riflettere sul fatto che simili distribuzioni in dati ambientali sono piuttosto rare per non dire inesistenti; basti pensare ad un caso tipico come il monitoraggio di una grandezza chimica (es. il fosfato) misurato in una stazione di campionamento in un lago in periodi diversi dell'anno quando sul valore di fosfato incidono contemporaneamente fattori diversi quali apporti esterni, temperatura, produzione primaria ecc. In tali situazioni si verificano talvolta casi estremi con valori di DS maggiori del valore medio della serie numerica dei dati. È evidente che in questi casi limite, media e DS non sono rappresentativi della distribuzione dei dati. Occorre allora chiedersi perché tutti usano la media e la DS per caratterizzare la serie di dati in esame e non usano test statistici più specifici e attinenti alla distribuzione dei dati?

In realtà le distribuzioni dei dati sono molteplici, basti pensare alle distribuzioni di Poisson, di Lawrence, alle distribuzioni esponenziali, quadrate e così via. L'analista ambientale non ha comunque un reale interesse pratico a conoscere la distribuzione dei dati ma ha viceversa

interesse ad individuare un valore “centrale” della sua serie numerica e un altro valore che sia rappresentativo della dispersione dei dati intorno al valore centrale.

Un aiuto ci viene dato dalla “Statistica non parametrica”, la statistica per lo studio delle distribuzioni non normali. La statistica non parametrica è stata sviluppata proponendo test alternativi a tutti quelli previsti dalla statistica delle distribuzioni normali. L’alternativa della statistica non parametrica per la media e la DS sono la mediana e la deviazione assoluta della mediana. Data una serie numerica x_1, x_2, \dots, x_n , la mediana viene calcolata nel seguente modo:

1. I valori sono dapprima ordinati in senso crescente dal più piccolo al più grande.
2. Si considera il valore di “n”; se dispari, la mediana sarà uguale al valore $n/2 + 0,5$ della serie. Ad esempio per una serie di tre valori la mediana corrisponde al secondo valore ($3/2 + 0,5 = 2$), per una serie di cinque valori la mediana corrisponde al terzo valore ($5/2 + 0,5 = 3$), per sette valori la mediana corrisponde al quarto valore.
3. Se “n” è pari, la mediana sarà uguale al valore medio dato dalla somma dei valori rispettivamente $n/2$ ed $n/2 + 1$ della serie. Ad esempio per $n = 4$, la mediana corrisponde al valore medio dato della somma del secondo e del terzo valore della serie ordinata in senso crescente; se $n = 6$ la mediana corrisponde al valore medio del terzo e del quarto valore.

La mediana di una serie numerica di dati può essere calcolata direttamente in Excel tramite l’apposita istruzione mediana:

$$= \text{mediana} (\text{a1:an}).$$

La deviazione assoluta della mediana non è inserita nelle funzioni di Excel come è il caso della DS ma può essere facilmente ottenuta mediante il calcolo di deviazione assoluta della mediana:

$$= (\text{mediana} (|x_i - \text{mediana}|) / 0,6745)$$

calcolando cioè la mediana dei i valori assoluti delle differenze tra la mediana della serie x e i valori i -esimi della serie stessa (scarti) e dividendo infine il risultato per il coefficiente 0,6745 che rappresenta un fattore di scala per adattare la distribuzione dei dati ad una distribuzione normale. Per questo particolare aspetto della dispersione dei dati di distribuzioni non normali si veda in bibliografia il riferimento della *Analytical Methods Committee della Royal Society of Chemistry*.

Ma perché per visualizzare la distribuzione di una serie di dati ambientali la mediana è spesso più rappresentativa della media? La risposta a questa domanda è data dalla maggiore capacità della mediana rispetto alla media di non essere influenzata dalla distribuzione dei dati. Osserviamo il seguente esempio: la serie numerica 2,5, 2,6, 2,9, 3,4 ha un valore medio 2,85 e un valore di mediana pari a 2,75. Se per un banale errore di trascrizione dei dati, il valore 3,4 viene riportato come 34, il valore medio diviene 10,5, un valore assolutamente non rappresentativo della distribuzione della serie poiché nessun valore della serie originale è vicino a questo valore medio.

Tuttavia, in base alle caratteristiche del calcolo della mediana, è facile e allo stesso tempo stupefacente notare che il suo valore rimane comunque 2,75, un valore quindi ancora rappresentativo della distribuzione dei dati nonostante l’errore di trascrizione. Questo è un eccellente esempio della caratteristica di “robustezza” tipica della mediana e di tutta la statistica non parametrica di non essere facilmente influenzati dalle fluttuazioni dei dati fornendo comunque valori effettivamente rappresentativi della distribuzione. Una discussione sui vari test della statistica non parametrica esula dagli scopi di questa nota introduttiva sull’utilizzo di

comuni test statistici e per particolari esigenze si rimanda alla lettura di specifici testi di statistica non parametrica. È comunque importante sottolineare che ciascun test della statistica per distribuzioni normali dei dati ha un suo equivalente nella statistica non parametrica. Un esempio è nella Tabella 1.

Tabella 1. Test tipici per distribuzioni normali e test analoghi per finalità previsti dalla statistica non parametrica

Test di statistica parametrica	Test di statistica non parametrica
Valore medio	Valore della mediana
t-student	Mann-Whitney U-test
ANOVA (analisi della varianza)	Kruskal Wallis test
Regressione lineare	Regressione di Theil

L'ultimo spunto di riflessione è se nell'esame di dati ambientali è più corretto abbandonare l'uso del valore medio e della DS sostituendoli con il calcolo della mediana e della deviazione assoluta della mediana. In assoluto questo approccio è il più corretto; l'analista ambientale ha comunque sempre la possibilità di compiere una scelta calcolando per la propria serie di dati tutti i parametri tipici di una distribuzione e verificando l'esistenza di deviazioni standard paragonabili al valore medio. In questo caso l'uso del valore medio deve essere scartato poiché non rappresentativo della distribuzione dei dati. Solo nei casi di elevate misure ($n > 500$) l'uso di media e mediana è praticamente indifferente ai fini della caratterizzazione della distribuzione dei dati.

Analisi della varianza

Quando si vogliono comparare serie ripetute di dati, ad esempio n-misurazioni di fosfato presenti in c-gruppi diversi di misurazioni per verificare se i gruppi sono omogenei tra loro, si ricorre all'analisi della varianza (ANOVA, *ANalysis Of VAriance between groups*). La varianza di una serie di misure ripetute è il quadrato della DS ed è quindi rappresentativa della dispersione dei valori della serie rispetto al valore medio.

L'analisi della varianza è detta ad una via (*one-way* ANOVA) se è uno solo il fattore rispetto al quale si vuole testare la presenza di significative variazioni. Un esempio di applicazione di ANOVA è costituito da una serie di misurazioni di una grandezza chimica, ad esempio il fosfato, misurata in un lago in cinque punti diversi di campionamento per tutti i dodici mesi dell'anno. Se siamo interessati a verificare la presenza di una variabilità stagionale, noi ipotizziamo che le concentrazioni di fosfato varieranno solo in funzione del periodo di campionamento e pertanto applicheremo la *one-way* ANOVA. L'ANOVA è l'analogo del test t-student per più campioni. Se dobbiamo comparare differenze tra due soli campioni, si utilizza il test di t-student e per più campioni si utilizza invece l'ANOVA.

Se volessimo verificare anche l'esistenza di una variabilità dovuta ai differenti luoghi di campionamento, i fattori di influenza della variabilità dei dati saranno allora tempo e spazio e quindi noi applicheremmo in questo caso la *two-way* ANOVA. In campo ambientale i dati vengono spesso esaminati rispetto ad una sola fonte di variazione e pertanto in questo testo tratteremo soltanto la *one-way* ANOVA.

La matematica dell'ANOVA è piuttosto semplice in quanto è basata sul calcolo della varianza totale del sistema e sul calcolo della varianza per ogni ciclo di misure replicate. Ricordiamo che la varianza è il quadrato della DS di una serie di misure. Pertanto, data una tabella di dati di r-righe (cicli di misurazioni) per c-colonne (repliche per ogni ciclo), l'analisi della varianza calcolerà la varianza derivante dalle r*c misurazioni totali e la varianza calcolata all'interno dei campioni definita dal valore medio delle varianze osservate per tutti gli r-cicli di misurazioni. Il rapporto di queste due varianze, è determinato come:

$$F(r-1, r*c-c) = \frac{(\text{Var}_1 + \text{Var}_2 + \dots + \text{Var}_r)/r}{n \sum (X_{Mi} - X_{MT})^2 / (c-1)}$$

dove $\text{Var}_1, \text{Var}_2, \dots, \text{Var}_r$ sono le varianze di ciascuna serie di misurazioni (righe), X_{Mi} è la media di ciascun campione (riga) ed X_{MT} è la media totale di tutte le r*c misurazioni fatte.

Il valore di $F(r-1, r*c-c)$ è definito come il valore sperimentale di F-Snedekor; esso viene comparato con quello critico tabulato per r-1 ed r*c-c gradi di libertà. Se il valore sperimentale è maggiore di quello critico tabulato ad una coda per un designato livello di significatività statistica, ad esempio al 95%, allora ANOVA ci indicherà che esistono significative differenze tra i nostri campioni. In caso contrario, quando il valore sperimentale di F-Snedekor è minore di quello critico tabulato allora le differenze non sono significative ma rientrano nella fluttuazione dei dati.

Come si può vedere, ANOVA è basata su una matematica concettualmente semplice e anche in assenza di uno specifico software essa può essere calcolata con l'ausilio di un foglio elettronico od una piccola calcolatrice, consultando successivamente le tabelle dei valori critici di F-Snedekor ad una coda. Comunque, mediante il software Excel è possibile eseguire direttamente l'ANOVA tramite l'apposita istruzione contenuta nel menù Strumenti alla voce "Analisi Dati".

Occorre comunque specificare che tale opportunità è consentita solo se in fase di installazione del pacchetto Microsoft Office, si sceglie l'opzione "Configurazione Completa" che il pacchetto Office stesso richiede in fase di installazione. Quando eseguita sul blocco dati selezionato, Excel fornisce con ANOVA automaticamente il valore di F-sperimentale e quello critico tabulato corrispondente alle r-righe e c-colonne con il relativo livello di significatività. Per ulteriori dettagli si consiglia di consultare la funzione "help" di Excel.

Occorre comunque considerare che ANOVA ci indicherà la presenza di differenze tra i campioni ma non ci dirà dove sono posizionate queste differenze; in parole più semplici ANOVA non ci mostra quali campioni sono significativamente diversi tra loro e quali no. Per rispondere a questo quesito introduciamo il test della "Minima Differenza Significativa" (MDS). L'applicazione di questo test è anch'essa piuttosto semplice. Si calcola il valore MDS in accordo all'espressione

$$MDS = \sqrt{(\text{Varianza all'interno dei campioni}) * (2/c) * t}$$

con "Varianza all'interno dei campioni" pari al valore del numeratore del termine utilizzato per il calcolo di F-sperimentale visto precedentemente; "c" è il numero delle repliche e "t" è valore critico tabulato del t-student per r*(c-1) gradi di libertà al 95% di significatività. Successivamente si calcolano e si confrontano i valori medi degli r-campioni verificando quelli le cui differenze sono maggiori della quantità MDS. Le differenze tra campioni superiori al valore MDS indicheranno quali campioni sono significativamente diversi tra loro. Ovviamente il test della "Minima Differenza Significativa" non ha senso quando ANOVA non mostra differenze significative tra i campioni.

Analisi di regressione

Principi e definizioni nell'analisi di regressione

L'analisi di regressione è una tecnica matematico-statistica che si pone lo scopo di quantificare una relazione causa-effetto tra una variabile X e un'altra Y ; quest'ultima per convenzione viene definita variabile "dipendente" in quanto i suoi valori numerici dipendono dai valori numerici della variabile X che viene invece definita "indipendente".

L'analisi di regressione è comunque una serie piuttosto eterogenea di tecniche matematiche, aventi in comune soltanto il principio dell'algoritmo di calcolo detto dei "minimi quadrati", dovuto al grande matematico e fisico tedesco Karl Friedrich Gauss. L'analisi di regressione infatti assume differenti nomi in base al tipo di relazione matematica che si vuole stabilire tra le grandezze X ed Y . Vediamo in dettaglio: data due serie x_1, x_2, \dots, x_n ed y_1, y_2, \dots, y_n , l'analisi di regressione che stabilisce tra le serie "x" ed "y" una relazione matematica $y = f(x)$ è detta:

<i>lineare</i>	se $y = ax + \text{cost}$
<i>polinomiale</i>	se $y = ax^n + bx^{n-1} \dots x + \text{cost}$
<i>esponenziale</i>	se $y = e^{(bx)} + \text{cost}$

Se infine la serie y_1, y_2, \dots, y_n della variabile dipendente Y deve essere esaminata rispetto a più serie di variabili indipendenti quali x_1, x_2, \dots, x_n e z_1, z_2, \dots, z_n la regressione che stabilirà la relazione $y = f(x, z)$ è detta "Regressione Lineare Multipla".

In campo ambientale si tende generalmente ad utilizzare esclusivamente l'analisi di regressione lineare rendendola quasi un uso forzato e indipendente dalla bontà della relazione trovata. Si verificano quindi casi come quello di Figura 2, dove è osservabile un buon adattamento dei punti sperimentali alla retta e quello di Figura 3 dove l'adattamento della retta non è soddisfacente. In realtà non c'è nessun vincolo che impedisca di applicare ai dati in esame anche altri tipi di regressione oltre la lineare.

Viceversa, la ricerca di relazioni matematiche più complesse è un lavoro che rende più rigoroso l'approccio statistico.

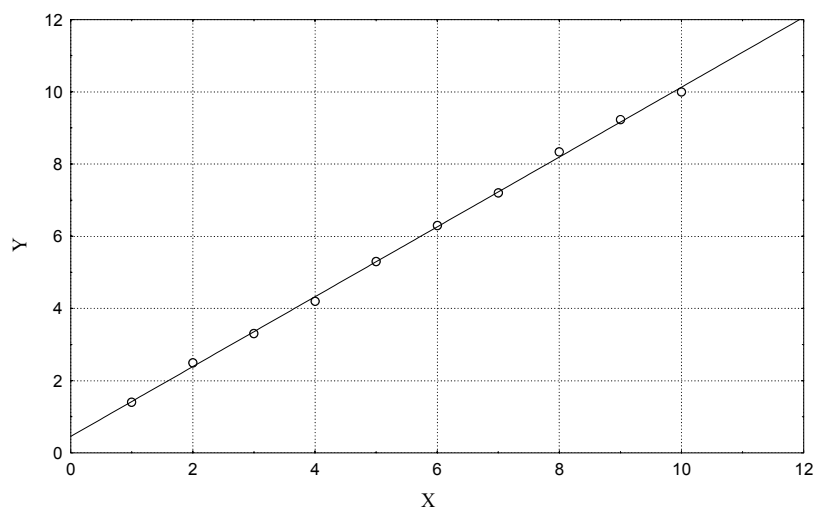


Figura 2. Esempio di un buon adattamento di una retta ad una serie di valori X, Y

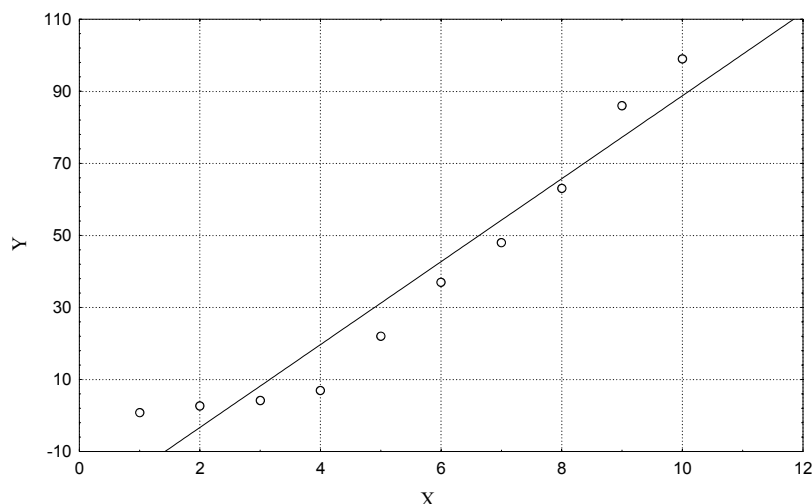


Figura 3. Esempio di uso “forzato” della regressione lineare: nel plot l’adattamento della retta ai punti sperimentali X ed Y è piuttosto scarso

Ma come si opera per giudicare la qualità di un’analisi di regressione? Per rispondere a questa domanda introduciamo le definizioni dei parametri caratteristici di tutti i tipi di regressione:

- *Coefficiente di correlazione (r)*: stima della significatività della regressione
- *Errore standard della stima*: stima della dispersione dei valori sperimentali rispetto a quelli teorici previsti dal modello di regressione. È un analogo della DS per i valori medi di una serie numerica.
- *Adattamento della regressione ai valori sperimentali*: stima della possibilità di migliorare la regressione attraverso l’applicazione di un’altra tecnica di regressione.

L’esame dei tre punti ci dirà come e quanto la regressione si adatta alle coppie x_i ed y_i sperimentali. Cominciamo dal calcolo del coefficiente di correlazione “r” che date le serie x_1, x_2, \dots, x_n ed y_1, y_2, \dots, y_n è definito come:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - x_m)(y_i - y_m)\}}{\sum_i \{(x_i - x_m)^2\} \sum_i \{(y_i - y_m)^2\}}^{1/2}$$

con x_m ed y_m rispettivamente i valori medi delle serie con $i = 1, 2, \dots, n$. È importante ricordare che $-1 \leq r \leq 1$. Il segno negativo indica le correlazioni di inversa proporzionalità tra le variabili X ed Y, mentre con il positivo si esprimono le correlazioni di diretta proporzionalità.

Infine “r” può essere direttamente calcolato da Excel mediante l’impostazione della funzione:

$$= \text{correlazione}(a1:an, b1:bn)$$

dove a1:an e b1:bn indicano rispettivamente le colonne del foglio elettronico dove sono collocati i valori delle serie X e Y.

Il coefficiente di correlazione è spesso l’unico test associato all’analisi di regressione rendendola per questo motivo, il test statistico più usato e abusato. Infatti esso viene spesso associato alle serie X ed Y di dati senza verificare se la relazione matematica trovata è statisticamente significativa oppure no. In altre parole, il computer utilizzato per l’analisi di

regressione fornisce sempre e comunque una risposta calcolando il valore del coefficiente di regressione, ma tale risposta deve essere verificata per vedere se la relazione matematica trovata è statisticamente (realmente) significativa.

La verifica che si può effettuare conoscendo il valore di “r” e il numero “n” delle coppie x_i ed y_i non richiede necessariamente l’uso di uno specifico software statistico in quanto si può facilmente impiegare Excel. Si determina il valore del t-student associato alla regressione mediante la formula

$$t = \frac{|r| * (n-2)^{1/2}}{(1-r^2)^{1/2}}$$

con $|r|$ = valore assoluto di “r” ed n = numero di coppie “x”, “y”.

Per il calcolo del valore t-student in Excel per la regressione lineare si imposta la formula

$$= r * \text{radq}(n-2) / \text{radq}(1-r^2)$$

Tale valore deve essere comparato con il valore del t-test critico tabulato per n-2 gradi di libertà (Tabella 2). Ad esempio consideriamo una serie $x_1, x_2 \dots x_n$ e una serie $y_1, y_2 \dots y_n$ con n=6; al 95% di significatività statistica il valore di t-test tabulato per un test a due code per 4 (n-2) gradi di libertà è pari a 2,78. Pertanto se il t-student calcolato con la formula vista precedentemente è maggiore di 2,78 la correlazione è significativa al livello del 95%. Nel caso opposto, la correlazione non è statisticamente significativa.

Il secondo e significativo parametro associato alla regressione è l’errore standard, detto anche errore standard delle stime.

$$S_{x/y} = \frac{[\sum(y_i - \hat{y}_i)^2]^{1/2}}{(n-2)^{1/2}}$$

y_i = elemento i-esimo della serie y

\hat{y}_i = valore i-esimo determinato dalla regressione

n = numero delle coppie x,y

Questo valore ha, come già detto, ha una espressione di calcolo analoga a quella della DS in quanto il valore \hat{y}_i sostituisce quello del valore medio utilizzato nel calcolo della DS.

Tabella 2. Valori del t-test per regressione lineare ai vari livelli di significatività

Gradi di libertà	Livelli di significatività statistica			
	90% (0,1)	95% (0,05)	98% (0,02)	99% (0,01)
1	6,31	12,71	31,82	63,66
2	2,92	4,30	6,96	9,92
3	2,35	3,18	4,54	5,84
4	2,13	2,78	3,75	4,60
5	2,02	2,57	3,36	4,03
6	1,94	2,45	3,14	3,71
7	1,89	2,36	3,00	3,50
8	1,86	2,31	2,90	3,36
9	1,83	2,26	2,82	3,25
10	1,81	2,23	2,76	3,17
12	1,78	2,18	2,68	3,05
14	1,76	2,14	2,62	2,98
16	1,75	2,12	2,58	2,92
18	1,73	2,10	2,55	2,88
20	1,72	2,09	2,53	2,85
30	1,70	2,04	2,46	2,75
50	1,68	2,01	2,40	2,68
∞	1,64	1,96	2,33	2,58

Non solo la maggior parte dei comuni software per l'analisi di regressione ma anche Excel consente comunque il calcolo di $S_{x/y}$. Per utilizzare questa opportunità si veda quanto già descritto nel capitolo precedente relativo al calcolo di ANOVA mediante Excel.

Il calcolo del valore $S_{x/y}$ introduce il terzo parametro caratteristico della regressione, quello relativo alla valutazione dell'adattamento della regressione ai valori sperimentali. Essendo possibile sottoporre un data set X,Y a differenti analisi di regressione, noi avremo un valore di $S_{x/y}$ per ciascuna delle tecniche di analisi di regressione applicate ai nostri punti sperimentali. Come stabiliamo la migliore tecnica da applicare per i dati?

L'esempio delle Figure 4 e 5 è un caso dove un esame visivo è sufficiente per stabilire che la regressione polinomiale del secondo ordine (Figura 5) è migliore della lineare (Figura 4) per descrivere la relazione tra i dati X ed Y.

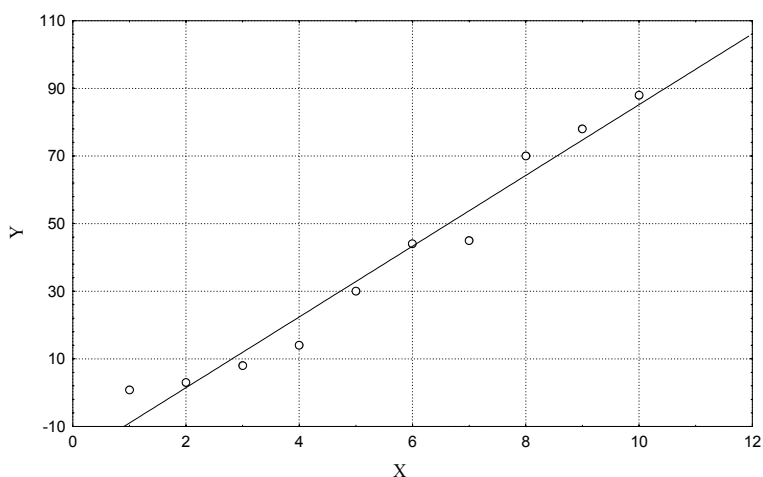


Figura 4. Serie di dati X,Y elaborati mediante regressione lineare

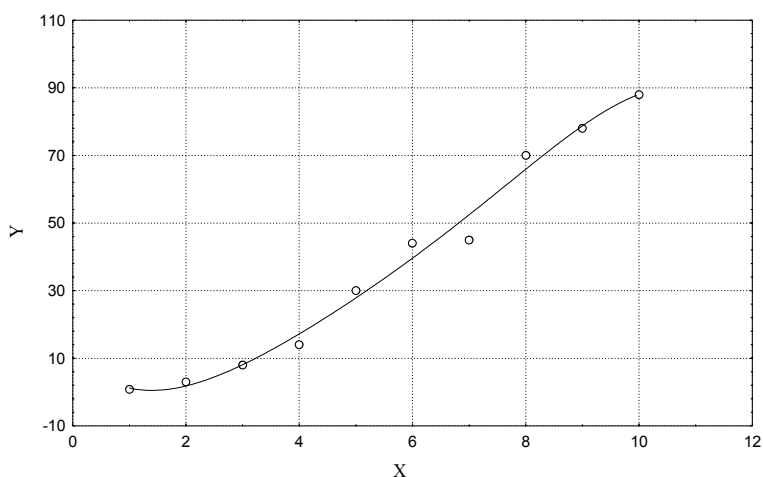


Figura 5. Stessa serie di dati X,Y elaborati mediante regressione polinomiale del secondo ordine

L'approccio visivo può comunque essere non sempre chiarificante. L'approccio più rigoroso per stabilire la migliore relazione tra i dati consiste nell'applicare differenti tecniche di regressione, ad esempio lineare e polinomiale, lineare ed esponenziale oppure lineare e multilineare e comparare successivamente i valori di $S_{x/y}$ ottenuti.

Date quindi due serie X e Y con n-elementi ciascuna e analizzati mediante regressione lineare e un'altra qualsiasi regressione (polinomiale, esponenziale, lineare multipla se si introducono nuove variabili), detti Sa ed Sb gli errori standard delle stime associate a ciascuna regressione, si determina il rapporto tra i due valori ponendo il valore maggiore al numeratore in modo che il risultante valore del test F sia sempre maggiore di 1.

$$F = \frac{Sa^2}{Sb^2}$$

Questo valore deve essere comparato con quello critico tabulato ad una coda per n-2/n-p-2 gradi di libertà. Con "n" indichiamo il numero di coppie X ed Y, mentre "p" indica il numero di variabili introdotte nell'applicazione della ulteriore tecnica di regressione. In un confronto tra regressione lineare ed esponenziale, "p" equivale a zero poiché non c'è introduzione di una nuova variabile, mentre in un confronto tra regressione lineare e polinomiale del secondo ordine "p" equivale ad 1 perchè abbiamo introdotto una nuova variabile rispetto alla regressione lineare. Un valore sperimentale "F" maggiore di quello critico tabulato ci indicherà che gli errori standard delle stime associati alle due regressioni sono significativamente diversi. Pertanto il modello con l'errore minore è quello statisticamente più accurato nel descrivere la relazione matematica che lega le due serie di dati.

Analisi delle serie temporali

Principi e definizioni nell'analisi delle serie temporali

Lo studio della variazione di una grandezza chimico-fisica o biologica rispetto al tempo per identificarne ciclicità o trends costituisce l'analisi delle serie temporali. Poiché la variazione di tale grandezza rispetto al tempo è nella maggior parte dei casi una variazione puramente qualitativa, per visionare tale variazione si usa spesso un approccio visivo che consiste nel costruire un grafico avente in ascissa il tempo e in ordinata i valori della grandezza in esame (Figura 6).

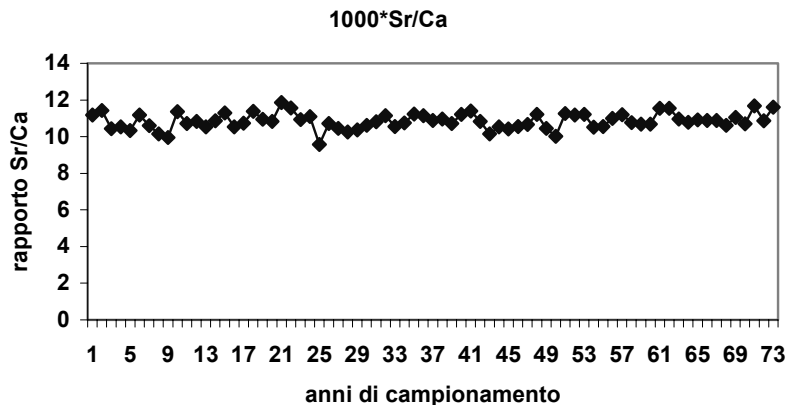


Figura 6. Esempio di diagramma temporale del valore del rapporto Sr/Ca misurato nelle 73 sezioni di un corallo e corrispondenti ad altrettanti anni di crescita del corallo stesso

Questo approccio ha però parecchie limitazioni di cui occorre tener conto. Tutte le grandezze sperimentali hanno un noise (disturbo) dovuto a vari fattori quali errori sperimentali del sistema di misurazione e/o variazioni dei valori misurati che non sono realmente significativi. In ogni caso il

noise può creare oscillazioni dei valori che alterano e/o nascondono il vero andamento temporale dei dati. In un esame visivo e qualitativo come quello di Figura 6, come possiamo essere certi che una variazione temporale osservata sia reale (significativa) e indipendente dal noise?

Un approccio usato per ridurre gli effetti del noise consiste nell'effettuare lo *smoothing* o "allisciamento" dei dati. Esistono differenti metodi di *smoothing* basati sulla sostituzione dei valori presenti nella serie con nuovi valori ottenuti calcolando il valore medio o il valore della mediana per piccoli intervalli della serie stessa, ma senza entrare nel dettaglio delle tecniche di *smoothing*, è sufficiente dire che questo tipo di tecniche comporta sempre l'impossibilità di utilizzare una frazione dei valori della serie. Pertanto se ne sconsiglia l'utilizzo nell'analisi delle serie temporali dove tutti i valori della serie numerica sono importanti per descrivere l'andamento di una grandezza rispetto al tempo.

Un'altra fonte di errate valutazioni derivanti dall'utilizzo del diagramma variabile contro tempo si presenta quando l'intervallo dei valori della variabile in esame è percentualmente piuttosto piccolo. In questo caso il suddetto diagramma produrrà una serie di valori oscillanti in un range forzatamente ridotto come è il caso dell'esempio in Figura 6 dove non si avvertono andamenti ciclici. Pertanto, poiché l'esame di una serie temporale è fondamentalmente un esame visivo, ne consegue che l'occhio umano sarà soggetto a visualizzare oscillazioni fittizie ma non reali. Si potrebbe allora pensare che per meglio evidenziare l'andamento temporale dei valori della variabile si possa restringere il range dei valori delle ordinate come nel caso del diagramma di Figura 7. La restrizione della scala delle ordinate riportata nella Figura 7 è di fatto una amplificazione e corrisponde al caso in cui nell'ascolto di un brano musicale registrato a basso volume, noi amplifichiamo il volume per ascoltare meglio ma aumentiamo contemporaneamente anche il noise. Infatti innalzando il volume aumentano i fruscii di sottofondo.

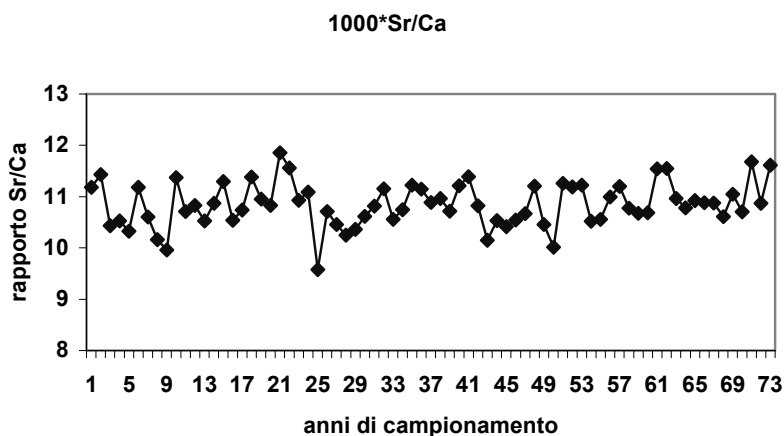


Figura 7. Stesso plot di Figura 6 ma con la restrizione della scala delle ordinate

Tecniche alternative che consentono di esaminare l'andamento temporale di una serie riducendo il noise e con limitate perdite di dati sono l'analisi di autocorrelazione e l'analisi spettrale di Fourier. Nel nostro caso illustreremo l'analisi di autocorrelazione che ha il duplice vantaggio di poter essere eseguita anche tramite un comune foglio elettronico quale Excel e utilizzando inoltre concetti già appresi nel paragrafo precedente con l'analisi di regressione.

Il principio dell'analisi di autocorrelazione è quello che per evidenziare le vere variazioni di una grandezza rispetto al tempo, si può studiare come una serie temporale $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$ correla con se stessa; in questo modo, se nella serie temporale sono presenti variazioni temporali regolari (ciclicità), l'analisi di regressione può evidenziarle poiché in presenza di una ciclicità,

una parte dei dati deve correlarsi con un'altra parte dei dati stessi. Ma come si attua l'analisi di autocorrelazione e cosa vuol dire correlare una serie con se stessa?

Data la serie numerica $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$, si scala la serie di una quantità (detta lag) corrispondente ad un arbitrario intervallo temporale. Per la serie numerica x , avente "n" misurazioni effettuate ad "n" (mesi) tempi diversi si sposta di una quantità pari ad un mese la serie ripetendo l'operazione n-3 volte; si veda allo scopo la Tabella 3.

Tabella 3. Impostazione della tabella di una serie numerica per il calcolo dell'autocorrelazione. La serie originale è quella presente nella prima colonna

Serie originale	Serie successive				
X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆
X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇
X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈
X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	
X ₅	X ₆	X ₇	X ₈		
X ₆	X ₇	X ₈			
X ₇	X ₈				
X ₈					

Successivamente si calcoleranno i coefficienti di correlazione della serie x₁-x₇ con la serie x₂-x₈, della serie x₁-x₆ con la serie x₃-x₈, della serie x₁-x₅ con la serie x₄-x₈ fino a giungere all'ultima serie che nel nostro esempio è la serie x₁-x₃ con la serie x₆-x₈. In questo caso poiché abbiamo ipotizzato una serie di campionamenti mensili, usiamo un lag (intervallo) pari ad uno, ma possiamo prendere intervalli superiori dipendenti dalle nostre esigenze relative; l'esempio successivo con lag = 2 è riportato in Tabella 4.

Tabella 4. Esempio di autocorrelazione con lag=2 per la stessa serie di Tabella 3

Serie originale	Serie successive	
X ₁	X ₃	X ₅
X ₂	X ₄	X ₆
X ₃	X ₅	X ₇
X ₄	X ₆	X ₈
X ₅	X ₇	
X ₆	X ₈	
X ₇		
X ₈		

I vantaggi dell'approccio basato sul calcolo dei coefficienti di autocorrelazione sono:

- riduzione del *noise* dei dati in quanto ogni punto della serie numerica originale viene sostituito da un valore di autocorrelazione che tiene conto di un insieme di più valori;
- poiché un coefficiente di correlazione deve per sua stessa definizione, essere compreso tra -1 ed 1, tutti i plot (autocorrelogrammi) esaminati saranno compresi tra -1 e 1 e potranno quindi essere messi in un unico diagramma facilitando la comparazione dell'andamento temporale di più variabili;
- rispetto allo *smoothing*, le perdite di dati sono minimizzate.

In Figura 8 riportiamo l'autocorrelogramma ottenuto per la stessa serie di valori riportati nelle Figure 6 e 7 ed è immediato vedere che esistono differenze rilevanti. La serie in questione presenta infatti una ciclicità che ricorre ogni 5-6 anni che non risulta invece evidente dai diagrammi delle precedenti figure.

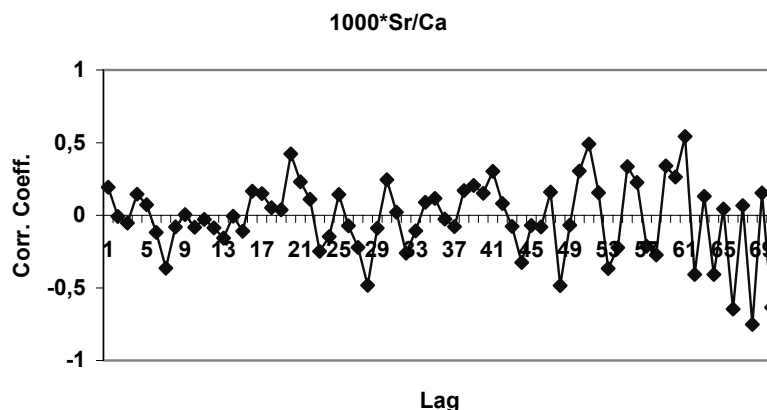


Figura 8. Autocorrelogramma della stessa serie temporale delle Figure XXXXX

Abbiamo già detto che l'analisi delle serie temporali è essenzialmente un esame "qualitativo" di una variabile in quanto il suo andamento è valutato qualitativamente osservando il suo andamento rispetto al tempo. Ma è possibile fare anche valutazioni quantitative sugli andamenti ciclici eventualmente osservati nella serie temporale. Riprendiamo allo scopo il precedente autocorrelogramma e ci focalizziamo alcuni intervalli temporali che sembrano visivamente indicare la presenza di un fenomeno ciclico ricorrente. Individuando i corrispondenti punti nella serie temporale $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$, si possono comparare le ciclicità mediante regressione esponenziale. Infatti un andamento ciclico (o frequenza) è descritto da una funzione esponenziale del tipo $x = f(e^t)$ dove "x" è il valore numerico della serie considerata e "t" è il valore del tempo.

Impostando per ciascun intervallo temporale che si vuole esaminare la funzione Excel

$$= \text{regr.log}(a1:an, x1:xn)$$

si otterranno altrettanti valori rappresentanti la costante di andamento esponenziale.

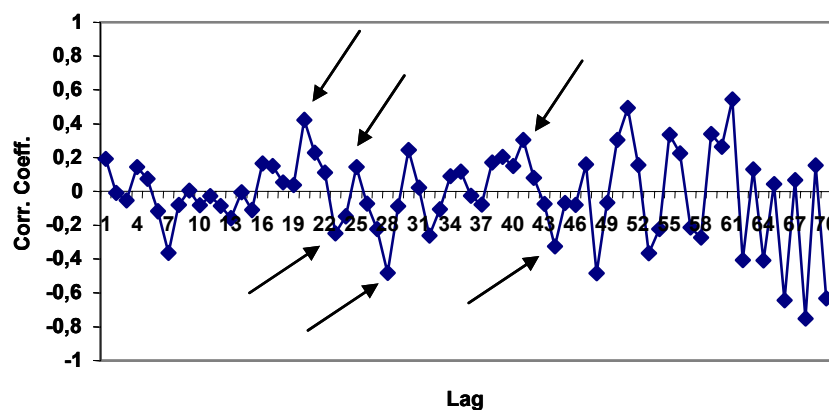


Figura 9. Stesso autocorrelogramma di Figura 8 con le frecce indicanti i periodi che si ipotizza abbiano una ciclicità comparabile

Nell'esempio di Figura 9, le funzioni per il calcolo della costante esponenziale per ciascun ciclo saranno calcolate come:

$$\begin{aligned} &= \text{regr.log}(a_i:a_j, x_i:x_j) \\ &= \text{regr.log}(a_w:a_y, x_w:x_y) \\ &= \text{regr.log}(a_o:a_z, x_o:x_z) \end{aligned}$$

Nell'esempio qui riportato, l'intervallo dei dati con la lettera "a" indica il periodo di cui si suppone esistere la ciclicità mentre gli indici "i", "j", "w", "y", "o", "z" indicano gli estremi dei

valori dei cicli posti a confronto. Valori comparabili della costante di decadimento esponenziale ci aiuteranno nell'ipotizzare per i cicli messi a confronto, un andamento temporale comparabile.

Analisi multivariata

L'analisi multivariata raccoglie una grande famiglia di tecniche matematico-statistiche che come dice il nome "multivariata", consentono l'esame simultaneo di tutte le variabili chimico-biologiche caratteristiche di un set di campioni. Pertanto, se i nostri campioni sono contraddistinti da dieci variabili (es. nitrati, cloruri, clorofilla ecc.), essi potranno essere esaminati non più per i singoli andamenti di ciascuna variabile ma simultaneamente per tutte le dieci variabili. In altre parole grazie all'esame simultaneo di tutte le variabili, l'analisi multivariata consente una completa classificazione dei campioni.

Ora è bene precisare che l'analisi multivariata non ha soltanto scopi di classificazione poiché sono possibili anche utilizzazioni di tipo modellistico, analoghe per finalità all'analisi di regressione multipla, ma in campo ambientale è intuitivo che l'approccio di classificazione è quello più applicato in quanto consente di esaminare similitudini tra i campioni.

Quali sono le tecniche multivariate? In realtà la famiglia di tali tecniche è molto ampia ma per gli scopi di questo corso esamineremo soltanto la *Cluster Analysis* (CA) e la *Principal Component Analysis* (PCA); queste tecniche presentano tra loro analogie di impiego e come tali sono complementari per la classificazione di dati ambientali. Occorre comunque premettere che la matematica dell'analisi multivariata è basata sull'algebra delle matrici, certamente più complessa della matematica incontrata finora nell'analisi univariata. Pertanto non ci soffermeremo nell'illustrazione della matematica associata a queste due tecniche ma viceversa focalizzeremo gli scopi e le applicazioni di CA e PCA nel campo dell'analisi ambientale.

Cluster Analysis

La parola *cluster* significa agglomerato o raggruppamento e la CA ha infatti lo scopo di raggruppare i dati per similitudine tenendo conto di tutte le variabili incluse nel data set. Per lo studio della similitudine esistono metodi detti "gerarchici" e metodi detti "non gerarchici" e la CA appartiene al gruppo dei metodi gerarchici. Esaminiamo ora alcuni aspetti fondamentali della CA per capire con quale criterio essa stabilisce similitudine tra campioni. Dato un insieme di punti in uno spazio bidimensionale come quello della Figura 10 è intuitivo che i dati (campioni) più simili sono quelli più vicini tra loro; pertanto la distanza geometrica tra due punti, descritta dal teorema di Pitagora, è un criterio di similitudine. Si veda l'esempio dei punti di coordinate x_1, y_1 ed x_2, y_2 .

La distanza tra i punti 1 e 2 in uno spazio bidimensionale è quindi calcolata mediante il teorema di Pitagora come:

$$D_{12} = \sqrt{(x_2-x_1)^2 + (y_2-y_1)^2}$$

e in uno spazio n-dimensionale la distanza sarà analogamente calcolata tenendo conto delle nuove variabili:

$$D_{12} = \sqrt{(x_2-x_1)^2 + (y_2-y_1)^2 + (z_2-z_1)^2 + \dots + (w_2-w_1)^2}$$

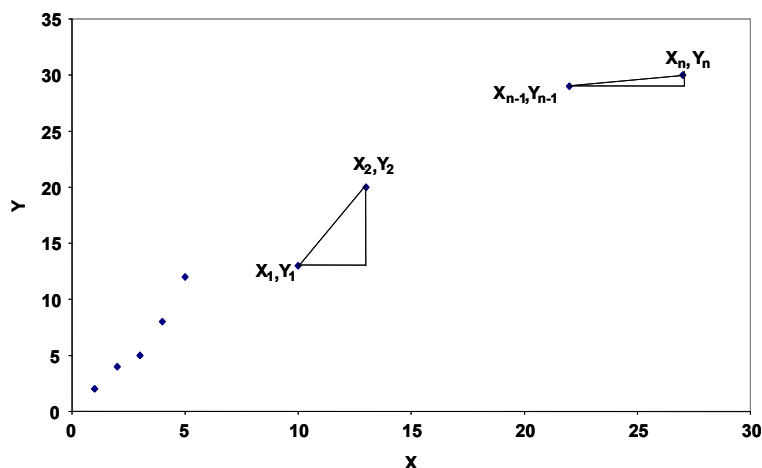


Figura 10. Distanza tra i due punti di coordinate x_1, y_1 ed x_2, y_2 come ipotenusa del triangolo rettangolo costruito con le proiezioni delle coordinate x ed y sugli assi

Esistono altre tipi di distanze per calcolare la similitudine tra campioni ma la loro definizione esula dallo scopo introduttivo di questa trattazione e pertanto continueremo a trattare della distanza euclidea in quanto i concetti delle applicazioni della CA (Figura 11) sono indipendenti dal tipo di distanza utilizzata.

Una volta definita la distanza geometrica si può successivamente stabilire la similitudine relativa tra due oggetti “a” e “b” calcolandola come il rapporto:

$$S_{ab} = \frac{D_{ab}}{D_{max}} * 100$$

dove D_{ab} è la distanza multivariata tra i due oggetti calcolata in accordo al teorema di Pitagora e D_{max} è la massima distanza determinata calcolando e paragonando tutte le possibili $n*(n-1)/2$ distanze all'interno del data set contenente n-oggetti.

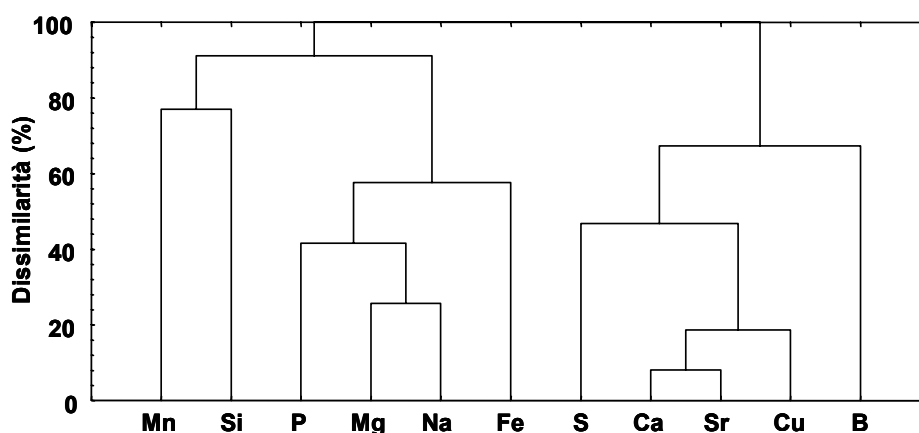


Figura 11. Esempio di CA (dendrogramma) eseguito sulle variabili di un data set sperimentale relativo alla concentrazione dei metalli presenti nelle sezioni di un corallo; le altezze dei segmenti indicano la dissimilarità (ad esempio Ca e Sr sono dissimili al 10%)

È evidente quindi che una similarità prossima al 100% indicherà elevata similitudine tra gli oggetti e deviazioni dal valore 100% indicheranno invece differenze. Questo appena illustrato è il primo *step* della CA; successivamente gli oggetti più simili tra loro sono “fusi” in un singolo oggetto e il calcolo della similitudine è ripetuto iterativamente. Il calcolo si interrompe una volta stabilito la massima dissimilarità tra gli oggetti.

La CA può essere eseguita sui campioni per vedere quelli che sono più simili tra loro e sulle variabili per vedere quelle che sono tra loro correlate. In ogni caso è bene puntualizzare che la CA è semplicemente una tecnica di screening dei dati con il compito di fornire indicazioni preliminari sul blocco di dati in esame come nell’esempio di Figura 12.

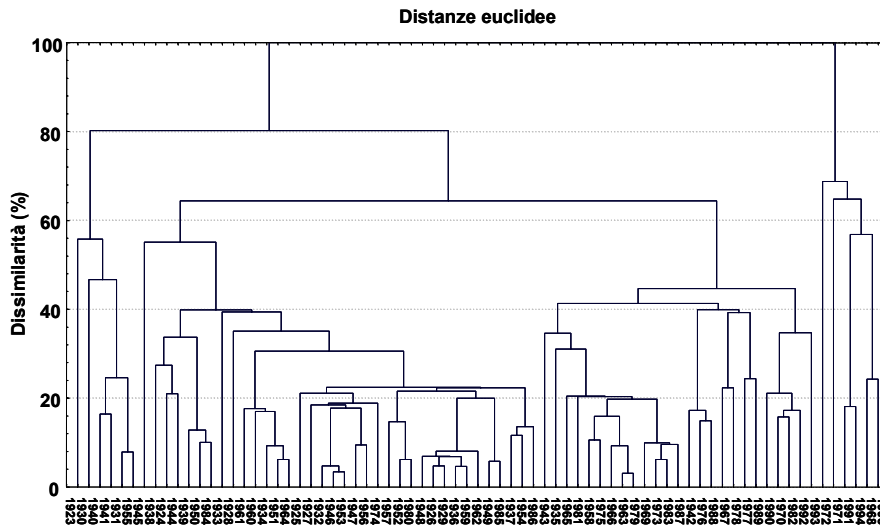


Figura 12. Dendrogramma sul data set della concentrazione dei metalli determinato in differenti sezioni di un corallo. Le sigle in ascissa corrispondono alle sezioni

Infatti la CA fornisce solo la similitudine (o dissimilitudine) tra i campioni come riportato per le sezioni del corallo in Figura 11. La CA mostra che ad esempio che le sezioni 1963 e 1979 hanno una dissimilarità del 5% circa e analogamente abbiamo le coppie 1932, 1946 e 1953, ma non ci mostra quali variabili determinano tale similitudine. Inoltre essa non ci indica l’importanza relativa (significatività) delle variabili che caratterizzano il data set in quanto alcune variabili potrebbero non essere importanti per descrivere il nostro data set. Questa capacità di determinare similitudini tra campioni indicando simultaneamente anche le variabili che determinano similitudini o dissimilitudini è invece la caratteristica portante dell’analisi delle PCA.

Analisi delle componenti principali

L’algoritmo della PCA fu sviluppato nei primi anni del XIX secolo ma la tecnica ha cominciato ad essere intensivamente applicata soltanto dopo gli anni ’70 a seguito della diffusione dei personal computer; infatti la matematica connessa alla PCA richiede calcoli piuttosto complicati anche per matrici di dati aventi dimensioni ridotte. Per questa ragione, a differenza di quanto fatto per la CA, non ci soffermeremo nel descriverla, ma viceversa puntualizzeremo quelli che sono gli aspetti operativi della PCA e come essa trasforma la matrice dei dati.

Cominciamo col fissare la nostra tabella di dati “M” aventi dimensioni $R * C$ dove “R” sono le righe (o campioni) inclusi nel set e “C” sono le variabili misurate per ciascun campione. L’applicazione della PCA determina che la matrice “M” sarà decomposta nel prodotto di due nuove matrici:

$$M = S * L$$

dove “S” (matrice degli *score*) è la matrice di dimensione avente “R” righe pari ai campioni originali e “P” colonne corrispondenti ad un set di nuove variabili definite dalla tecnica e dette componenti principali o fattori.

La matrice “L” (matrice dei *loadings*) è una matrice di dimensioni “P” righe, corrispondenti alle nuove variabili già definite nella matrice “S” e “C” colonne corrispondenti alle originali variabili della matrice “M”. Geometricamente le componenti principali sono assi che attraversano un set di dati multivariati come è il caso di Figura 13, minimizzando la varianza delle vecchie variabili cioè la distanza che si ottiene proiettando gli oggetti sugli assi delle nuove variabili. Il primo asse (o componente principale) giustificherà la porzione più grande di varianza e gli assi successivi saranno quelli che giustificheranno porzioni sempre più piccole della varianza. Un importantissimo aspetto è che ogni asse è comunque indipendente (ortogonale) dagli altri, quindi in termini strettamente matematici, ogni asse apporta un contributo “personale e indipendente” alla varianza e quindi alla descrizione del sistema.

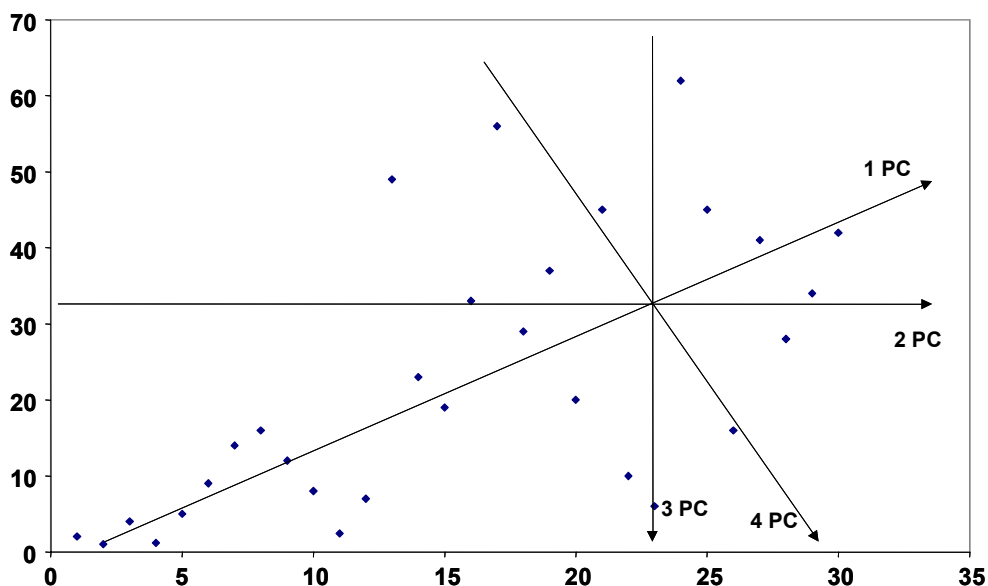


Figura 13. Spiegazione geometrica della PCA. Ogni nuovo asse (componente principale) spiega una porzione della varianza totale del sistema

Definita in questo modo il ruolo della PCA può non essere chiaro ma occorre precisare che il numero “P” delle nuove variabili (componenti principali) è sempre molto più piccolo del numero “C” delle vecchie variabili. Inoltre la matrice “S” (matrice degli *score*) che rappresenta come già detto il nuovo set di dati, contiene la medesima informazione qualitativa e quantitativa della matrice originale “M” contenente le variabili misurate sperimentalmente.

Per meglio comprendere questo aspetto della PCA esaminiamo due casi pratici.

Il primo caso è quello dei dati di 11 metalli determinati in 73 sezioni di un corallo, esempio già utilizzato per la CA. Volendo esaminare e determinare i campioni di corallo aventi simili (e diverse) concentrazioni degli undici metalli dovremmo costruire un plot 11-dimensionale, cosa ovviamente impossibile. Applicando però la PCA otteniamo la riduzione delle originali 11 variabili a tre soli nuove variabili (componenti principali). Questo ci consente di ottenere un plot in due o tre dimensioni dei campioni che ci permetterà di esaminare più efficacemente le similitudini di composizione, ma soprattutto la matrice dei *loadings* (Tabella 5) ci dà la possibilità di identificare quale delle variabili originali è realmente significativa nello spiegare le caratteristiche dei campioni in esame.

Tabella 5. Loadings risultanti dalla PCA

Metallo	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 3
B	0,364177	-0,845862	-0,071383
Cu	0,823376	-0,400171	-0,064377
Fe	0,638446	0,255556	-0,486781
Na	0,633264	0,615482	0,177357
Mg	0,700189	0,546366	0,016291
S	0,748001	0,179907	0,128223
Sr	0,897583	-0,258203	0,136586
P	0,207013	0,905543	-0,066087
Si	0,197573	-0,265912	-0,816943
Ca	0,883746	-0,299677	0,061958
Mn	-0,240032	0,295133	-0,699441
% varianza *	39,9	25,3	13,4

I *loadings* statisticamente significativi al 95% hanno un valore superiore a 0,7 e sono riportati in neretto;

* è la percentuale di varianza giustificata da ogni fattore; la varianza totale spiegata dai tre fattori è pari a 78,6%

Vediamo pertanto come alcune variabili (Fe e Na) non sono significative dal punto di vista statistico; in altre parole esse non variano significativamente nei campioni esaminati e pertanto non sono importanti per la loro caratterizzazione.

Il secondo caso è relativo alla matrice dei dati degli assorbimenti nell'infrarosso di un set di trenta campioni di mucillagini marine; poiché ogni lunghezza d'onda corrisponde ad una variabile, dato il range di lunghezze d'onda comprese nell'infrarosso tra i due e 100 micron, avremo un totale di circa 2500 variabili e pertanto la nostra matrice di dati avrà dimensioni 30 righe (campioni) * 2500 colonne (variabili costituite dalle lunghezze d'onda).

Un semplice esame per verificare quali campioni sono da ritenersi simili tra loro per la presenza di assorbimenti simili è pressoché impossibile poiché il *data handling* simultaneo di tutte le variabili di una simile matrice comporta il maneggiare grafici di 2500 dimensioni. Tale matrice non può quindi essere tabulata e occorre ridurre la dimensionalità prima di qualsiasi esame.

Dopo l'applicazione della PCA assistiamo ad uno stupefacente risultato. Le componenti principali individuate dalla PCA sono soltanto due e di conseguenza la matrice degli *score*, che ripetiamo essere la nuova matrice dei campioni in esame, diventa una matrice 30 * 2; i campioni di mucillagini potranno così essere diagrammati su un comune grafico bidimensionale ricordando comunque che l'informazione contenuta nella matrice originale 30 * 2500 è interamente contenuta anche nella matrice degli *score*. In Figura 14 riportiamo il plot relativo che ci consente di confrontare per similitudine tutti i campioni di mucillagini mediante l'informazione dei loro spettri infrarossi.

Ovviamente tutta l'applicazione della PCA su dati ambientali presenta differenti aspetti che devono essere valutati caso per caso. Per comprendere a fondo la potenza applicativa di una tale tecnica occorre studiare di pari passo gli *step* fondamentali di applicazione ed esaminare casi pratici riportati nella letteratura scientifica.

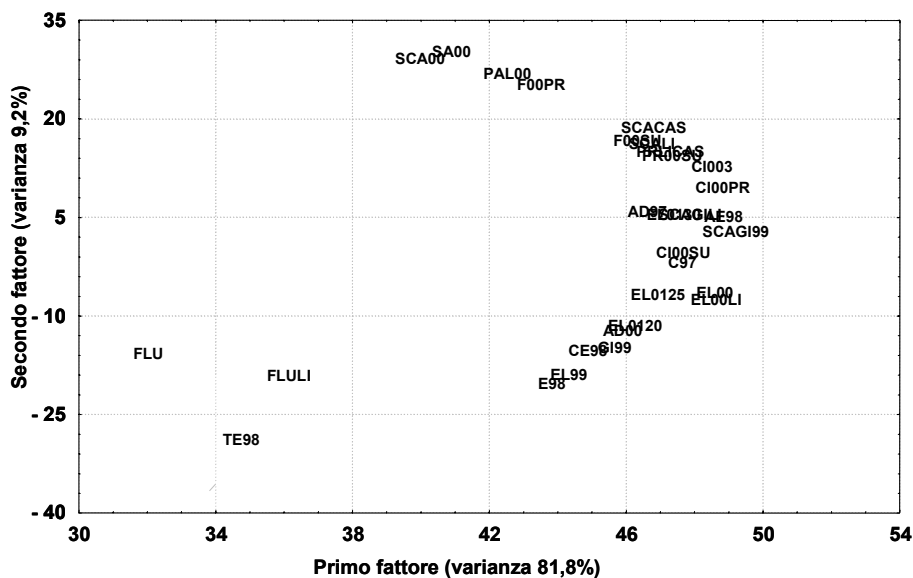


Figura 14. Diagramma delle due prime componenti principali che permettono di visualizzare le similitudini tra la composizione della sostanza organica presente in campioni di mucillagini marine

Bibliografia di riferimento

Per la distribuzione dei dati

Miller JM, Miller JN. *Statistics for Analytical Chemists*. Chichester, UK: Ellis Horwood Series; 1989.

Conover WJ. *Practical Non-parametric Statistics*. New York: Wiley; 1971.

Han JH, Ward JI, Lavine BK. The problem of adequate sample size in pattern recognition studies. *Journal of Chemometrics* 1989;4:91-6.

Machuca I, Cortes JD, Fuentes-Arderiu X. Consequences of applying parametric methods to non-gaussian distribution in the validation of analytical results. *Clinica Chimica Acta* 1992;209:215-7.

Analytical Methods Committee, Royal Society of Chemistry, UK. Robust Statistics-How not to reject Outliers. Part 2. inter-laboratory trials. *Analyst* 1989;114, 1693-7.

Per l'analisi della varianza (ANOVA)

Hirsch RH. Analysis of Variance in Analytical Chemistry. *Analytical Chemistry* 1977;49:691A-700A.

Miller JM, Miller JN (Ed.). *Statistics for Analytical Chemists*. Chichester (UK): Ellis Horwood Series; 1989.

Mecozi M, Cicero AM. Descrizione di un metodo di confronto per la valutazione di omogeneità spaziale e temporale di dati di monitoraggio ambientale. *Acqua Aria* 1995;9:923-6.

Per l'analisi di regressione

Miller JM, Miller JN (Ed.). *Statistics for Analytical Chemists*. Chichester (UK): Ellis Horwood Series; 1989.

Clementi S, Fringuelli F, Savelli G. L'analisi di regressione lineare applicata a problemi di chimica fisica organica: un esame critico. *Chimica e Industria* 1978;60:598-610.

Per l'analisi delle serie temporali

Brereton R (Ed.) *Chemometrics, the application of mathematics and statistics to laboratory systems*. Chichester (UK): Ellis Horwood Series; 1990.

Per lo smoothing dei dati

Mecozi M. Tecniche di smoothing per l'eliminazione del noise strumentale in spettroscopia. *Rassegna Chimica* 2000;50:7-12.

Per la cluster analysis

Massart DL, Kaufman L (Ed.) *The interpretation of Analytical Chemical Data by the use of Cluster Analysis*. Malabar (Florida): Edizioni R.E. Krieger Publishing Company; 1989.

Brereton R. *Chemometrics, the application of mathematics and statistics to laboratory systems*. Chichester (UK): Ellis Horwood Series; 1990.

Per la PCA

Brereton R. *Chemometrics, the application of mathematics and statistics to laboratory systems*. Chichester (UK): Ellis Horwood Series; 1990.

Bisani ML, Clementi S, Wold S. Chemiometria II: analisi delle componenti principali (PCA) ed analisi delle variabili latenti (PLS). *La Chimica e l'Industria* 1982;64 655-65.

Massart DL, Kaufman L (Ed.) *The interpretation of Analytical Chemical Data by the use of Cluster Analysis*. Malabar (Florida): Edizioni R.E. Krieger Publishing Company; 1989.

Todeschini R. *Introduzione alla Chemiometria*. Napoli: EdiSes srl Editore; 1998.

Meglen RR. Examining large databases: a chemiometric approach using principal component analysis. *Marine Chemistry*, 1992;39:217-37.

Ausili A, Mecozi M, Gabellini M, Ciuffa G, Mellara F. Physical chemical characteristics and multivariate analysis of contaminated harbour sediments. *Water Science & Technology* 1998;37:131-9.

Mecozi M, Cardarilli D, Pietrantonio E, Amici M. Estimation of the similarity in the qualitative composition of the humic substance in marine sediments by means of an UV spectroscopic library. *Chemistry & Ecology* 2001;17:239-54.

Cripps GC. Baselines levels of hydrocarbons in sea water of the Southern Ocean: natural variability and regional patterns. *Marine Pollution Bulletin* 1992;24:109-14.

FIORITURE TOSSICHE MARINE: NUOVI SISTEMI DI CONTROLLO E IPOTESI DI GESTIONE

Daniela Mattei, Milena Bruno

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le fioriture algali marine sono note all'umanità da moltissimo tempo, anche grazie all'appariscente caratteristica del colore rosso che spesso le distingue e che ha procurato a questi fenomeni l'appellativo di "maree rosse".

Le maree rosse si sviluppano in zone per lo più costiere, dove strati di acqua più calda si sovrappongono a strati più freddi e ricchi di nutrienti, generando un termoclino che ostacola il rimescolamento. Questo evento può verificarsi per un eccessivo riscaldamento degli strati superficiali, o per un apporto di acque dolci dall'entroterra. In quest'ultimo caso si crea un pycnoclino, ossia un brusco gradiente chimico che impedisce il mescolamento anche in caso di omogeneità termica.

La stratificazione causa delle modifiche nel fitoplancton degli strati superficiali, dove le alghe a replicazione veloce esauriscono rapidamente i nutrienti disponibili e scompaiono, non essendo in grado di oltrepassare il gradiente. A questo punto i dinoflagellati, dotati di movimento autonomo e di discreta velocità (anche più di dieci metri al giorno con capacità di migrazione verticale giornaliera), oltrepassano la barriera chimico-fisica e raggiungono la riserva di nutrienti nell'ipolimnio, immagazzinandoli secondo il bisogno e ritornando a replicarsi in superficie dove l'intensità luminosa è maggiore. La densità cellulare in questi casi può raggiungere valori dell'ordine di diverse decine di milioni per litro o più e, a causa di questa capacità le fioriture possono comparire in acque superficiali decisamente povere di nutrienti, non dipendendo da queste per il loro sostentamento.

I cambiamenti nella composizione fitoplanctonica a seguito di stratificazioni superficiali e dell'aumento dei nutrienti negli strati profondi è ben documentata anche in Europa: uno studio eseguito lungo le coste della Germania ha evidenziato lo spostamento delle frequenze di popolazione dalle diatomee verso i dinoflagellati, aumentati di dieci volte nel corso di ventitré anni, al quadruplicare dei rapporti azoto/silicio e fosforo/silicio nelle acque.

Le fioriture marine, e in particolare quelle tossiche, sono aumentate enormemente in tutto il mondo nell'ultimo quarantennio, di pari passo con l'aumento della popolazione e dell'industrializzazione: un esempio estremo è quello del Giappone, che dal 1965 al 1975 ha visto aumentare le proprie fioriture tossiche annuali da 44 a circa 300.

L'accresciuto numero di rilevamenti è da imputare al peggioramento delle condizioni trofiche delle coste con aumento degli scarichi umani e delle acquacolture (un allevamento di 200.000 pesci rilascia una quantità di azoto e fosforo equivalenti agli scarichi non trattati di 65.0000 persone) e al concorso di mutamenti climatici straordinari da effetto serra, su cui si sono innestate le introduzioni di specie algali esotiche, come cisti quiescenti trasportate nelle stive di navi da carico o negli *stock* di pesci da allevamento.

A questi fenomeni di origine umana va anche aggiunta l'aumentata attenzione da parte degli ambienti scientifici per le specie tossiche, che ha portato all'incremento dei piani di studio e delle crociere di controllo, con conseguente crescita percentuale dei rilevamenti.

Questa attenzione allo studio delle cause ha messo in luce negli ultimi dieci anni il ruolo importante giocato su scala globale dalle conseguenze dell'effetto serra. L'aumento della temperatura ha modificato l'andamento climatico delle precipitazioni, concentrandole molto più

nelle stagioni invernali e causando l'aumento della dilavazione dei terreni. L'assenza o la forte diminuzione delle piogge durante la primavera, l'estate e l'autunno ha come conseguenza l'aumento dei giorni di insolazione media e con temperatura superiore alla media.

Secondo le conclusioni del Rapporto del 1996 dell'*Intergovernmental Panel for Climate Change*, istituito dalla *World Meteorological Organization* e dall'*United Nations Environmental Programme*, il clima globale sta diventando via via più caldo e umido: nell'ultimo secolo le temperature medie sono aumentate di 0,3-0,6 gradi centigradi a causa dell'emissione di gas-serra come metano e anidride carbonica; a seguito di questo fenomeno le aree continentali comprese tra 40 e 70 gradi di latitudine mostrano un aumento della temperatura media, mentre quelle a latitudini più basse presentano diminuzioni della temperatura media.

L'aumento apparentemente minimo della temperatura degli oceani sta avendo come conseguenza lo scioglimento progressivo dei ghiacci dei Poli, con diminuzione della salinità media già riscontrata in vaste aree dell'emisfero nord, come il Mar del Nord e il Mar Baltico.

Fenomeni di riscaldamento globale della Terra, o "global warming", sono noti essere avvenuti in varie ere geologiche, seguiti a volte da glaciazioni. L'intensità di questi episodi è molto variabile, così come non è regolare la loro durata.

Le prove più interessanti sulla loro frequenza nel passato sono state trovate nei carotaggi dei ghiacci antartici e artici, dove è stato riscontrato un aumento delle fioriture algali legate ai periodi di "global warming". Le caratteristiche di questi eventi sono illuminanti sul ruolo rivestito dall'intervento umano innestatosi nelle ultime "pulsazioni" naturali climatiche: mentre nelle ere passate si riscontra un aumento delle frequenze delle fioriture, nell'attuale periodo di riscaldamento aumenta anche l'intensità delle stesse con produzione di maggiore biomassa, sostenuta dalla maggior quantità di nutrienti presente nei mari a causa degli sversamenti umani.

Le fioriture algali marine sono raggruppabili in tre categorie fondamentali, legate agli effetti prodotti sull'ambiente circostante: le prime due sono note agli uomini da secoli, e riguardano la produzione di tossine con passaggio di queste all'uomo direttamente o indirettamente tramite la concentrazione negli alimenti ittici, oppure la semplice e innocua colorazione dell'acqua, ma con eventuali morie di pesci per consumo dell'ossigeno disponibile durante il declino delle fioriture (es. *Noctiluca scintillans* o *Schrippersiella trochoidea*).

La terza categoria è stata indagata relativamente da poco, e riguarda le specie che producono tossine apparentemente dannose solo per i pesci, di cui procurano la morte ad esempio per danneggiamento delle cellule branchiali (come *Prymnesium patelliferum* o *Prymnesium parvum*). Questa categoria è stata individuata a seguito del crescente interesse economico per l'itticoltura intensiva.

Naturalmente la prima categoria, a causa dei risvolti sanitari sulla salute umana, sulla pesca commerciale, sulla ricreazione e sul turismo, è in assoluto la più studiata. È stato calcolato che nei soli Stati Uniti una stima conservativa dei danni per un impatto economico totale ammonta a 50 milioni di dollari all'anno.

Le caratteristiche delle fioriture algali intense, che cambiano colore alle acque, per intendersi, sono profondamente diverse da quelle delle fioriture "stagionali" tipiche delle coste oligotrofiche. Le seconde sono composte in genere dalle classi (es. Diatomee, ecc.) e non sono mai monospecifiche, ma esprimono una grande varietà di generi nell'ambito di una classe o di una divisione. Anche il contenuto medio di clorofilla *a* è basso.

Inoltre, non tutte le specie tossiche marine raggiungono durante le fioriture valori numerici ragguardevoli: il ruolo nocivo che rivestono può venire rapidamente garantito dalla concentrazione delle tossine nei tessuti dei molluschi eduli filtratori, che si nutrono di plancton.

Esempio classico sono le specie del genere *Dinophysis*, quasi tutte tossiche, che raggiungono valori di guardia già a 200 cellule per litro. In paesi come la Francia la semplice rilevazione di

queste specie in mare porta al bando delle vendite dei molluschi di allevamento nel tratto di costa interessato.

Le famiglie tossiche maggiormente diffuse sono quelle delle PSP (*Paralytic Shellfish Poisoning* o avvelenamento paralizzante da molluschi), prodotte dalle specie di dinoflagellati *Alexandrium catenella*, *A. fundyense*, *A. minutum*, *A. fraterculus*; dalle NSP (*Neurologic Shellfish Poisoning* o avvelenamento neurologico da molluschi, 3 molecole dette brevetossine) prodotte da *Gymnodinium breve* (ora *Karenia brevis*), *Fibrocapsa japonica*, *Heterosigma hakashiwo*, *Chattonella marina*; dalle DSP (*Diarrhetic Shellfish Poisoning* o avvelenamento diarroico da molluschi) prodotte da *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *D. fortii*, *D. norvegica* e molte altre *Dinophysis*, oltre che da varie specie del genere *Prorocentrum*. Altre tossine di minore frequenza appartenenti a questa famiglia sono le pectenotossine (9 molecole), prodotte da *Dinophysis fortii* e *Dinophysis acuta*; le yessotossine (7 molecole) prodotte da *Protoceratium reticulatum* (ex *Gonyaulax grindleyi*) con l'eccezione della homoyessotossina prodotta da *Lingulodinium polyedrum*.

Tipica delle isole del Pacifico è la famiglia della ciguatera, prodotta da *Gambierdiscus toxicus*, varie specie del genere *Ostreopsis* e del genere *Coolia*; caratteristica (per ora) delle fredde acque dell'Atlantico settentrionale sono la famiglia dell'ASP (*Amnesic Shellfish Poisoning*), ritrovata anche nel Mediterraneo e prodotta da *Pseudonitzschia pseudodelicatissima*, *P. delicatissima*, *P. pungens*; gli azaspiracidi (5 molecole) prodotti da *Protopeidinium crassipes*; gli spirolidi (2 molecole), prodotti da *Alexandrium ostenfeldii*, e le gimnodimine (finora 1 molecola).

La maggior parte delle tossine algali marine interferisce con la conduzione elettrica dei neuroni, provocando cambiamenti nella concentrazione degli ioni sodio e calcio.

La famiglia chimica del PSP comprende 12 composti guanidinici eterociclici: la saxitossina, la neosaxitossina, la tetrodotossina e le gonyautossine 1, 2, 3, 4, b1, b2, c1, c2, c3 e c4. Gran parte di queste ultime molecole in realtà sono prodotti di demolizione della saxitossina e della neosaxitossina.

La saxitossina, come gli altri composti, agisce mediante un blocco nella conduzione degli assoni neuronali, legandosi al canale del sodio e bloccando il flusso dello ione nelle e dalle cellule nervose e muscolari. La sua LD50 va da 7 a 16 µg/kg di peso corporeo. I sintomi più lievi si manifestano entro 30 minuti con pizzicore o insensibilità dalle labbra fino al viso e al collo; prurito alle dita dei piedi e delle mani; mal di testa; irrequietezza; diarrea; vomito e dolore addominale.

I sintomi più gravi possono comportare paralisi muscolare, difficoltà respiratorie, sensazione di soffocamento; la morte per paralisi può intervenire da 2 a 24 ore dalla ingestione.

I possibili trattamenti medici dell'intossicazione comprendono la lavanda gastrica e se necessario la respirazione artificiale mediante intubazione; è importante non somministrare rilassanti.

Le tossine dell'NSP sono le brevetossine 1, 2 e 3. Agiscono legandosi sempre sul canale del sodio, ma ad un sito diverso rispetto a quello della saxitossina, causando un effetto opposto e antagonista.

I maggiori componenti della famiglia del DSP sono l'acido ocadaico e le dinofisitossine 1, 2 e 3. Il sito di attacco e il bersaglio biochimico all'interno della cellula sono gli stessi delle microcistine dell'acqua dolce, anche se la struttura delle molecole è molto più complessa. Di questa famiglia fanno parte anche le pectenotossine, lattoni polieterici (macrolidi) e le yessotossine, isolati per la prima volta dal mollusco *Patinopecten yessoensis*. Queste tossine, al contrario delle dinofisitossine, non causano diarrea, e sono responsabili di danni cellulari, come dimostrano la riduzione di numero e perdita di struttura dei microtubuli cellulari osservata negli epatociti di topo. L'ultimo gruppo della famiglia è quello del prorocentrolide, un polietere

ciclico prodotto dalla Dinoficea *Prorocentrum lima*, con una LD50 di 400 µg/kg di peso corporeo.

I sintomi causati dall'avvelenamento acuto da DSP sono costituiti nelle forme lievi da una leggera gastroenterite, mentre nelle forme gravi da diarrea, vomito e dolori addominali. Questi ultimi sintomi si instaurano da mezz'ora a poche ore (raramente più di 12) dall'ingestione di molluschi contaminati. Il trattamento medico in caso di intossicazione acuta prescrive il ricovero in ospedale dopo 3 giorni di mancata risposta alle cure mediche.

L'esposizione cronica a queste tossine può promuovere la formazione di tumori nell'apparato digerente.

Responsabile dell'ASP è l'acido domoico, analogo dell'aminoacido glutammico con affinità 300 volte superiore per lo stesso recettore. La molecola e i suoi sette isomeri attualmente noti si legano ai recettori del glutammato sui neuroni del sistema nervoso centrale, causando una depolarizzazione protratta con degenerazione cellulare e morte. L'effetto patologico più caratteristico e terrificante causato dalle intossicazioni gravi è la perdita della memoria a breve termine, per le lesioni nell'ippocampo dove abbondano questi recettori. Oltre a ciò sono presenti una reazione diminuita al dolore profondo, irrequietezza, allucinazioni e confusione. In caso di intossicazione lieve dopo 3 o 5 ore si instaurano nausea, vomito, diarrea e crampi addominali.

Le ciguatossine sono una famiglia di composti polieteri ciclici solubili responsabili della sindrome della ciguatera (LD50 da 0,25 a 4 µg/kg *intra peritoneo* nel topo) che agiscono come agenti eccitatori per attivazione ripetuta degli assoni nervosi.

Il sito di legame sul bersaglio biochimico è accanto a quello delle brevetossine, e di fatto un composto del gruppo recentemente isolato (il gambierolo) è praticamente identico a queste neurotossine. La loro produzione è comune a parecchie specie algali di dinoflagellati bentonici o epifiti su macroalghe della barriera corallina. Per questa via, attraverso gli erbivori di barriera e i loro predatori, viene innescato il fenomeno della magnificazione biologica che porta attraverso trenta e più specie ittiche ai consumatori umani. L'avvelenamento acuto è raramente mortale; i sintomi sono a rapida insorgenza e comprendono manifestazioni neurologiche come parestesia e inversione di sensibilità al calore; manifestazioni gastrointestinali con diarrea e dolori addominali; e manifestazioni cardiologiche con bradicardia, ipotensione e a volte tachicardia. Altri sintomi a volte presenti sono debolezza, disuria, reazioni cutanee, gusto metallico ecc.

Un altro noto composto del gruppo della ciguatera è la maitotossina. La molecola è un polietere idrosolubile, prodotto dagli stessi dinoflagellati delle ciguatossine e soggetto a magnificazione biologica tramite la catena alimentare.

La sua azione contribuisce alla sindrome da ciguatera con i sintomi di parestesia e con disturbi neurologici e gastrointestinali. L'azione neuronale si effettua tramite l'esaltazione dell'ingresso dello ione calcio in una varietà di cellule, probabilmente attraverso un meccanismo recettore-ione Ca^{2+} guidato; la molecola comunque può interagire allostericamente con canali del calcio di tipo L.

Numerose specie di alghe tossiche sono diffuse lungo le coste italiane, ma attualmente le fioriture segnalate riguardano specie del genere *Dinophysis*, con contaminazioni ricorrenti di molluschi lungo le coste adriatiche, e da pochi anni specie dei generi *Ostreopsis*, *Fibrocapsa* e *Chattonella*, sia nel Tirreno che nell'Adriatico. Mentre gli ultimi due formano fioriture planctoniche, il primo è un genere bentonico, e raggiunge concentrazioni apprezzabili nella colonna d'acqua solo dopo aver ricoperto i fondali rocciosi che ne costituiscono l'habitat. È interessante esaminare le circostanze delle fioriture riguardanti quest'ultimo genere. Da circa sei anni si sono verificate pressoché contemporaneamente in Liguria, in provincia di La Spezia, nel Lazio, intorno al promontorio del Circeo, e in Puglia, lungo le coste della provincia di Bari.

Mentre per gli altri due generi il collegamento con segnalazioni di fastidi dermatologici nei bagnanti non è chiaro, per quanto riguarda il genere *Ostreopsis* la comparsa delle fioriture è

immediatamente seguita da estesi danni alle faune bentonica e ittica stanziale, con dermatiti nei bagnanti, difficoltà respiratorie, attacchi febbrili e similasmatici non solo nelle persone a contatto con l'acqua, ma anche nei semplici passanti sui lungomare o sulle spiagge che costeggiano una fioritura.

Le caratteristiche ecologiche di questo genere richiedono acque eutrofiche: per la crescita sono necessarie luce e temperatura elevate (temperatura ottimale 26 °C), acque costiere calde e trasparenti, poca o nessuna turbolenza, alta pressione atmosferica e naturalmente elevate concentrazioni di azoto e fosforo. Il genere è originario dei tropici e conta nove specie, di cui alcune planctoniche ma la maggior parte bentoniche ed epifite su macroalghe brune o rosse, alcune delle quali ne stimolano la crescita mediante rilascio di composti lipofili. L'identificazione morfologica viene effettuata al microscopio ottico, con l'eventuale ausilio dell'elettronico a scansione. Delle nove specie identificate sei sono tossiche:

- *Ostreopsis siamensis*, bentonica, epifita anche di sedimenti, diffusa nel Mar dei Caraibi;
- *O. lenticularis*, bentonica, epifita o planctonica in associazione con *Dictyota* e *Acanthophora spicifera*;
- *O. ovata*, bentonica, epifita o planctonica;
- *O. heptagona*, epifita o planctonica;
- *O. mascarenensis*, planctonica;
- *O. labens*, planctonica o epifita.

Tabella 1. Specie tossiche con relative tossine ed effetti rilevati

Specie	Tossina	Effetto tossico
<i>O. siamensis</i>	Ostreocina-D	Emolitico
<i>O. lenticularis</i>	Ostretossina	Neurotossico
<i>O. ovata</i>	sconosciuta	Emolitico
<i>O. heptagona</i>	sconosciuta	-
<i>O. mascarenensis</i>	Maitotossina	Neurotossico
<i>O. labens</i>	sconosciuta	-

Le fioriture di *O. lenticularis* e *O. ovata* segnalate in Italia sono basate prevalentemente sulla conta nella colonna d'acqua, e non eccedono le poche migliaia di cellule/litro. A queste nuove caratteristiche non sono adattabili i limiti fissati dalla circolare del Ministero della Salute sulla balneazione, che fissa l'interdizione delle acque marine oltre i 10 milioni di cellule/litro.

È fondamentale perciò da parte degli organi di controllo la conoscenza delle caratteristiche ecologiche e tossicologiche delle specie che interessano i propri territori, al fine di prevenire le conseguenze ambientali e sanitarie delle loro fioriture.

Quasi tutte le alghe unicellulari, in condizioni avverse, hanno la capacità di formare cisti di resistenza che cadono sul fondo e resistono anche anni in condizioni di quiescenza finché la situazione ambientale non torna favorevole. Le cisti presentano parete cellulare ispessita, nessuna assimilazione di nutrienti, e possono affrontare il trasporto passivo in nuove acque.

Le specie algali viaggiano usualmente sotto forma di cisti di resistenza nelle stive vuote delle navi da carico riempite di acqua di mare per stabilizzare la portanza.

Il meccanismo di trasferimento è semplice: il cargo raggiunge un porto tropicale dove effettua lo scarico delle merci e assume acqua marina per equilibrare le stive vuote. Ritorna quindi al porto di carico, dove svuota le stive dall'acqua e carica le nuove merci.

In questo modo specie tropicali o polari possono ritrovarsi in latitudini temperate, e se le condizioni ambientali sono abbastanza favorevoli, il risultato può essere l'impianto della nuova specie.

Da un'indagine australiana del 1973 risulta che almeno tre specie di dinoflagellati tossici, *Alexandrium catenella*, *Alexandrium tamarense* e *Gymnodinium catenatum*, sono arrivati nelle acque costiere australiane in questo modo. Dai dati del rapporto 2003 "America's living oceans" della Commissione Oceanografica Pew, dal 1790 al 1999 si registrano complessivamente 374 specie estranee di invertebrati e alghe marine nella zona costiera americana, di cui 180 negli ultimi 35 anni. Grandissima parte di queste specie è arrivata nei nuovi territori trasportata da navi, o al seguito di partite di avannotti destinati all'acquacoltura.

La sterilizzazione delle acque di stiva è perciò uno dei più recenti problemi posti dalla moderna oceanologia. I metodi sperimentati comprendono sistemi fisici come l'assunzione di acqua oceanica, perché in quella portuale, più calda, facilmente possono svilupparsi fioriture; la certificazione dell'assenza di organismi tossici nelle acque dei porti di scarico; l'utilizzo delle acque portuali su basi stagionali, in assenza di fioriture; un viaggio più lungo delle navi da carico, che causi la morte degli stadi vegetativi in assenza di luce; il controllo o la filtrazione delle acque di stiva; la ideazione di un danno meccanico durante il pompaggio. Alcune di queste soluzioni sono svantaggiose rispetto all'attività commerciale delle navi, altre sono poco proponibili economicamente.

Altri metodi per uccidere le cisti sono costituiti dall'utilizzo di luce ultravioletta e ultrasuoni, dall'uso di scariche elettriche ogni 5 secondi, da trattamenti ad alta temperatura, dalla riduzione dei livelli di ossigeno disciolto, dal trattamento con H₂O₂ (100 mg/L x 96h), dalla clorazione, dall'elettrolisi o dall'uso di varie altre sostanze chimiche. Questi sistemi incidono economicamente in ragione della capacità delle stive, ma in maggioranza permettono di rispettare i tempi di viaggio.

Considerato che l'origine del problema è per lo più in paesi del terzo mondo le cui economie non possono facilmente tutelare l'ambiente, né finanziare provvedimenti biocidi come quelli descritti, l'*International Maritime Organisation* (IMO), l'organismo internazionale che tra l'altro promulga le linee guida per il controllo e la gestione delle acque di zavorra delle navi, ha lanciato nel 2001 il *Global Ballast Water Management Program*, un programma di assistenza a sei paesi in via di sviluppo (Cina, Sud Africa, India, Ucraina, Iran e Brasile) per l'assunzione di misure efficaci contro l'introduzione di specie estranee in latitudini diverse.

Le fioriture tossiche marine costituiscono un serio pericolo anche per le attività di acquicoltura praticate assiduamente nei paesi dell'Estremo Oriente: le gabbie galleggianti, infatti, non permettono la fuga dei pesci allevati all'avvicinarsi delle biomasse tossiche, come avviene normalmente per l'ittiofauna selvatica. Il risultato è la perdita totale degli allevamenti a meno di non rimorchiare le gabbie in acque indenni, misura possibile solo se la fioritura viene segnalata per tempo.

Per questo motivo, e per il rischio di danno ai bagnanti e di contaminazione mortale dei molluschi eduli, una importante parte delle ricerche moderne si sta occupando di sviluppare sistemi di rilevazione sempre più rapidi, efficienti e globali per permettere valide contromisure nella gestione del rischio.

Le strategie di controllo in questo senso si esplicano fondamentalmente come monitoraggio fitoplanctonico su campo e come monitoraggio via satellite.

La prima prevede campagne di campionamento continue e regolari con analisi chimiche, biologiche e tossicologiche ad ampio spettro per delineare la portata e la durata delle fioriture tossiche; malgrado l'impegno continuato di mezzi e personale questa rimane ancora la migliore pianificazione di prevenzione e gestione del rischio attualmente disponibile.

La seconda strategia prevede l'utilizzo di tecnologie satellitari di *remote sensing* create originariamente per lo spionaggio bellico.

Una immagine satellitare copre grandi aree geografiche, e serie di immagini in successione nel tempo possono essere ottenute facilmente. Inoltre, l'informazione registrata da un'immagine satellitare può fornire analisi quantitative obiettive.

Numerosi gruppi di ricerca hanno evidenziato come l'energia retrodiffusa da un corpo idrico nelle diverse lunghezze d'onda dello spettro elettromagnetico (principalmente nella parte del visibile e dell'infrarosso vicino, tra 380 e 900 nm) porti con sé informazioni sulle concentrazioni di fitoplancton, di sedimento solido sospeso e sostanze organiche disciolte. Questi parametri otticamente attivi sono responsabili della colorazione delle acque.

Previa una correlazione statistica tra la radianza misurata dal satellite e la concentrazione dei parametri chimico-fisici nelle acque, si possono elaborare equazioni di trasporto radiativo tra le concentrazioni dei parametri e la radianza emergente dalla colonna d'acqua mediata dall'atmosfera. A questo punto è possibile una lettura diretta delle condizioni del corpo idrico.

Questa promettente tecnologia è attualmente sperimentata da vari anni sulle acque marine e oceaniche con i progetti SEAWIFT, AVHRR (*Advanced Very High Resolution Radiometers*), e NEMO.

Le rilevazioni satellitari permettono di acquisire dati sull'eutrofizzazione, sul dilavamento di sostanza organica disciolta, sulla clorofilla, sui cambi nell'abbondanza del seston e sugli effetti per l'acquicoltura. Tramite satellite è stato possibile rilevare l'entità e la durata di fioriture tossiche di *Karenia brevis* (ex *Gymnodinium breve*) lungo le coste della Carolina del Nord e della Florida, fioriture di *Alexandrium* spp. nel golfo del Maine, fioriture lungo le coste dell'alto Adriatico nel 1991 e l'aumento globale delle fioriture algali nel mondo dall'estate 1997 all'estate 1999 (dati da progetto SEAWIFT).

Dalla scoperta delle fioriture algali tossiche innumerevoli sono stati i tentativi per contrastarne gli effetti sull'ambiente e sull'uomo. Le attuali linee di condotta per quanto riguarda le coste marine comprendono sistemi di trattamento sintomatico come la flocculazione delle biomasse algali con argilla, sperimentata in Giappone e Sud Corea, l'uso di batteri ambientali e la coltivazione su vasta scala di macroalghe per la rimozione dei nutrienti che favoriscono lo sviluppo delle fioriture lungo le coste.

Un capitolo a parte merita il problema delle intossicazioni e dermatiti nei bagnanti lungo i tratti di costa affetti da fioriture tossiche. Durante questi episodi una parte dei bagnanti coinvolti, con patologie più gravi, si rivolge ai locali presidi sanitari d'urgenza mentre la maggior parte si riferisce al medico di famiglia, o non si reca affatto dal medico, smaltendo a casa l'intossicazione.

In questo modo diventa difficile avere un'idea chiara delle dimensioni dei fenomeni sanitari e del reale impatto sulla popolazione bagnante. A ciò si aggiunge l'inesperienza medica dei presidi d'urgenza sulle intossicazioni da tossine algali e sull'epidemiologia relativa, con la concreta possibilità di equivoco sulle patologie e di mancata assistenza medica adeguata.

Il modo più valido per risolvere questo problema si sta dimostrando lo sviluppo di sistemi di informazione medica contro la mancanza di esperienza professionale medica ed epidemiologica, con l'istituzione di corsi di addestramento e l'apertura di siti medici web sulle tossine algali, come è stato sperimentato con successo a Singapore nel 2001.

Considerati i problemi che seguono l'instaurarsi delle fioriture algali e le difficoltà della loro eradicazione, è evidente l'importanza della prevenzione e della corretta gestione dell'ecologia acquatica sia lungo le coste che in mare aperto.

La Commissione Oceanografica Pew ha elaborato nel rapporto del 2003 quattro linee di condotta principali che ha proposto per contrastare l'aumento globale del livello trofico degli

oceani, e che possono senza dubbio essere fatte oggetto di un codice internazionale di comportamento dei governi di paesi rivieraschi.

Le linee di condotta comprendono un concetto di gestione basato sulla difesa dell'ecosistema, la dichiarazione generale di habitat critico per le coste e un conseguente uso intelligente delle stesse; la definizione di standard nazionali che fissino limiti all'inquinamento dei nutrienti lungo le coste e il perseguimento dell'armonia tra questi standard e le ulteriori riduzioni degli inquinanti tossici.

Bibliografia di riferimento

Per la ciguatera

Anderson DM, Lobel PS. The continuing enigma of ciguatera. *Biol Bull* 1987;172:89-107.

Anderson DM. Red Tides. *Sci Amb* 1994;271:52-8.

Armstrong RW, Beau JM, Cheon SH, Christ WJ, Fujioka H. Total Synthesis of Palytoxin Carboxylic Acid and Palytoxin Amide. *J Amer Chem Soc* 1989;111:7530-3.

Ballantine DL, Tosteson TR, Bardales AT. Population dynamics and toxicity of natural populations of benthic dinoflagellates in southwestern Puerto Rico. *J Exp Mar Biol Ecol* 1988;119:201-12.

Bagnis R, Bennett J, Prieur C, Legrand AM. The dynamics of three toxic benthic dinoflagellates and the toxicity of ciguateric surgeonfish in French Polynesia. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (Ed.). *Toxic Dinoflagellates*. New York: Elsevier Scientific; 1985. p. 177-82.

Banner AH, Scheuer PJ, Sasaki S, Helfrich P, Alender CB. Observation on ciguatera-type toxin in fish. *Ann N Y Acad Sci* 1960;90:770.

Besada EG, Loeblich LA, Loeblich III AR. Observations on tropical, benthic dinoflagellates from ciguatera-endemic areas: *Coolia*, *Gambierdiscus*, and *Ostreopsis*. *Bulletin of Marine Science* 1982;32(3):723-5.

Blythe DG, De Sylva DP. Mothers milk turns toxic following feast. *JAMA* 1990;264:2074.

Bomber JW, Norris DR, Mitchell LE. Benthic dinoflagellates associated with ciguatera from the Florida Keys. Temporal, spatial and substrate heterogeneity of *Prorocentrum lima*. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (Ed.). *Toxic Dinoflagellates*. New York: Elsevier Scientific; 1985. p. 45-50.

Bomber JW, Aikman KE. The ciguatera dinoflagellates. *Biol Oceanogr* 1989;6:291-311.

Carlson RD. Distribution, periodicity and culture of benthic/epiphytic dinoflagellates in a ciguatera endemic region of the Caribbean. *Ph.D. Thesis*, Southern Illinois University: Carbondale; 1984. p. 1-308.

Carlson RD, Tindall DR. Distribution and periodicity of dinoflagellates in the Virgin Islands. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (Ed.). *Toxic Dinoflagellates*. New York: Elsevier Scientific; 1985. p. 171-6.

Chang FH, Shimizu Y, Hay B, Stewart R, Mackay G, Tasker R. Three recently recorded *Ostreopsis* spp. (Dinophyceae) in New Zealand: temporal and regional distribution in the upper North Island from 1995 to 1997. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 2000;34:29-39.

Chungue E, Bagnis N, Fusetani N, Hashimoto Y. The toxin complex from the parrotfish. *Biochimie* 1979;59:739-41.

Crump JA, McLay CL, Chambers ST. Ciguatera fish poisoning. *N Z Med J* 1999;112:282-3.

DeJong L, Admiraal W. Competition between three estuarine benthic diatom species in mixed cultures. *Mar Ecol* 1984;18:269-75.

- Dickey RW, Bencsath FA. Chemical characterization of toxic constituents of the marine dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis*. In: Smayda TJ, Shimuzu Y (Ed.). *Proceedings of the 5th International Conference on Toxic Marine Phytoplankton*. Newport, Rhode Island, 28 October-1 November 1991. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1993. p.35.
- Eastaugh JA. Delayed use of intravenous mannitol in ciguatera (fish poisoning). *Ann Emerg Med* 1996;28:105-6.
- Faust MA, Morton SL. Morphology and ecology of the marine dinoflagellate *Ostreopsis labens* sp. nov. (Dinophyceae). *J Phycol* 1995;31:456-63.
- Faust MA, Morton SL, Quod JP. Further SEM study of marine dinoflagellates: The genus *Ostreopsis* (Dinophyceae). *J Phycol* 1996;32:1053-65.
- Faust MA. Three new *Ostreopsis* species (Dinophyceae): *O. marinus* sp. nov., *O. belizeanus* sp. nov. and *O. caribbeanus* sp. nov. *Phycologia* 1999;38:92-9.
- Fukuyo Y. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 1981;47:967-78.
- Gentien P, Arzul G. Exotoxin production by *Gyrodinium aureolum* (dinophyceae). *J Mar Biol Assoc* 1990;70:571-81.
- Grzebik D, Berland B, Thomassin B, Bosi C, Arnoux A. Ecology of ciguateric dinoflagellates in the coral reef complex of Mayotte Island (SW Indian Ocean). *J Exp Mar Biol* 1994;178:51-66.
- Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD, Enevoldsen HO (Ed.). *Manual on harmful marine microalgae*. Paris: IOC of UNESCO; 1995.
- Hamilton B, Lewis R, Chiwell B, Moore M, Jones AI. Analytical detection of ciguatoxins-methodology development. In: Hallegraeff G, Blackburn S, Bolch CJ, Lewis RJ (Ed.). *Proceedings of Harmful algal blooms 9th Conference*. Hobart, Tasmania, Australia, 6-11 febbraio 2000. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO; 2001. p.552.
- Heil CA, Maranda L, Yuzuru S. Mucus-associated dinoflagellates: large scale culturing and estimation of growth rate. *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea* 1993;501-6.
- Hirama M, Oishi T, Uehara H, Inoue M, Maruyama M, Oguri H, Satake M. Total synthesis of ciguatoxin CTX3C. *Science* 2001;294:1904-7.
- Hodama AM, Hokama Y, Yasumoto T. Short Communication. Clinical and laboratory findings implication palitoxin as a cause of ciguatera poisoning due to *Decapтерus macrösoma* (meckerel). *Toxicon* 1989;27:1051-2.
- Hokama Y, Abad MA, Kimuar LH. A rapid enzyme-immunoassay for the detection of ciguatoxin in contaminated fish tissues. *Toxicon* 1983;21(6):817-24.
- Hokama Y, Smith S. Review: Immunological Assessment of marine Toxins. *Food & Agric Immunol* 1990;2:99-105.
- Holmes MJ, Gillespie NC, Lewis RJ. Toxicity and morphology of *Ostreopsis siamensis* cultured from a ciguatera endemic region of Queensland, Australia. *Proceedings 6th International Coral Reef Symposium* Townsville, Australia, 1988;3:49-54.
- Holmes CFB. Liquid chromatography-linked protein phosphatase bioassay: a highly sensitive marine bioscreen for okadaic acid and related diarrhetic shellfish toxins. *Toxicon* 1991;29:469-77.
- Juranovic LR, Park DL. Food borne toxins of marine origin: ciguatera. *Rev Environ Contam Toxicol* 1991;117:51-94.
- Lehane L, Lewis RJ. Ciguatera: recent advances but the risk remains. *Int J Food Microbiol* 2000;61:91-125.
- Lee JS, Igarashi T, Fraga S, Dahl E, Hovgaard P, Yasumoto T. Determination of diarrhetic shellfish toxins in various dinoflagellate species. *Journal of Applied Phycology* 1989;1:147-52.

- Lewis RJ, Sellin M, Poli MA, Norton RS, Macleod JK, Sheil MM. Purification and characterization of ciguatoxins from moray eel (*Lycodontis javanicus*, Muraenidae). *Toxicon* 1991;29:1115-27.
- Lewis RJ, Holmes MJ. Origin and transfer of toxins involved in ciguatera. *Comp Biochem Physiol* 1993;106:615-28.
- Lewis RJ, Ruff TA. Ciguatera: Ecological, clinical, and socioeconomics perspectives. *Environ Sci Technol* 1993;106:615-28.
- Loeblich III A. A seawater medium for dinoflagellates and the nutrition of *Cachonina niei*. *J Phycol* 1975;11:80-6.
- Maestrini SY, Bonini DJ. Allelopathic relationships between phytoplankton species. *Can Bull Fish Aquat Sci* 1981;210:323-38.
- Mattei C, Molgo J, Marquais M, Vernoux J, Benoit E. Hyperosmolar d-mannitol reverses the increased membrane excitability and the nodal swelling caused by Caribbean ciguatoxin-1 in single frog myelinated axons. *Brain Res* 1999;847:50-8.
- Mercado JA, Viera M, Tosteson TR, Gonzales I, Silva W, Escalona de Motta G. Differences in the toxicity and biological activity of *Ostreopsis lenticularis* observed using different extraction procedures. In: Lassus P, Arzul G, Erard E, Gentien P, Le Baut CM (Ed.). *Harmful Marine Algal Blooms*. Paris: Lavoisier Paris;1995. p.321-6.
- Meunier FA, Mercado JA, Molgo J, Tosteson TR, Gotta GE. Selective depolarization of the muscle membrane in frog nerve-muscle preparations by a chromatographically purified extract of the dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis*. *Brit J Pharmacol* 1997;121:1224-30.
- Moore RE, Scheuer PJ. Palytoxin: a new marine toxin from a coelenterate. *Science* 1971;172:495-8.
- Moore RE. Structure of palytoxin. *Fortschr. Chem Org Naturst* 1985;48:81-202.
- Morton SL, Faust MA. Survey of toxic epiphytic dinoflagellates from the Belizean barrier reef ecosystem. *Bull Mar Sci* 1998;61:899-906.
- Murata M, Legrand AM, Ishibashi Y, Yasumoto T. Structures of ciguatoxin and its congener. *J Am Chem Soc* 1989;111:8929-31.
- Murata M, Legrand AM, Ishibashi Y, Yasumoto T. Structure and configurations of ciguatoxin from the moray eel *Gymnothorax javanicus* and its likely precursor from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *J Am Chem Soc* 1990;112:4380-86.
- Nakajima I, Oshima Y, Yasumoto T. Toxicity of benthic dinoflagellates in Okinawa. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 1981;47:1029-33.
- Narayan Y. Fish poisonings in Fiji. *Fiji Med J* 1980;8:567.
- Norris DR, Bomber JW, Balech E.. Benthic dinoflagellates associated with ciguatera from the Florida Keys. I. *Ostreopsis heptagona* sp. nov. In: Anderson DM, White AW, Baden DG (Ed.). *Toxic Dinoflagellates*, New York: Elsevier Science Publ. Co.;1985. p. 39-44.
- Pearn J, Harvey P, De Ambrosis W, Lewis R, McKay R. Ciguatera and pregnancy. *Med J Aust* 1982;1:57-8.
- Perez CM, Vasquez PA, Perret CF. Treatment of ciguatera poisoning with gabapentin. *N Eng. J Med* 2001;344:692-3.
- Quod JP. *Ostreopsis mascarenensis* sp. nov. (Dinophyceae), dinoflagelles toxiques associes a la ciguatera dans l'Ocean Indien. *Rev Cryptogamie Algal* 1994;15:243-51.
- Rayner MD. Mode of action of ciguatoxin. *Fed Proc* 1972;31:1139.
- Rizzi E, Casavola N, Perillo A, Troncone A, Cabrini M. From the Tropics to the Adriatic: *Coolia monotis* Meunier, *Ostreopsis lenticularis* Fukuyo and *Prorocentrum mexicanum* Tafall, toxic algae in seawater and marine organisms along the coast of the province of Bari. XXXIV Congresso Società Italiana di Biogeografia Ischia 21-24 ottobre 2002. *Biogeographia*. (In press).

- Russel FE, Egen NB. Ciguateric fishes, ciguatoxin (CTX) and ciguatera poisoning. *J Toxicol* 1991;10(1):37-62.
- Sanson G, Borghini B, Camici G, Casotti M, Righini P, Rustighi C. Fioriture algali di *Ostreopsis ovata* (Gonyaulacales: Dinophyceae): un problema emergente. *Biologia ambientale* 2003;17(1):17-23.
- Satake M, Ishida S, Yasumoto T, Murata M, Utsumi H, Hinomoto T. Structural confirmation of maitotoxin on the basis of complete ¹³C NMR assignments and three-dimensional PFG NOESY-HMQC spectrum. *J Am Chem Soc* 1995;117:7019-20.
- Scheuer PJ. Some marine ecological phenomena: chemical basis and biomedical potential. *Science* 1990;248:173-7.
- Schmidt J. Flora of Koh Chang. Contribution to the knowledge of the vegetation in the Gulf of Siam. Part IV. Peridinales. *J Botanique* 1902;23:212-8.
- Shimizu Y. Complete structure of palytoxin elucidated. *Nature* 1983 ;302:212.
- Senecal, P.E., Osterloh, J.D. 1991. Normal fetal outcome after maternal ciguateric toxin exposure in the second trimester. *Clin. Toxicol.* 29: 473-8.
- Steidinger KA, Tangen K. Dinoflagellates. In: Tomas CR (Ed.). *Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*. New York: Academic Press; 1996. p.387-598.
- Sugg LM, VanDolah FM. No evidence for an allelopathic role of okadaic acid among ciguatera-associated dinoflagellates. *J Phycol* 1999;35:93-103.
- Swift AEB, Swift TR. Ciguatera. *Clin Toxicol* 1993;31:1-29.
- Taylor DL, Seliger HH. *Toxic Dinoflagellate Blooms*. New York: Elsevier; 1979.
- Terao KK, Ito E, Yasumoto T. Light and electron microscopic observation of experimental palytoxin poisoning in mice. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* 1992;85(5 Pt 2):494-6.
- Tindall DR, Dickey RW, Carlson RD, Morey-Gaines G. Ciguatoxicogenic dinoflagellates from the Caribbean Sea. In: Ragelis EP (Ed.). *Seafood Toxins. Am Chem Soc Symposium Ser Washington, DC* 1984;262:225-40.
- Tindall DR, Miller DM, Tindall PM. Toxicity of *Ostreopsis lenticularis* from the British and United States Virgin Islands. In: Graneli E, Sundstrom B, Edler L, Anderson DM (Ed.). *Toxic Marine Phytoplankton* New York: Elsevier; 1990. p. 424-9.
- Thoman M. Ciguatera in a breastfed baby. *Vet Hum Toxicol* 1989;31:71.
- Tognetto L, Bellato S, Moro I, Andreoli C. Occurrence of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae) in the Tyrrhenian Sea during summer 1994. *Botanica marina* 1995;38:291-5.
- Tosteson TR, Ballantine DL, Tosteson AT, Durst HD, Higerd CB. Comparative toxicity of *Gambierdiscus toxicus*, *Ostreopsis* c.f. *lenticularis*, and associated microflora. *Marine Fisheries Review* 1986;48:57-9.
- Tosteson T.R. The diversity and origins of toxins in ciguatera fish poisoning. *P R Health Sci J* 1995;14:117-28.
- Trainer VL, Edwards RA, Szmant AM, Stuart AM, Mende TJ, Baden DG. Brevetoxins: unique activators of voltage-sensitive sodium channels. In: Hall S, Strichartz GR (Ed.). *Marine Toxins Origin, Structure, and Molecular Pharmacology* Washington DC American Chemical Society 1990. p.166-75.
- Ukena T, Satake M, Usami M, Oshima Y, Naoki H, Fujita T, Kan Y, Yasumoto T. Structure elucidation of Ostreocin D, a palytoxin analog isolated from the dinoflagellate *Ostreopsis siamensis*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 2001;65:2585-8.
- Tu AT (Ed.). *Marine Toxins and Venoms. Handbook of Natural Toxins*. New York: Marcel Dekker Inc; 1988. p. 587.

Usami M, Satake M, Ishida S, Inoue A, Kan Y, Yasumoto T. Palytoxin analogs from the dinoflagellate *Ostreopsis siamensis*. *J Am Chem Soc* 1995;117:5389-90.

Van Dolah FM. Marine Algal toxins: origins, health effects and their increased occurrence. *Environmental Health Perspectives* 2000;108(1):133-41

Yasumoto T, Hashimoto Y, Bagnis R, Randall JE, Banner AH. Toxicity of surgeonfishes. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 1971;37:724.

Yasumoto T, Nakajima I, Bagnis R, Adachi R. Finding of a dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 1977;43:1021-6.

Yasumoto T, Oshima Y, Murakami I, Nakajima R, Bagnis Y, Fukuyo Y. Toxicity of benthic dinoflagellates in a coral reef. *Bull Jap Soc Sci Fish* 1980;46:327-31.

Yasumoto T, Seino N, Murakami Y, Murata M. Toxins produced by benthic dinoflagellates. *Biol Bull* 1987;172:128-31.

Yasumoto T, Satake M, Fukui M, Nagai H, Murata M, Legrand AM. A turning point in ciguatera study. In: Smayda TJ, Shimizu Y (Ed.). *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. New York: Elsevier; 1993. p. 455-61.

Yasumoto T, Satake M. Chemistry, etiology and determination methods of ciguatera toxins. *J Toxicol* 1996;15:91-107.

Per la DSP

Zhou J, Fritz L. Okadaic acid antibody localizes to chloroplasts in the DSP-producing dinoflagellates *Prorocentrum lima* and *Prorocentrum maculosum*. *Phycologia* 1994;33:455-61.

Per l'acido domoico

Costa PR Rosa R, Duarte-Silva A, Brotas V, Sampayo MA. Accumulation, transformation and tissue distribution of domoic acid, the amnesic shellfish poisoning toxin, in the common cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquatic Toxicology* 2005;74(1):82-91.

Holland PT, Selwood AI, Mountfort DO, Wilkins AL, McNabb P, Rhodes LL, Doucette GJ, Mikulski CM, King KL. Isodomoic acid C, an unusual amnesic shellfish poisoning toxin from *Pseudo-nitzschia australis*. *Chemical Research in Toxicology* 2005;18(5):814-6.

Perl TM, Bard L, Kosatsky T, Hockin JC, Todd E, Remis RS. The field epidemiologists who investigated the original 1987 outbreak report their findings. The destruction of short-term memory experienced by some of the poisoning victims is described. *New England J Med* 1990;322:1775-80.

Teitelbaum JS, Zatorre RJ, Carpenter S, Gendron D, Evans AC, Gjedde A, Cashman NR. A clinical description of the 1987 outbreak of amnesic shellfish poisoning on Prince Edward Island. *New England J Med* 1990;322:1781-7.

OSTREOPSIS SPP., COOLIA MONOTIS E PROROCENTRUM MEXICANUM IN ADRIATICO: QUALI NUOVI RISCHI?

Marina Cabrini
Laboratorio di Biologia Marina, Trieste

La problematica

Se le fioriture algali tossiche sono fenomeni del tutto naturali più volte documentati nella letteratura mondiale, negli ultimi vent'anni la salute pubblica e gli impatti economici di tali eventi sembrano essere notevolmente aumentati in frequenza, intensità e distribuzione geografica. Cinque differenti tipi di HAB (*Harmful Algal Bloom*), sono stati finora distinti, come riportato da Hallegraeff *et al.* (2003). Tra queste la tossicità CFP (*Ciguatera Fish Poisoning*) è potenzialmente causata da dinoflagellati bentonici appartenenti ai generi *Gambrdiscus*, *Coolia*, *Ostreopsis* e da alcune specie di *Prorocentrum* che causano la sindrome detta ciguatera. Questa malattia è diffusa nel mare dei Caraibi, in Australia e soprattutto nella Polinesia francese dove l'alimentazione è basata prevalentemente sul consumo di pesci carnivori che possono accumulare questa tossina attraverso la catena trofica (Lewis, 2003). I sintomi si manifestano 12-24 ore dopo aver mangiato pesce contaminato e provocano disturbi gastrointestinali, vomito, nausea, dolori addominali, difficoltà nell'equilibrio, abbassamento del ritmo cardiaco e della pressione sanguigna e, in casi estremi, morte per insufficienza respiratoria. Il rischio della diffusione della ciguatera nel mondo sta aumentando con il disturbo arrecato alla barriera corallina dovuto alla presenza dei militari, dei turisti, degli uragani e allo sbiancamento del corallo (fenomeno collegato al riscaldamento globale) (Hallegraeff, 2003).

Nei mari italiani tra le microalghe marine CFP *Coolia monotis* fu segnalata la prima volta nel 1982 nella laguna di Venezia, in corrispondenza ad ammassi di vegetazione sommersa, ma senza provocare problemi alla salute (Tolomio & Cavolo, 1985), mentre più recentemente nel 2001 la sua comparsa nel litorale barese ha causato alcuni episodi di dermatiti e problemi all'apparato respiratorio, fortunatamente non gravi, sia ai bagnanti sia in generale ai frequentatori della zona. *Ostreopsis* è una dinoficea bentonica, epifita di macroalghe rosse e brune caratteristica delle aree tropicali e subtropicali, che nell'estate 1994 fu trovata nel Tirreno con la specie *O. ovata* (Tognetto *et al.*, 1995). La specie fu ritenuta indigena, non introdotta con acque di sentina o di zavorra e mai segnalata prima essendo il suo habitat legato alla presenza delle macroalghe e per questo difficilmente liberata lungo la colonna d'acqua. Inoltre per queste sue caratteristiche la sua quantità rilevata nel microfitoplancton fu ritenuta solo indicativa di una presenza ben più elevata sul fondo quale componente epifita della comunità microfitobentonica. Successivamente la stessa specie fu ritrovata anche lungo il litorale apuano (Sansoni *et al.*, 2000) e lungo il litorale di Bari (Di Turi *et al.*, 2003; Rizzi *et al.*, 2004). Nel mare Adriatico *Prorocentrum mexicanum* fu per la prima volta rinvenuto nei campioni raccolti in prossimità del fondo e in superficie del litorale di Bari. Segnalato sinora nelle aree tropicali di tutti gli oceani, in coltura è in grado di produrre una tossina emolitica a rapida azione (Bomber & Aikman, 1988/89).

I diversi tipi di HAB possono essere così riassunti:

- PSP (*Paralytic Shellfish Poisoning*)
(esempi: i dinoflagellati *Alexandrium catenella*, *A. cohorticula*, *A. fundyense*, *A. fraterculus*, *A. leei*, *A. minutum*, *A. tamarense*, *Gymnodinium catenatum*, *Pyrodinium bahamense* var. *compressum*)
- DSP (*Diarrhetic Shellfish Poisoning*)
(esempi: i dinoflagellati *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. norvegica*, *D. mitra*, *D. rotundata*, *D. sacculus*, *Prorocentrum lima*)
- ASP (*Amnesic Shellfish Poisoning*)
(esempi: le diatomee *Pseudo-nitzschia australis*, *P. delicatissima*, *P. multiseriata*, *P. pseudodelicatissima*, *P. pungens* (alcuni ceppi), *P. seriata*)
- CFP (*Ciguatera Fish Poisoning*)
(esempi: il dinoflagellato *Gambierdiscus toxicus*, ? *Coolia* spp. ? *Ostreopsis* spp., *Prorocentrum* spp.)
- NSP (*Neurotoxic Shellfish Poisoning*)
(esempi: i dinoflagellati *Karenia brevis* (Florida), *K. papilionacea in editus*, *K. selliformis in editus*, *K. bidigitata in editus* (New Zeland))
- *Cyanobacterial toxin poisoning*
(esempi: i cianobatteri *Anabaena circinalis* (acque dolci), *Microcystis aeruginosa* (acque dolci), *Nodularia spumigena*)
- *Sindrome associata agli estuari*
(attraverso l'aerosol contenente i dinoflagellati *Pfiesteria piscicida*, *P. shumwayae*)

Area di studio e metodi

Nell'agosto 2001 nel tratto di costa compreso tra Molfetta e Polignano (Adriatico meridionale) episodi d'acque colorate causarono morie di pesci, molluschi, echinodermi e, tra i bagnanti in sosta lungo il litorale, disturbi respiratori, febbri e manifestazioni cutanee. Gli episodi si ripeterono nell'estate 2002 e in modo più evidente nell'estate 2003 e i controlli furono immediatamente effettuati dal SIA (Servizio Ittico Ambientale) che ha costantemente monitorato sia l'acqua per la determinazione di microalghe, allo scopo di individuarne l'eventuale presenza di specie tossiche, sia gli organismi marini moribondi o già morti. I risultati delle analisi del microfitoplancton sono riportati in questo stesso volume nella relazione di Casavola *et al.* L'indagine sul fitoplancton tossico ritrovato è stata estesa alla morfologia strutturale dei dinoflagellati attraverso l'utilizzo della microscopia elettronica, che ha confermato la presenza di specie potenzialmente portatrici di CFP.

Durante i tre anni sono stati raccolti campioni d'acqua a Mola di Bari in superficie e in prossimità del fondo, ricoperto di uno strato di sostanza organica di colore giallo-marrone che ugualmente è stata raccolta, osservata e fissata con formalina. Il materiale, dopo una prima indagine al microscopio ottico rovesciato a contrasto di fase Leitz Diavert a 400 ingrandimenti, è stato lavato, disidratato, sottoposto al punto critico e metallizzato per l'osservazione al microscopio elettronico a scansione Leica Cambridge Stereoscan 430i al fine di approfondire la struttura morfologica delle specie presenti secondo il protocollo descritto da Zingone *et al.* (1990).

Risultati e conclusioni

In tutti i campioni, esaminati secondo la metodica classica della sedimentazione, è stata osservata una netta dominanza di tre specie: *Coolia monotis*, *Prorocentrum mexicanum*, *Ostreopsis ovata* e *Ostreopsis lenticularis* accanto ad una esigua presenza di diatomee pennate (*Pleurosigma* sp., *Cylindrotheca closterium* e *Nitzschia longissima*).

La morfologia strutturale delle specie dominanti, essendo tutte potenzialmente tossiche e alcune mai segnalate prima in Adriatico, è stata ulteriormente studiata al SEM. I risultati hanno confermato la presenza di *Coolia monotis* Meunier (Figura 1) già segnalata nell'Alto Adriatico (Tolomio & Cavolo, 1985) e di *Prorocentrum mexicanum* Tafall (Figura 2) osservato invece per la prima volta in Adriatico.

Questa specie fu spesso confusa con *P. rhathymum* che presenta la disposizione radiale dei pori delle tricocisti solo sulla valva sinistra, mentre *P. mexicanum* li presenta su entrambe le valve posti perpendicolarmente al margine valvare. Presenta una corta spina apicale e l'habitat può essere sia epibentonico su macroalghe sia planctonico.

Per il genere *Ostreopsis* lo studio alla scansione elettronica ha confermato la presenza soltanto di *O. ovata* Fukuyo (Figura 3). Questa specie, la più piccola del genere, fu descritta da Fukuyo (1981) e presenta un diametro dorso-ventrale compreso tra 47-55 µm e un trasdiametero di 27-35 µm. La teca è costituita da placche difficilmente riconoscibili nel materiale esaminato mentre è ben visibile il corto poro apicale situato nella placca apicale che contraddistingue questa specie (Figura 4). Il poro apicale è relativamente dritto, lungo circa 8 µm, incluso nella placca apicale e associato alle altre placche, meno riconoscibili nella foto in quanto le cellule risultano tutte ricoperte da una pellicola gelatinosa. La specie produce una tossina identificata come un composto butanolo-solubile letale per il topo (Faust *et al.*, 1996; Nakajima *et al.*, 1981).

Il monitoraggio sul controllo delle microalghe marine effettuato da più di vent'anni in Italia ha finora segnalato la presenza di diverse specie di *Dinophysis*, responsabili di tossicità DSP che periodicamente causano la chiusura della vendita dei mitili in diverse regioni del nord est e di sporadiche presenze di *Alexandrium* spp., produttrici di PSP, che non hanno finora comportato un negativo impatto socio-economico e sanitario.

In questi ultimi tre anni le segnalazioni nel basso Adriatico di *Coolia monotis*, *Prorocentrum mexicanum* e *Ostreopsis ovata*, dinofitofite potenziali CFP, confermano la tendenza globale alla diffusione, a latitudini sempre più settentrionali, di tipiche specie tropicali dovuta molto probabilmente alle modifiche climatiche. Quindi la variabilità planctonica può rappresentare un indice di lettura del cambiamento del metabolismo nelle microalghe all'incremento della temperatura, anche minimo, e può favorire l'instaurarsi di specie alloctone introdotte con acque di zavorra, o attraverso molluschi importati per l'allevamento.

La presenza delle specie CFP in Adriatico in questi ultimi tre anni non può ritenersi un fatto sporadico e l'insediamento avvenuto va controllato attraverso azioni programmate dagli organi competenti al fine di garantire la salute pubblica e ambientale.

È stato dimostrato come elevate temperature possano favorire l'aumento della tossicità in *O. lenticularis* (Ashton *et al.*, 2003) nel mare dei Caraibi e per conoscere la tossicità dei ceppi insediati in Adriatico devono essere avviate ricerche per approfondire la loro ecofisiologia al fine di valutare il rischio e mitigare l'impatto, nel caso l'andamento delle condizioni ambientali future dovessero favorire l'aumento delle specie CFP anche in altre aree costiere.

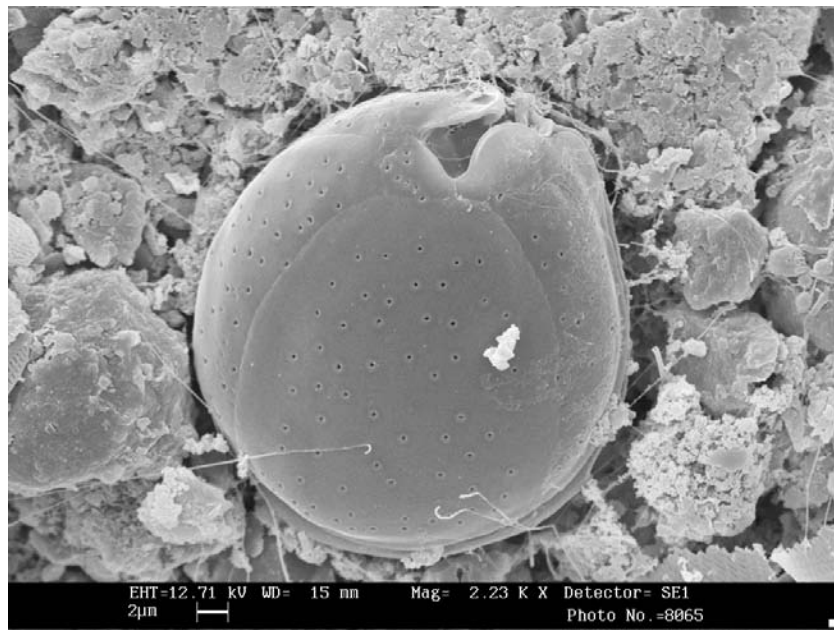


Figura 1. *Coolia monotis*

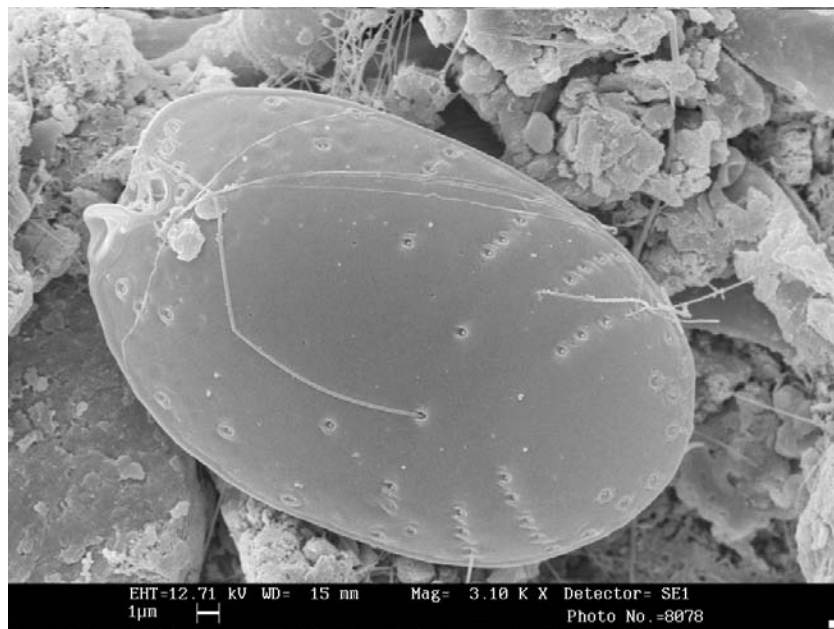


Figura 2. *Prorocentrum mexicanum*



Figura 3. *Ostreopsis ovata*



Figura 4. *Ostreopsis ovata*: poro apicale situato nella placca apicale

Ringraziamenti

Ringrazio il sig. Tito Ubaldini per l'assistenza tecnica alla microscopia elettronica, la dott.ssa Ermenegilda Rizzi per avermi fornito i campioni e la dott.ssa Francesca Strami per la collaborazione grafica.

Bibliografia

- Ashton M, Tosteson T, Tosteson C. The effect of elevated temperature on the toxicity of the laboratory cultured dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis* (Dinophyceae). *Rev Biol Trop* 2003;51(6):1-6.
- Bomber JW, Aikman KE. The Ciguatera dinoflagellates. *Biol Oceanogr* 1988/89;6:291-311.
- Di Turi L, Lo Caputo S, Marano G, Pastorelli AM, Pompei M, Rositani L, Ungaro N. Sulla presenza di *Ostreopsidiaceae* (Dinophyceae) lungo il litorale barese. *Biol Mar Medit* 2003;10(2):675-8.
- Faust MA, Morton SL, Quod JP. Further SEM study of marine dinoflagellates: the genus *Ostreopsis* (Dinophyceae). *Journal of Phycology* 1996;32:1053-65.
- Fukuyo Y. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. *Bull Jap Soc Sci Fish* 1981;47:967-78.
- Hallegraeff GM. Harmful Algal Bloom: a global overview. In: Hallegraeff *et al.* (Ed.). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Monographs on Oceanographic Methodology 11, UNESCO Publishing; 2003. p. 25-49.
- Lewis RJ. Detection of toxins associated with ciguatera fish poisoning. In: Hallegraeff *et al.* (Ed.). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Monographs on Oceanographic Methodology 11, UNESCO Publishing; 2003. p. 267-77.
- Nakajima I, Oshima Y, Yasumoto T. Toxicity on benthic dinoflagellates in Okinawa. *Bull Jap Soc Sci Fish* 1981;47:1029-33.
- Rizzi E, Casavola N, Perillo A, Troncone A, Cabrini M. From the Tropics to the Adriatic: *Coolia monotis* Meunier, *Ostreopsis lenticularis* Fukuyo and *Prorocentrum mexicanum* Tafall, toxic algae in seawater and marine organisms along the coast of the province of Bari. XXXIV Congresso Società Italiana di Biogeografia Ischia 21-24 ottobre 2002. *Biogeographia*. (In press).
- Sansoni G, Borghini B, Camici G, Casotti M, Rustighi C. Fioriture algali marine di *Ostreopsis ovata* e malessere da inalazione di aerosoli marini: un problema emergente. 2° Convegno Nazionale delle Scienze del Mare - CoNISMa, Genova 22-25 novembre 2000. Roma: CoNISMa; 2000. p. 270.
- Tognetto L, Bellato S, Moro I, Andreoli C. Occurrence of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae) in the Tyrrhenian Sea during Summer 1994. *Botanica Marina* 1995;38:291-5.
- Tolomio C, Cavolo F. Presenza di *Coolia monotis* Meunier (Dinophyceae, Peridiniales) nelle acque della Laguna di Venezia. *Oebalia* 1985;XI-3:849-52.
- Zingone A, Honsell G, Marino D, Montresor M, Socal G. Fitoplancton. In: Innamorati M, Marino D, Ferrari I, Ribera d'Alcalà M (Ed.). *Metodi nell'ecologia del plancton marino*. Trieste: Nova Thalassia; 1990. pp. 183-198.

MICROALGHE MARINE TOSSICHE NELLA PROVINCIA DI BARI: DANNI AMBIENTALI, ITTIOFAUNISTICI, EVIDENZE EPIDEMIOLOGICHE

Nicola Casavola (a), Antonio Troncone (b), Ermenegilda Rizzi (a), Maria Grazia Favale (c), Giambattista Bello (a)

(a) Servizio Faunistico Ittico Ambientale, Provincia di Bari

(b) Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Sezione di Anatomia Patologica, Università degli Studi di Bari

(c) Associazione Dermatologia Pediatrica, Bari

I primi fenomeni riconducibili alla presenza di microalghe tossiche nelle acque marine della provincia di Bari (Adriatico meridionale) si sono avuti nell'estate del 2001, quando numerosi bagnanti e frequentatori di spiagge accusarono disturbi fisici di varia natura, quali febbre, dermatiti, fastidi a carico dell'apparato respiratorio. Contemporaneamente, si registrarono diversi casi di morie a carico di organismi marini costieri (teleostei, molluschi cefalopodi, echinodermi, ecc.). Manifestazioni analoghe si sono ripetute nell'estate del 2002, anche se in misura piuttosto modesta, e nell'estate del 2003, nuovamente in maniera evidente (Rizzi *et al.*, 2004).

Nelle zone interessate da questi fenomeni, fra Molfetta e Polignano a Mare, sono stati effettuati, nei diversi anni, campionamenti di fitoplancton e di animali moribondi o morti. In concomitanza coi fenomeni sopra descritti, si è constatata la presenza di uno strato di sostanza organica di colore giallo-marrone ricoprente il fondo.

Fitoplancton

L'analisi del fitoplancton dei campioni di acqua prelevati a Mola di Bari, Comune della provincia di Bari più colpito dal fenomeno, ha evidenziato la presenza dei dinoflagellati tossici *Ostreopsis lenticularis*, *Ostreopsis ovata*, *Coolia monotis* (Ostreopsidaceae) e *Prorocentrum mexicanum* (Prorocentraceae), specie note come responsabili di HAB (Sournia, 1995; Zingone & Oksfeldt Enevoldsen, 2000). Questi dinoflagellati, di provenienza extra-mediterranea e più precisamente tropicale, sono stati segnalati per la prima volta nel distretto basso-adriatico da Rizzi *et al.* (2004). La loro concentrazione variava tra 400.000 e 900.000 cell mL⁻¹, valori molto elevati rispetto alle medie che normalmente si riscontrano nei campioni estivi prelevati dalle stesse zone. Le acque del litorale pugliese, infatti, sono oligotrofiche, e caratterizzate da una grande varietà di specie fitoplanctoniche in concentrazioni relativamente basse. Il ciclo annuale del fitoplancton presenta picchi primaverili con concentrazioni totali massime intorno a 500.000 cell mL⁻¹ e minimi estivi dell'ordine di 50.000 cell mL⁻¹. In particolare i dinoflagellati, più abbondanti nel periodo estivo che nelle altre stagioni, raramente superano il 5% della biomassa fitoplanctonica in termini di numero (Rizzi & Aprea, 1998).

Il confronto fra le composizioni percentuali del fitoplancton di due campioni raccolti a Mola di Bari rispettivamente nel luglio 1998 e nel luglio 2002 mostra nette differenze (Figura 1). I dinoflagellati, nel campione del 2002, rappresentano il 96,6% del fitoplancton con 1.281.600 cell mL⁻¹; questo valore così alto e anomalo è dovuto alla presenza cospicua di *C. monotis* (896.000 cell mL⁻¹) e di *Ostreopsis* spp. (385.600 cell mL⁻¹).

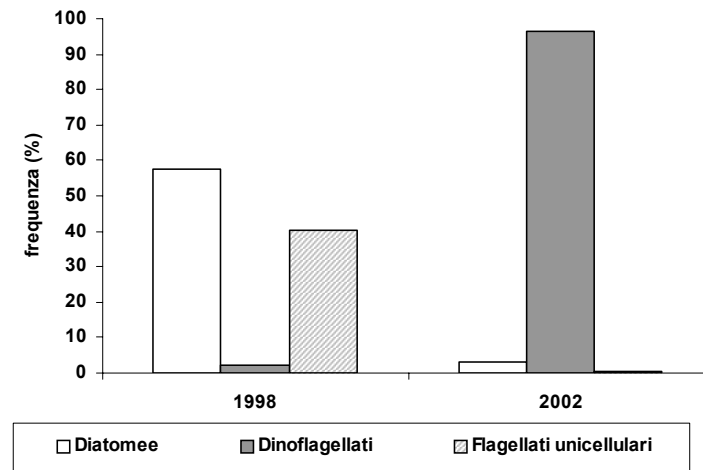


Figura 1. Confronto fra la composizione percentuale delle classi fitoplanctoniche di due campioni di acqua di mare raccolti a Mola di Bari nel luglio 1998 e nel luglio 2002

Campioni di fitoplancton così ricchi di dinoflagellati sono, come detto, del tutto inusuali per le acque del litorale barese. Nello scorso decennio, solo le diatomee hanno presentato fenomeni di proliferazione, con punte massime a carico di *Chaetoceros affinis*, che nell'agosto 1995 raggiunse valori di $700.000 \text{ cell mL}^{-1}$ e di *Pseudonitzschia pseudodelicatissima* nel luglio 1997 con $500.000 \text{ cell mL}^{-1}$. Di contro, i dinoflagellati di solito rappresentano solo una frazione minima con la presenza nel periodo estivo di specie mobili a crescita lenta, appartenenti perlopiù ai generi *Ceratium* e *Protopteridinium* (Rizzi *et al.*, 1994).

Poiché la presenza delle microalghe HAB registrata a partire dal luglio 2001 è ormai costante da tre anni, si può supporre che queste specie, avendo trovato un habitat idoneo, si siano insediate nelle acque dell'Adriatico sud-occidentale. Si può supporre, altresì, che il graduale e costante riscaldamento delle acque marine, che ha raggiunto punte prossime ai $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ($29,5 \text{ }^\circ\text{C}$ nell'agosto 2003), possa aver favorito l'insediamento lungo i nostri lidi di queste specie tropicali.

Morie di ittiofauna

Nei diversi anni sono stati raccolti numerosi campioni di animali agonizzanti o morti, direttamente dal fondo. Si è trattato prevalentemente di saraghi sparaglioni, *Diplodus annularis*, seppie, *Sepia officinalis* e ricci eduli, *Paracentrotus lividus*. L'esame macroscopico dei saraghi ha evidenziato che il tessuto muscolare era intensamente arrossato a causa di fenomeni congestizi, oltre ad avere minor consistenza e a staccarsi facilmente dalle strutture ossee. Nelle seppie, l'edema e l'imbibizione dei tessuti erano segni evidenti di fenomeni infiammatori. I ricci si presentavano con aculei abbassati e mancanti in alcune parti della teca.

Le alterazioni patologiche più caratteristiche evidenziate dagli esami anatomico istopatologici effettuati sulle seppie e sui saraghi sono risultate:

- Alterazioni delle branchie che apparivano dilatate e di aspetto variegato per alternanza di aree depigmentate e di aree arrossate. A tali aspetti anatomici corrispondeva un edema a livello delle lamelle, discontinuità dell'epitelio e accentuata permeabilità capillare che tendeva a dilatare le strutture branchiali.

- Modificazione dell'epidermide e del derma, con aspetti di desquamazione, d'imbibizione e di edema.
- Grave compromissione del miocardio, che appariva di aspetto flaccido e sfiancato a cui corrispondeva, a livello istologico, un'alterazione delle miofibrille.
- Sofferenza dell'apparato digerente, con alterazione della mucosa gastrica e intestinale, nella cui parete si rilevavano infiltrati edematosi; infiltrati erano presenti anche nel fegato, i cui epatociti spesso risultavano coartati, non armonicamente distribuiti e colpiti da degenerazione vacuolare.
- Gravi segni di sofferenza delle fibre muscolari, con imbibizione e frammentazione delle fibre stesse.

Epidemiologia

Come si è detto, i primi fenomeni a provocare allarme furono le manifestazioni patologiche occorse, nel luglio 2001, a carico dei bagnanti e delle persone che, pur senza bagnarsi, avevano stazionato sulla spiaggia. La vastità di tali fenomeni fece sì che i *mass-media* se ne occupassero estesamente e avanzassero una ridda di ipotesi sulle possibili cause ingeneranti i preoccupanti disturbi registrati dai bagnanti: dal generico inquinamento organico, all'inquinamento chimico, ad attività di pesca con sostanze proibite, ecc.

Le manifestazioni patologiche furono ad ampio spettro, interessando la cute, con alterazioni che variavano dal semplice arrossamento a vere e proprie lesioni (soprattutto negli arti inferiori); gli occhi, con irritazioni e lacrimazione; le prime vie respiratorie, con starnuti, bruciore alla gola, tosse secca; malessere generale con febbre. Diversi pazienti colpiti dalle suddette manifestazioni, soprattutto nelle forme più pesanti, si rivolsero a personale medico per le cure del caso. Alcuni di loro, in particolare, si rivolsero a posti di pronto soccorso.

Un'indagine svolta presso il posto di primo soccorso di Mola di Bari, relativamente agli eventi patologici registrati nelle stagioni estive 2001-2003, ha prodotto i risultati illustrati nella Figura 2. In totale si ebbero 30 richieste di pronto soccorso imputabili a forme patologiche indotte da microalghe HAB. La maggior parte delle richieste di pronto soccorso furono effettuate nell'anno 2001 (20 richieste), che fu anche l'anno con più gravi fenomeni a carico della fauna litorale.

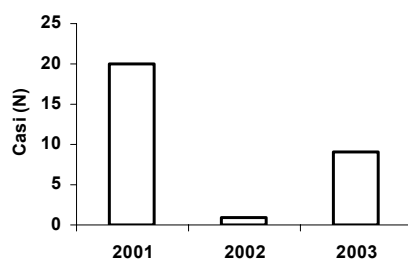


Figura 2. Accessi al posto di primo soccorso di Mola di Bari nel 2001, 2002, 2003

La Figura 3 evidenzia che le patologie per le quali si era chiesto soccorso erano prevalentemente di natura dermatologica (93%) e classificate come "dermatiti" (eritemi, eritemi pomfoidi, tumefazioni, e simili) o, nei casi più gravi, come lesioni cutanee (pustole e papule suppurate). Il resto delle richieste di pronto soccorso (7%) riguardava manifestazioni a carico dell'apparato respiratorio (bruciore di gola e tosse secca).

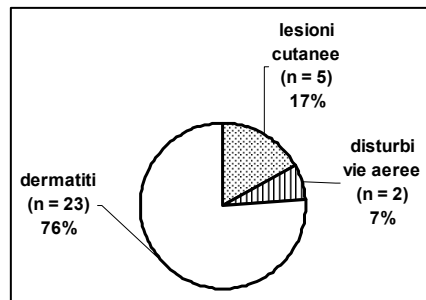


Figura 3. Manifestazioni patologiche ascrivibili a fenomeni HAB rilevate dai medici del Posto di Primo Soccorso di Mola di Bari negli anni 2002-2003

Per quel che riguarda il sesso dei pazienti (16 maschi e 14 femmine), non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa, mentre la distribuzione per età degli stessi pazienti evidenzia due gruppi separati: un primo gruppo di giovanissimi, da 3 a 13 anni (12 pazienti), e un secondo gruppo di adulti (dai 18 ai 60 anni, in cui prevalgono tuttavia gli adulti di mezza età). È interessante notare, infine, che in numerosi casi i pazienti si rivolgevano al Posto di Primo Soccorso dopo alcuni giorni dall'insorgenza dell'evento patologico; tale lasso di tempo andava da 0 a 4 giorni, con una media di 1,25 giorni di ritardo. Questo ritardo riguardava soprattutto i casi di manifestazioni cutanee che, con il passare dei giorni, peggioravano fino a giungere allo stadio di pustole cutanee. Inoltre, le richieste di cure a qualche giorno di distanza dall'evento patologico hanno riguardato perlopiù adulti, i quali, meno preoccupati per la propria salute rispetto ai genitori dei bimbi colpiti, si sono rivolti al personale medico solo quando si sono resi conto della mancata guarigione spontanea.

Va detto, tuttavia, che i dati raccolti presso il Punto di Primo Soccorso di Mola di Bari rappresentano solo la punta dell'iceberg e non rendono conto della vastità del fenomeno. Infatti la stragrande maggioranza delle persone affette dalle patologie più lievi (irritazioni delle mucose) come anche quelle affette da forme transitorie e di risoluzione spontanea (febbre) non ha affatto richiesto l'intervento del medico. Inoltre, molti pazienti, piuttosto che rivolgersi al Punto di Primo Soccorso, hanno preferito fare riferimento al proprio medico di base, per via del più forte rapporto di fiducia. In definitiva, abbiamo stimato, in modo prudenziale, che i casi di manifestazioni patologiche registrati al suddetto Punto di Primo Soccorso di Mola di Bari costituiscono non più del 10% dei casi realmente occorsi; ribadiamo che tale stima è da intendersi del tutto conservativa e prudenziale.

Conclusioni

La presenza e la diffusione di specie HAB nei nostri mari è riconducibile a due fenomeni più generali: l'introduzione di specie alloctone o "aliene" (Bello *et al.*, 2004) e la "tropicalizzazione" del Mediterraneo (Bianchi & Morri, 2004).

L'ingresso nel Mediterraneo di specie alloctone potrebbe essere avvenuta naturalmente dall'Atlantico, attraverso lo stretto di Gibilterra, o dal Mar Rosso in seguito all'apertura del Canale di Suez. È da considerare, inoltre, l'immissione mediata dall'uomo mediante trasporto volontario – basti pensare alle attività di maricoltura che utilizzano l'importazione di pesci e molluschi da aree tropicali – o involontario di specie "aliene". Un importantissimo veicolo di

tali specie, soprattutto di quelle più minute, è rappresentato dall'acqua di zavorra, *ballast water*, (Hutchings *et al.*, 1987) delle navi da trasporto in transito per il Mediterraneo (Zouari *et al.*, 2004); l'arrivo di dinoflagellati HAB presso i lidi pugliesi è, con un buon grado di probabilità, ascrivibile a questo tipo di trasporto. Altri veicoli possono essere i bivalvi di allevamento importati e persino i frammenti di plastica alla deriva (Masó *et al.*, 2003).

Va sottolineato, tuttavia, che l'insediamento in acque mediterranee di centinaia e centinaia di organismi alloctoni (Galil, 2000) è dovuto alle modificazioni climatiche globali e alle conseguenti modificazioni delle condizioni idrologiche dei nostri mari, e principalmente all'aumento della temperatura (Francour *et al.*, 1994).

Tanto vale anche per i dinoflagellati tropicali rinvenuti lungo le coste del barese. L'insieme dei fenomeni di innalzamento della temperatura delle acque e dell'insediamento di specie esotiche è stato denominato, come si è accennato sopra, "tropicalizzazione del Mediterraneo".

Il complesso di accadimenti concomitanti registrati negli anni scorsi lungo le coste della provincia di Bari e qui discussi – cioè a dire la fioritura di dinoflagellati HAB, le morie di organismi marini costieri, i fenomeni epidemici a carico dell'uomo – ci fa ritenere che essi siano riconducibili alle biotossine marine sintetizzate dalle microalghe HAB. Tali tossine possono essere assunte da animali marini, o comunque aggredirli, e provocare così alterazioni organiche più o meno gravi e mortalità anche estese. Le stesse possono, inoltre, interessare anche l'uomo, sia per contatto diretto, sia attraverso il consumo di pesci tossici. Secondo Tubaro (1999), infatti, le intossicazioni da ingestione di pesci o molluschi sono abbastanza diffuse in tutto il mondo e si ritiene che almeno il 25% di tali patologie sia legata alla contaminazione di tossine prodotte da microalghe. In base al tipo di tossina prodotta si possono distinguere diversi tipi di intossicazione, la cui sintomatologia nell'uomo è variabile.

Va tuttavia sottolineato che i fenomeni patologici a carico dell'uomo registrati nel barese, e in particolare a Mola di Bari, non hanno raggiunto i livelli di gravità propri delle zone tropicali del mondo, dove si verificano anche casi di morte imputati alla "ciguatera", una sindrome provocata dall'azione sinergica di più tossine prodotte da pool di alghe HAB (Carbonnière, 2002). Possiamo lecitamente imputare l'attenuazione dei fenomeni a carico dell'uomo qui registrati alla minore aggressività dei dinoflagellati *Ostreopsis lenticularis*, *Ostreopsis ovata*, *Coolia monotis* e *Prorocentrum mexicanum* presenti nelle nostre acque. Ciò è presumibilmente dovuto, a sua volta, alle minori temperature delle acque basso-adriatiche rispetto a quelle tropicali di origine di dette microalghe (Ashton *et al.*, 2003). A tal proposito, va evidenziata l'assenza di manifestazioni acute, tanto a carico degli organismi marini costieri che dell'uomo, nella stagione estiva 2004; nei più caldi di quest'anno la temperatura dell'Adriatico sud-occidentale si è, infatti, mantenuta su valori normali.

La gravità dei fenomeni derivanti dalla presenza di dinoflagellati HAB lungo le coste della provincia di Bari non può essere sottovalutata, nonostante la fase di apparente regresso degli stessi nel 2004.

L'esperienza insegna che queste alghe una volta insediate non scompaiono facilmente e in modo spontaneo. Tutto fa ritenere che la ripresa della virulenza delle alghe HAB nel futuro sarà innescata dai prossimi incrementi della temperatura delle acque: il trend del riscaldamento globale non lascia, purtroppo, presagire niente di buono in tal senso.

È pertanto opportuno che venga svolta un'opera di attento e sistematico monitoraggio della situazione, mediante periodiche analisi delle acque costiere e ispezioni degli organismi marini costieri di importanza alimentare, soprattutto all'approssimarsi della buona stagione. Tanto al fine di allertare, in caso di previsto pericolo, gli organi preposti alla salvaguardia della salute pubblica e consentire un'adeguata programmazione di azioni di contenimento di fenomeni negativi.

Ringraziamenti

Ringraziamo gli Ispettori Ittico-Ambientali del Servizio per la collaborazione nella raccolta dei campioni di fitoplancton e di altro materiale biologico.

Bibliografia

Ashton M, Tosteson T, Tosteson C. The effect of elevated temperature on the toxicity of the laboratory cultured dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis* (Dinophyceae). *Rev Biol Trop* 2003;51suppl 6:1-6.

Bello G, Casavola N, Rizzi E. Aliens and visitors in the southern Adriatic Sea: effects of tropicalization. *Rapp Comm int Mer Médit* 2004;37:491.

Carbonnière A. *The ciguatera*. Marsiglia: Le Centre d'Océanologie de Marseille l'Institut National des Sciences de l'Univers; 2002. Disponibile all'indirizzo: www.com.univ-mrs.fr/IRD/atollpol/glossaire/cigua.htm. Ultima consultazione 21/10/05.

Francour P, Boudouresque CF, Harmelin JG, Harmelin-Vivien M, Quignard JP. Are the Mediterranean waters becoming warmer? Information from biological indications. *Mar Poll Bull* 1994;28:523-6.

Galil B. A sea under siege - alien species in the Mediterranean. *Biol Invas* 2000;2:177-86.

Hutchings PA, van der Velde JT, Keable SJ. Guidelines for the conduct of surveys for detecting introductions of non-indigenous marine species by ballast water and other vectors – and a review of marine introductions to Australia. *Occ Rep Austr Mus* 1987;3:1-147.

Masó M, Garcés E, Pagès F, Camp J. Drifting plastic debris as a potential vector for dispersing Harmful Algal Bloom (HAB) species. *Sci Mar* 2003;67:107-11.

Rizzi E, Aprea A. Ciclo annuale, diversità e successione ecologica del fitoplancton nelle acque costiere dell'Adriatico meridionale. *Biol Mar Medit* 1998;5(1):232-8.

Rizzi E, Casavola N, Perillo A, Troncone A, Cabrini M. From the Tropics to the Adriatic: *Coolia monotis* Meunier, *Ostreopsis lenticularis* Fukuyo and *Prorocentrum mexicanum* Tafall, toxic algae in seawater and marine organisms along the coast of the province of Bari. XXXIV Congresso Società Italiana di Biogeografia Ischia 21-24 ottobre 2002. *Biogeographia*. (In press).

Rizzi E, Paparella P, Marano G, Martino G. Popolamenti fitoplanctonici nell'Adriatico meridionale. *Biol Mar Medit* 1994;1(1):195-9.

Sournia A. Red tide and toxic marine phytoplankton of the world ocean: an inquiry into biodiversity. In: Lassu P, Arul G, Erard E, Gentien P, Macaillou C. (Ed.). *Harmful marine algal bloom*. Paris: Lavoisier, Intercept Ltd.; 1995. p. 103-12.

Tubaro A. Le tossine di origine animale e vegetale. Tossine marine. In: Capuano A, Dugo G, Restani P. (Ed.). *Tossicologia degli alimenti*. Torino: UTET; 1999.

Zingone A, Oksfeldt Enevoldsen H. The diversity of harmful algal bloom: a challenge for science and management. *Ocean Coastal Management* 2000;43:725-48.

Zouari L, Ayadi H, Bouaïn A, Bradai MN. Le zooplancton des eaux de ballast rejetées dans le Golfe de Gabés (Tunisie). *Rapp Comm Int Mer Médit* 2004;37:560.

MICROALGHE POTENZIALMENTE TOSSICHE NELLE ACQUE COSTIERE DELLA CAMPANIA

Adriana Zingone, Raffaele Siano, Diana Sarno
Stazione Zoologica "A. Dohrn", Napoli

Le prime ricerche sul fitoplancton marino delle acque della Campania risalgono all'inizio del secolo XIX (Costa, 1838), al tempo in cui questo tipo di studi andava diffondendosi e venivano proposti i primi sistemi di classificazione delle microalghe (Agardh, 1824). In quegli anni il fitoplancton veniva studiato essenzialmente per la bellezza delle sue forme. Solo una cinquantina di anni dopo si affermò l'idea che queste "piccole piante" fossero il nutrimento per gli animali del mare e fu di Hensen, nella seconda metà del XIX secolo, il primo tentativo di stimare l'abbondanza del fitoplancton (Mills, 1989; Barber & Hilting, 2002, Smetacek *et al.*, 2002).

I primi incidenti documentati derivanti dall'ingestione di cibo contaminato da tossine algali risalgono al 1793, ai tempi delle spedizioni del Capitano Vancouver nella Columbia Britannica, ben prima quindi che l'importanza del fitoplancton fosse pienamente evidenziata. È passato poi più di un secolo prima che risultasse chiaro che le fioriture di alcune microalghe potessero essere invece dannose per la salute e per le attività dell'uomo.

La prima conferenza internazionale sulle alghe tossiche (LoCicero, 1975) sancisce la nascita della ricerca sulle fioriture algali dannose (HABs) come nuovo e specifico campo di studio, che ha assunto un'importanza via via crescente negli ultimi anni.

In Campania, i primi fenomeni dannosi collegati a fioriture algali venivano riportati nella letteratura scientifica a partire dagli anni '80, quando si cominciarono a segnalare alcuni casi di "maree rosse" e di presenza di specie tossiche (Marino *et al.*, 1984; Montresor & Marino, 1989).

Da allora, in meno di venti anni la lista di specie potenzialmente dannose è andata costantemente aumentando, in Campania come in altre aree costiere, parallelamente alla crescita dell'attenzione a questo tipo di fenomeni in tutto il mondo. Negli ultimi anni, proprio dalle acque del Golfo di Napoli sono stati isolati alcuni ceppi di microalghe sui quali è stata dimostrata per la prima volta la tossicità di alcune specie (Ciminiello *et al.*, 2000; Sarno & Dahlman, 2000; Cerino *et al.*, 2005). La conoscenza della distribuzione delle specie tossiche è il primo passo necessario verso la definizione del rischio associato alle fioriture algali nocive. Infatti, tre condizioni diverse devono verificarsi perché un evento dannoso, un HAB, si possa sviluppare:

- la specie tossica o dannosa deve essere parte della microflora di quel sito;
- devono essere raggiunte determinate abbondanze-soglia, variabili da specie a specie e a seconda dei casi;
- ci deve essere un organismo-bersaglio o un tipo di risorsa che viene colpito, direttamente o tramite organismi vettori. Ognuna di queste condizioni è sotto il controllo di numerosi fattori fisici, chimici e biologici (Zingone & Wyatt, 2004) che influenzano la distribuzione biogeografica delle specie tossiche così come lo sviluppo delle loro fasi di crescita e fioritura, nonché i meccanismi che sono alla base delle interazioni fra le microalghe nocive e le risorse che vengono da esse danneggiate.

In questo lavoro vengono riassunte le informazioni disponibili sulle specie potenzialmente dannose, tossiche e non tossiche, finora rinvenute nelle acque costiere della regione Campania.

Viene inoltre rivista la posizione tassonomica e la nomenclatura di alcune specie già segnalate nel passato alla luce dei cambiamenti derivanti dal considerevole sviluppo di studi morfologici e molecolari in questo campo negli ultimi anni. Allo scopo di contribuire ad una migliore gestione e prevenzione di eventuali problemi di tossicità di origine algale, riportiamo anche le informazioni disponibili sulla distribuzione stagionale delle specie di interesse, che evidenziano i periodi dell'anno che presentano rischi maggiori e che pertanto necessitano di attività di monitoraggio più dettagliate.

Le informazioni presentate sono da considerarsi tutt'altro che esaustive, dal momento che sono state ricavate da risultati di ricerche finalizzate ad altri obiettivi e svoltesi in un numero limitato di località e ambienti dell'area Campana.

È probabile quindi che la lista di specie dannose sia destinata a crescere in futuro, sia perché un numero sempre maggiore di specie si stanno rivelando dannose per le attività e la salute umana, sia perché le interazioni di vario tipo, da quelle scientifiche a quelle economiche e ricreative, crescono continuamente in parallelo con l'aumento della popolazione e della necessità di sfruttare le risorse marine.

Le coste della regione Campania (Mar Tirreno Meridionale) si estendono per 450 km e appartengono a tre province: Caserta, Napoli e Salerno. Di queste, quelle di Napoli e Salerno contano più di un milione di abitanti, con densità abitative nella provincia di Napoli tra le più alte del mondo. Il notevole carico antropico a cui sono soggette le coste Campane e, di conseguenza, le acque stesse della Regione è facilmente intuibile, anche perché la maggior parte della popolazione della regione e una gran parte delle attività agricole, industriali e turistiche sono concentrate lungo le coste.

Negli ultimi 30 anni sono stati condotti nell'area diversi programmi di ricerca sul plancton marino. In particolare, ad una stazione fissa, situata a due miglia dalla città di Napoli, viene condotto dal 1984 un programma di monitoraggio scientifico a lungo termine teso ad individuare i fattori ambientali e biologici che regolano la variabilità temporale del plancton (Scotto Di Carlo *et al.*, 1985; Ribera D'alcalà *et al.*, 2004).

Ulteriori informazioni sul plancton dell'area derivano da studi svolti in alcune occasioni su un'area più vasta (Zingone *et al.*, 1990; Zingone *et al.*, 1995), comprendente anche il Golfo di Salerno (Marino *et al.*, 1984; Marino *et al.*, 1985), e nel lago costiero del Fusaro (Sarno *et al.*, 1993).

Negli ultimi quattro anni è stato inoltre condotto un progetto di monitoraggio in diversi siti situati lungo la costa campana, a poca distanza (100-500 m) dalla linea di costa, dalla foce del fiume Volturno, nel Golfo di Gaeta, fino ai confini meridionali della regione. Le aree campionate includono ambienti molto diversi fra di loro, fra cui foci di fiumi e aree costiere soggette a varie forme di inquinamento e aree prospicienti parchi naturali, considerabili come zone ad alto grado di naturalità.

Specie tossiche e dannose

La Tabella 1 mostra l'elenco delle specie tossiche e dannose segnalate ad oggi nelle acque della Campania alcune delle quali sono illustrate in Figura 1. In aggiunta alle specie la cui tossicità è stata confermata dalla IOC (*Intergovernmental Oceanographic Commission*) nella *Taxonomic Reference List of Toxic Plankton Algae* (<http://www.bi.ku.dk/ioc/>), vengono riportate alcune specie che hanno provocato una visibile colorazione anomala delle acque.

Tabella 1. Lista delle specie fitoplanctoniche potenzialmente dannose identificate nelle acque della Campania, danno che possono determinare e periodo più probabile di comparsa

Specie	Danno	Stagionalità
DIATOMEE		
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> Lundholm, Moestrup & Hasle	ASP	ignota
<i>P. delicatissima</i> (Cleve) Heiden in Heiden & Kolbe	ASP	mar-apr ago-ott
<i>P. fraudulenta</i> (P.T. Cleve) Hasle	ASP	mar-apr
<i>P. galaxiae</i> Lundholm & Moestrup *	ASP	feb-ago
<i>P. multistriata</i> (Takano) Takano *	ASP	sett-ott
DINOFLAGELLATI		
<i>Alexandrium andersonii</i> Balech *	PSP	giu-ott
<i>A. balechii</i> (Steidinger) Taylor #	Colorazione dell'acqua	ago
<i>A. minutum</i> Halim*	PSP	giu-ott
<i>A. tamarense</i> (Lebour) Balech	PSP	giu-ott
<i>Akashiwo sanguinea</i> (Hirasaka) Hansen & Moestrup	Ittiotossico	giu-lug
<i>Cochlodinium polykrikoides</i> Margalef	Ittiotossico	ignota
<i>Coolia monotis</i> Meunier	Produttore di tossine	ignota
<i>Dinophysis caudata</i> Saville-Kent	DSP	mar-ott
<i>D. fortii</i> Pavillard	DSP	mar-ott
<i>D. mitra</i> (Schütt) Abé vel Balech	DSP	mar-ott
<i>D. rapa</i> (Stein) Balech	DSP	mar-ott
<i>D. rotundata</i> Claparède & Lachmann	DSP	mar-ott
<i>D. sacculus</i> Stein	DSP	mar-ott
<i>D. tripos</i> Gourret	DSP	mar-ott
<i>Gyrodinium corsicum</i> Paulmier Berland, Billard & Nezan	Ittiotossico	ignota
<i>Karenia</i> cfr. mikimotoi (Miyake et Kominami ex Oda) G. Hansen et Moestrup	Tossico per fauna marina	giu-lug
<i>Karenia</i> cfr. papilionacea Haywood & Steidinger	NSP (Brevetossine) Aerosol Tossici	giu-lug
<i>Lingulodinium polyedrum</i> (Stein) Dodge	DSP (Yessotossine)	ignota
<i>Ostreopsis ovata</i> Fukuyo	Produttore di tossine	ignota
<i>Prorocentrum lima</i> (Ehrenberg) Stein	DSP	ignota
<i>P. minimum</i> (Ehrenberg) Stein	Tossico per fauna marina	ignota
<i>P. triestinum</i> Schiller #	Colorazione dell'acqua	mag-giu
<i>Protoceratium reticulatum</i> (Claparède & Lachmann) Bütschli	DSP (Yessotossine)	apr
<i>Protoperidinium crassipes</i> (Kofoid) Balech	AZP	ignota
<i>Takayama</i> sp. de Salas, Bolch, Botes & Hallegraeff	Tossico per fauna marina	sett-ott
RAPHIDOPHYCEAE		
<i>Chattonella subsalsa</i> Biecheler #	Tossico per fauna marina Colorazione dell'acqua #	lug
HAPTOPHYCEAE		
<i>Chrysochromulina leadbeateri</i> Estep, Davis, Hargraves & Sieburth	Ittiotossico	ignota
<i>C. polylepis</i> Manton & Parke	Tossico per fauna marina	ignota
<i>Prymnesium calathiferum</i> Chang & Ryan	Tossico per fauna marina	ignota
<i>P. parvum</i> f. <i>patelliferum</i> (Green, Hibberd et Pienaar) A. Larsen	Tossico per fauna marina	ignota
<i>Phaeocystis</i> spp. Lagerheim	Ittiotossico Aerosol Tossici Colorazione dell'acqua	ignota
PRASINOPHYCEAE		
<i>Pyramimonas</i> sp. Schmarda	Colorazione dell'acqua	giu-lug
<i>Tetraselmis wettsteinii</i> (Schiller) Throndsen #	Colorazione dell'acqua	mag

* in alcuni ceppi della specie sono state rinvenute tossine; # taxa che hanno causato il danno indicato nell'area campana
 ASP = Amnesic Shellfish Poisoning; AZP = Azaspiracid Shellfish Poisoning; PSP = Paralytic Shellfish Poisoning;
 DSP = Diarrhetic Shellfish Poisoning; NSP = Neurologic Shellfish Poisoning

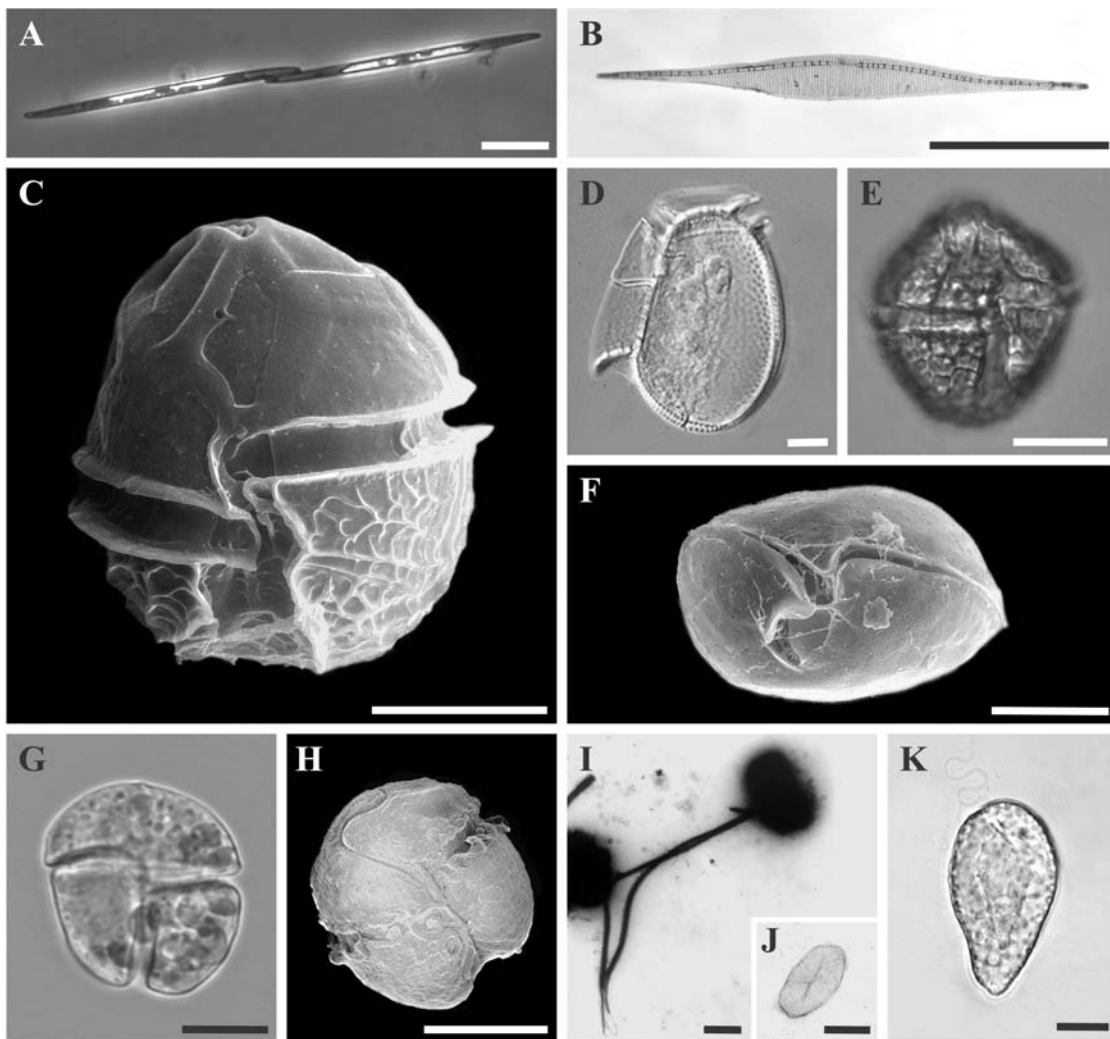


Figura 1: Micrografie alla microscopia ottica (MO) e alla microscopia elettronica a scansione (SEM) e trasmissione (TEM) di alcune delle specie potenzialmente tossiche identificate nelle acque della Campania. **A.** *Pseudo-nitzschia delicatissima* (MO); **B.** *P. galaxiae* (TEM); **C.** *Alexandrium minutum* (SEM); **D.** *Dinophysis fortii* (MO); **E.** *Protoceratium reticulatum* (MO); **F.** *Coolia monotis* (SEM); **G.** *Karenia* cfr. *mikimotoi* (MO); **H.** *Takayama* cfr. *cladochroma* (SEM); **I.** *Prymnesium parvum* f. *patelliferum* (TEM); **J.** Ingrandimento della scaglia di *P. parvum* f. *patelliferum* (TEM); **K.** *Chattonella subsalsa* (MO). Scala A-H, K = 10 μ m; I = 2 μ m; J = 0,2 μ m.
(Da Zingone *et al.*, 2005, in press)

Specie potenzialmente tossiche

Diatomee

Delle dodici specie di diatomee finora riconosciute come produttrici di acido domoico (DA, *domoic acid*), cinque si rinvencono comunemente nelle acque campane, con abbondanze massime diverse da specie a specie.

Analisi dettagliate hanno messo in luce la presenza di DA in alcuni ceppi di *P. multistriata* (Sarno & Dahlman, 2000; Orsini *et al.*, 2002) e *P. galaxiae* (Cerino *et al.*, 2005) isolati dal

Golfo di Napoli. Prima di queste analisi, nessuna delle suddette specie era stata segnalata come tossica. La quantità di DA per cellula è risultata molto bassa in entrambi i casi, tuttavia c'è da tener presente che la produzione di queste come di altre tossine algali può variare notevolmente nell'ambito di una stessa specie e anche per uno stesso ceppo algale in relazione a diverse condizioni di crescita. In particolare, in laboratorio la produzione di acido domoico aumenta durante le fasi di senescenza delle colture e in condizioni di limitazione da nutrienti (Pan *et al.*, 1996; Bates, 1998) Quanto alle altre tre specie potenzialmente tossiche, le ricerche sulla presenza di tossine sono in corso.

Finora non ci sono state mai segnalazioni di ASP in Campania, come del resto rari sono i casi di intossicazione umana segnalati dopo il primo episodio avvenuto in Canada nel 1987 (Bates *et al.*, 1989). Più frequentemente invece l'acido domoico è stato associato alla morte di animali marini, inclusi mammiferi, pesci e uccelli (Scholin *et al.*, 2000). Non sono stati neanche riportati mai, a nostra conoscenza, casi di presenza di DA nei mitili dell'area, né nei mitili di nessun'area in Italia, sebbene in Mediterraneo casi del genere si siano verificati in Francia (Azmil *et al.*, 2001). Tuttavia bisogna tener conto del fatto che le analisi per la ricerca di acido domoico non sono fra quelle incluse obbligatoriamente nella normativa vigente in Italia.

L'analisi dei dati della stazione di monitoraggio fissa a lungo termine ha permesso di individuare andamenti stagionali specie-specifici che per alcune specie (*P. delicatissima* e *P. multistriata*) sono molto regolari mentre per altre sono ancora da chiarire. Questo è il caso di *P. pseudodelicatissima*, che tuttavia da ricerche recenti risulta includere specie diverse, distinguibili solo attraverso analisi ultrastrutturali fini ovvero con l'applicazione di tecniche di biologia molecolare (Lundholm *et al.*, 2003). Infatti al microscopio ottico, utilizzato per le analisi di routine, non è possibile, per il momento, distinguere la specie non tossica *P. pseudodelicatissima* dalla specie potenzialmente tossica *P. calliantha*, recentemente identificata nelle acque del Golfo di Napoli. *Pseudo-nitzschia delicatissima* è la più abbondante fra le specie potenzialmente tossiche, anche se analisi preliminari non hanno evidenziato ceppi tossici fra quelli isolati dal Golfo di Napoli (Orsini *et al.*, 2004). Tuttavia, per questa come per altre specie di questo genere di diatomee è stato dimostrato un grado elevato di diversità criptica, evidente cioè solo dai dati molecolari (Orsini *et al.*, 2004), per cui per escludere un'eventuale tossicità le analisi andrebbero condotte su un numero molto maggiore di ceppi appartenenti a popolazioni diverse. I picchi di abbondanza di *Pseudo-nitzschia delicatissima* si verificano tipicamente in aprile-maggio e agosto-settembre. Per la specie *P. galaxiae*, invece, sono stati identificati tre morfotipi di taglia differente ed è stato osservato che questi raggiungono massime concentrazioni in periodi dell'anno diversi (Cerino *et al.*, 2005). Dal momento che non è ancora stato chiarito se tra i tre morfotipi esista una variabilità nella produzione di acido domoico, l'attenzione nei confronti di questa specie tossica deve essere rivolta ai vari periodi dell'anno in cui i singoli morfotipi sono abbondanti (febbraio-marzo, maggio e agosto). Le altre due specie potenzialmente tossiche, *P. multistriata* e *P. fraudulenta*, sono più abbondanti nei periodi autunnale e primaverile, rispettivamente, però non raggiungono mai concentrazioni molto elevate. Complessivamente le specie di *Pseudo-nitzschia* potenzialmente tossiche sono più abbondanti da marzo ad ottobre (Tabella 1), che sarebbe pertanto, allo stato attuale delle conoscenze, il periodo di massima allerta per quanto riguarda eventuali problemi ASP.

Dinoflagellati

Sono 11 le specie di *Alexandrium* che sono considerate potenzialmente tossiche (IOC, *Taxonomic Reference List of Toxic Plankton Algae* <http://www.bi.ku.dk/ioc/>), in quanto produttrici di una serie di tossine (saxitossine, gonyautossine etc.) responsabili di una sindrome

neurologica (PSP) in alcuni casi fatale. Nelle acque campane sono presenti, con concentrazioni sempre molto basse, diverse specie appartenenti a questo genere, per lo più non tossiche. Solo *A. andersonii* e *A. minutum* sono risultati tossici in colture provenienti dalle acque della Campania. *A. andersonii* non era considerato tossico prima delle analisi condotte su ceppi del Golfo di Napoli (Ciminiello *et al.*, 2000). È interessante rimarcare che tale specie è stata rinvenuta per la prima volta in quest'area a seguito di esperimenti di germinazioni di stadi di dormienza bentonici (cisti) isolati da sedimenti, ma non era mai stata vista nei campioni di plancton (Montresor *et al.*, 1998). Ciò dimostra chiaramente che, anche in aree dove il fitoplancton è studiato intensivamente, alcune specie possono sfuggire al campionamento, o perché presenti in concentrazioni molto basse, ovvero perché responsabili di fioriture di durata brevissima o localizzate in strati della colonna d'acqua non campionati.

Anche alcuni ceppi di *A. minutum* isolati dal Golfo di Napoli sono risultati tossici. Questa specie non deve essere confusa con *A. tamutum*, una specie molto simile, ma non tossica, descritta per la prima volta proprio dal materiale del Golfo di Napoli (Montresor *et al.*, 2003). Diversi ceppi di *A. tamarensis* delle acque campane non hanno invece mostrato produzione di tossine PSP. Del resto solo pochissimi ceppi dal Mediterraneo sono fino ad oggi risultati tossici. Casi di PSP non sono stati mai riportati in Campania, né in Italia, sebbene la presenza di tossine PSP nei mitili sia stata segnalata almeno in un caso in Adriatico, nel corso di una fioritura di *Alexandrium minutum* (Honsell *et al.*, 1996). Da segnalare infine la presenza, registrata una sola volta nel Golfo di Napoli, di un'altra specie del genere *Alexandrium*, *A. ostenfeldii* che oltre alle tossine PSP è responsabile della produzione di un'altra categoria di tossine, gli spiroliidi, il cui effetto sull'uomo non è tuttavia del tutto chiarito (Cembella *et al.*, 2000; Maclean *et al.*, 2003).

È opportuno ricordare che la segnalazione della presenza, nelle acque del Lago Fusaro, di un'altra specie produttrice di PSP, il *Gymnodinium catenatum* (Carrada *et al.*, 1988), è stata smentita dalla successiva identificazione di questa specie come *G. impudicum* (Fraga *et al.*, 1995), una specie molto simile ma non tossica.

Al genere *Dinophysis* appartengono diverse specie responsabili della produzione di acido okadaico e diverse dinophysistossine, tossine liposolubili associate alla sindrome DSP. Queste specie in genere non raggiungono concentrazioni elevate e si rinvencono essenzialmente nei campioni di retinata in alcuni periodi dell'anno, principalmente da marzo ad ottobre (Tabella 1). L'unica eccezione è rappresentata dal lago Fusaro, dove nel corso di una ricerca condotta dal novembre 1989 al giugno 1990 (Sarno *et al.*, 1993) furono stimate abbondanze di *Dinophysis sacculus* fino a $1,7 \cdot 10^5$ cell mL⁻¹ nel mese di aprile (dati non pubblicati). È da sottolineare che, per queste specie, concentrazioni anche bassissime (10^2 - 10^3 cell mL⁻¹) sono state a volte associate a casi di DSP in alcune aree (Nord Adriatico, ecc.). In Campania non si è mai verificata alcuna sindrome da DSP e in rari casi è stata evidenziata, con saggi biologici, la presenza di tossine di questo tipo in concentrazioni inferiori a quelle indicate come pericolose. In particolare, nell'ambito di un progetto di monitoraggio condotto dall'ARPAC (Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente della Campania) è stata riscontrata la presenza di tossine del tipo DSP in campioni di molluschi raccolti nel lago Fusaro (Siano *et al.*, 2002) e in alcune zone di produzione (Guarino *et al.*, 2002).

Recentemente un altro tipo di tossine, le yessotossine, sono state incluse fra quelle responsabili della sindrome DSP. Finora le yessotossine sono state riscontrate in due specie, *Protoceratium reticulatum* e *Lingulodinium polyedrum*, entrambe frequenti in Campania nei campioni di retino in primavera-estate. Vale la pena di ricordare che *L. polyedrum* è stato in passato associato alla produzione di tossine PSP (Bruno *et al.*, 1990) in analisi condotte su campioni naturali dominati da *L. polyedrum*. Questi risultati non erano tuttavia inequivocabili, perché non si può escludere la presenza, nel campione analizzato, di altre specie produttrici di tossine PSP. Mentre la presenza di tossine PSP in *L. polyedrum* non è mai stata confermata,

molto recentemente è stata invece segnalata in questa specie la produzione di yessotossina (Paz *et al.*, 2004).

In aggiunta alle specie responsabili di PSP, DSP e produzione di spirolidi, nei campioni di retino prelevati nelle acque campane si rinvenivano altri due dinoflagellati potenzialmente tossici, *Prorocentrum minimum* e *Protoperidinium crassipes*. Mentre il tipo di tossicità di *P. minimum* non è ad oggi del tutto chiara, *Protoperidinium crassipes* è stato associato recentemente all'produzione di azaspiracide, responsabile della sindrome AZP (James *et al.*, 2003).

Dinoflagellati tossici si annoverano anche fra le specie bentoniche, che in genere colonizzano talli di macroalghe. Il microfitorobenthos a dinoflagellati delle acque campane è stato analizzato solo in rare occasioni, ed è stata finora registrata la presenza occasionale di *Coolia monotis*, *Ostreopsis ovata*, già precedentemente segnalata nelle acque del Tirreno (Tognetto *et al.*, 1995), e *Prorocentrum lima*. Quest'ultimo produce tossine DSP, analogamente a diversi altri *Prorocentrum* bentonici; *Coolia* e alcune specie di *Ostreopsis* producono invece tossine specifiche il cui ruolo non è del tutto chiarito. Sono infatti tossine che hanno causato problemi ai topi nei saggi biologici (Nakajima *et al.*, 1981; Tindall *et al.*, 1990; Quod, 1994), ma di cui non si sa nulla riguardo al potenziale effetto sull'uomo. Recentemente in Giappone è stata segnalata la presenza di palytossina in *Ostreopsis* sp. e in un pesce pappagallo (*Scarus oviceps*), che si era nutrito su una fioritura dello stesso dinoflagellato (Taniyama *et al.*, 2003).

In passato, nella stessa area, questa tossina aveva già procurato intossicazioni all'uomo attraverso il consumo di questo pesce (Noguchi *et al.*, 1987). Questa sarebbe la prima segnalazione chiara di un potenziale danno all'uomo in seguito ad una tossina prodotta da una specie di *Ostreopsis*. Inoltre la recente associazione di irritazioni cutanee nell'uomo ad una fioritura di *Ostreopsis* sp. verificatasi lungo le coste pugliesi (Bottalico *et al.*, 2002) fa pensare che questi dinoflagellati possano produrre delle sostanze tossiche volatili. È da sottolineare comunque che, contrariamente a quanto si pensava, *Ostreopsis* e *Coolia* non sono associate con la sindrome CFP, della quale risultano responsabili solo specie del genere *Gambierdiscus*, a distribuzione quasi esclusivamente tropicale o subtropicale.

Oltre ai problemi relativi alla salute umane, i dinoflagellati possono causare altri tipi di danni. Nei campionamenti lungo le coste campane sono stati identificati diversi dinoflagellati nudi che possono causare mortalità della fauna marina, in particolare dei pesci. La gran parte di queste specie erano attribuite fino a qualche anno fa al genere *Gymnodinium* dal quale, a seguito di analisi morfologiche dettagliate accoppiate con analisi molecolari (Daugbjerg *et al.*, 2000; de Salas *et al.*, 2003), sono stati recentemente separati diversi generi nuovi: *Akashiwo*, *Karenia*, *Karlodinium* e *Takayama*. La "rivoluzione" nel genere *Gymnodinium* ha stimolato notevolmente ulteriori ricerche su questi generi di dinoflagellati non tecati, da cui è scaturita la descrizione di diverse specie nuove. In Campania, sono presenti almeno due specie di *Karenia*, una somigliante a *K. mikimotoi* (sinonimo di *Gymnodinium mikimotoi*) e l'altra simile a *K. papilionacea*. La specie *Akashiwo sanguinea* (sinonimo di *Gymnodinium sanguineum*) è stata segnalata a basse concentrazioni nei golfi di Napoli (max 471 cell mL⁻¹) e Salerno (Foce Picentino, 94 cell mL⁻¹). Non è ancora chiarito se questa specie sia da considerare dannosa.

A seguito dell'introduzione del genere *Takayama*, è stato osservato che la specie prima classificata come *Gymnodinium pulchellum* corrisponde in realtà a due specie diverse: *T. cladochroma*, che è considerata ittiotossica, e *T. pulchella*, che invece non è tossica (de Salas *et al.*, 2003). Queste due specie differiscono per numero di cloroplasti, dimensione del nucleo e rapporto lunghezza-larghezza. Né le foto ottenute in microscopia a scansione né l'analisi del materiale fissato sono stati sufficienti ad attribuire il materiale del Golfo di Napoli classificato come *G. pulchellum* ad una delle due menzionate specie di *Takayama*. Il rapporto lunghezza-larghezza dei nostri esemplari è infatti tipico di *T. cladochroma*, mentre il numero di cloroplasti,

apparentemente elevato, corrisponderebbe meglio alla descrizione di *T. pulchella*. La forma e la posizione del nucleo sembrerebbero però differenti da quelle delle due specie. Considerando che le ricerche su questo gruppo di specie sono ancora agli albori, le specie in questione potrebbero essere ben più delle due qui menzionate, per cui non è da escludere che gli esemplari della nostra area possano appartenere ad una specie ancora da descrivere.

Tale ipotesi va verificata necessariamente con colture unialgali che permettano sia l'analisi di materiale vivo che indagini dettagliate in microscopia elettronica e con metodi molecolari. Nell'ottobre 2001, una fioritura di *Takayama* sp. (fino a $7,3 \cdot 10^6$ cell mL⁻¹) è stata osservata nel Golfo di Napoli, senza alcuna mortalità di pesci segnalata nello stesso periodo.

Anche lo stato tassonomico di un'altra specie rinvenuta nell'area e identificata come *Gyrodinium corsicum* richiederebbe ulteriori indagini. La specie fu descritta come responsabile di un'anomala colorazione verde dell'acqua nello stagno di Diana (Corsica) (Paulmier *et al.*, 1995). Successivamente essa è stata associata con morie di pesci nelle acque spagnole mediterranee ed è risultata tossica con saggi eseguiti con il copepode *Acartia grani* (Delgado & Alcaraz, 1999). Probabilmente *G. corsicum* è da trasferire al genere *Karlodinium*, con il quale ha in comune la taglia piccola, la forma del solco apicale e la presenza di un poro ventrale. Ricerche recentissime hanno dimostrato che *K. micrum*, la specie tipo del genere *Karlodinium* è sinonimo di *K. veneficum* (Bergholtz *et al.*, 2004), il cui nome ha priorità perchè stabilito precedentemente a quello di *K. micrum*, e che nel Mediterraneo c'è anche una altra specie, *K. armiger* (Bergholtz *et al.*, 2004). Lo stato tassonomico di *G. corsicum* è invece ancora incerto e lo rimarrà fino a quando non si riesaminerà materiale vivo di questa specie.

Altri flagellati

Nelle colture di diluizione seriale ottenute da campioni del Golfo di Napoli sono state identificate, con l'aiuto del microscopio elettronico a trasmissione, diverse specie potenzialmente ittiossiche di Prymnesiophyceae. Queste sono: *Chrysochromulina leadbeateri*, *C. polylepis*, *Prymnesium calathiferum* e *P. parvum* f. *patelliferum*. Mentre in passato *P. parvum* e *P. patelliferum* erano considerate due specie differenti, recentemente è stato scoperto che si tratta di due forme del ciclo vitale di un'unica specie (Larsen, 1999). Diverse specie del genere *Phaeocystis*, che include sia forme coloniali che solitarie, vengono spesso segnalate nei campioni naturali e nelle colture di diluizione seriale. L'identificazione di queste specie richiede indagini al microscopio ottico a trasmissione che evidenzino la forma e la struttura delle scaglie organiche che rivestono le cellule.

Chattonella subsalsa, raramente identificata nel Golfo di Napoli, è stata invece segnalata in concentrazioni cospicue in due casi, rispettivamente nel lago Fusaro e nel Golfo di Salerno, in corrispondenza di una colorazione brunastra dell'acqua. La mancanza di altre segnalazioni nei campioni fissati è chiaramente spiegabile perché i fissativi usati di routine (formalina, lugol) causano l'esplosione delle cellule di questa specie, che lascia un residuo non identificabile.

Colorazioni anomale

In diverse occasioni sono stati segnalati lungo le coste campane casi di colorazione anomala dell'acqua di mare. Nel luglio-agosto 1980 e 1981, si è verificata nel Golfo di Salerno una fioritura di *Alexandrium balechii*, con concentrazioni fino a $4 \cdot 10^7$ cell mL⁻¹.

Questo fenomeno si manifestava con una colorazione bruno-dorata, particolarmente intensa e visibile a pelo d'acqua durante le ore centrali del giorno, seguita da una spettacolare

bioluminescenza diffusa lungo la colonna d'acqua durante la notte, a dimostrazione di un'attività di migrazione nictemerale di questi organismi. Questo fenomeno fu all'epoca messo in relazione con le attività di dragaggio nel porto di Salerno, con conseguente rilascio di materiale sedimentario, nel quale potevano essere presenti stadi di resistenza che, germinando in massa, davano luogo alla fioritura (Marino *et al.*, 1984, riportato erroneamente come *Protoceratium reticulatum*). Studi recenti hanno dimostrato che la specie che causava fenomeni di bioluminescenza nelle acque di Sorrento circa un secolo fa, descritta Ehrenberg nel 1860 come *Peridinium splendor-maris* e per la quale egli stesso creava il genere *Blepharocysta* nel 1873, è molto simile o identica a *A. balechii*. Nel 1883 Stein illustrò erroneamente la specie con immagini di un differente organismo privo di cingolo che corrisponde a quello attualmente noto come *Blepharocysta splendor-maris* (Elbrächter *et al.*, 2004). La distribuzione geografica di *A. balechii* è molto peculiare nonostante i suoi caratteri morfologici si prestino abbastanza bene ad una identificazione certa. Infatti questa specie è stata segnalata, oltre che nell'area campana, solo lungo le coste greche e in Florida. Generalmente, distribuzioni biogeografiche così marcatamente irregolari fanno supporre un intervento umano nel trasporto di una specie da un'area all'altra, attraverso le acque di sentina delle navi (ballast waters) ovvero attraverso mitili reimpiantati da un'area all'altra. Ancora nel Golfo di Salerno una fioritura bruno-dorata di *Prorocentrum triestinum* veniva segnalata nel maggio del 1983 e del 1984.

Anche flagellati non appartenenti ai dinoflagellati sono stati in alcune occasioni responsabili di intense e anomale colorazioni dell'acqua. Nell'estate 1987, la colorazione brunastra delle acque del Golfo di Salerno e del lago Fusaro risultava dovuta a *Chattonella subsalsa*. Nel luglio 1987 nel Golfo di Napoli venne segnalata una colorazione verde-smeraldo, causata da un flagellato, la prasinoficea *Tetraselmis wettsteinii* (Thronsen & Zingone, 1988), che raggiungeva concentrazioni fino a $5 \cdot 10^7$ cell mL⁻¹. Più recentemente, nell'estate 2004, sono state segnalate fioriture di altre prasinoficee appartenenti al genere *Pyramimonas* nelle acque della costa meridionale della Campania.

Infine c'è da tener conto che in molte zone della costa campana le acque assumono una colorazione verdastra e un aspetto torbido per periodi prolungati nel corso della stagione più adatta alla balneazione. Anche in questi casi il fenomeno è dovuto in gran parte all'elevata concentrazione dei popolamenti fitoplanctonici, in genere diatomee e piccoli flagellati, che proliferano in acque costiere interessate da un elevato carico di nutrienti in condizioni di stabilità termica della colonna d'acqua.

Conclusioni

Fino ad oggi nelle acque della Campania sono stati rinvenuti 34 taxa potenzialmente tossici più 5 responsabili di colorazioni anomale. Si tratta di numeri abbastanza elevati, tenuto conto che, escludendo i cianobatteri, le specie riconosciute come tossiche in tutto il mondo sono una novantina. Questa lista fra l'altro va considerata tutt'altro che completa, dal momento che le nostre conoscenze sulle specie dannose dell'area è basata principalmente su informazioni raccolte nel corso di progetti di ricerca e monitoraggio finalizzate ad altri scopi, in aree ristrette e per periodi di tempo limitati. Ad oggi, non c'è mai stato un progetto che sistematicamente mirasse alla diversità delle specie tossiche, che richiederebbe, ad esempio, maggiore attenzione per le aree più riparate, le lagune costiere, i porti, nonché ricerche più dettagliate sul microfitobenthos e sugli stadi di resistenza bentonici. Al momento, osservando la stagionalità della maggior parte delle specie e degli eventi rilevati, appare che i periodi di rischio maggiore per le colorazioni anomale si concentrino fra la tarda primavera e l'estate, probabilmente perché la stabilità della colonna d'acqua favorisce lo sviluppo e l'accumulo di fioriture più intense, in

particolar modo di dinoflagellati, ma ovviamente anche perché aumentano, nella stagione della balneazione, le occasioni di osservare tali eventi. La possibilità di eventi tossici è invece più diffusa lungo tutto l'anno, risultando l'inverno l'unica stagione a rischio ridotto.

Fortunatamente, nonostante la varietà di specie tossiche presenti, ad oggi in Campania non si riscontrano problemi per la salute umana né a nostra conoscenza sono state segnalate morie di pesci in concomitanza di fioriture algali. Solo in alcuni casi è stato raggiunto uno stato di preallarme dovuto alla presenza di tossine DSP. Questa situazione paradossale, ancorché fortunata, può essere spiegata con alcune motivazioni diverse, alternative le une alle altre o forse concomitanti.

Seguendo la logica dei tre livelli di eventi necessari per lo sviluppo di HAB (vedi introduzione), il primo prerequisito, cioè la presenza delle specie tossiche lungo le coste della Campania è stato rispettato in più occasioni e per specie diverse. Tuttavia, alla luce della ben nota variabilità intraspecifica della produzione di tossine, non si può escludere che i ceppi presenti nella nostra area siano per la gran parte non tossici o solo debolmente tossici. Ad esempio, il livello di tossine determinato nelle due specie tossiche di *Pseudo-nitzschia* dal Golfo di Napoli è molto inferiore a quello riportato per altre specie.

L'assenza del secondo prerequisito, cioè il mancato raggiungimento di abbondanze critiche, potrebbe essere un altro dei motivi che spiegano perché nell'area campana non si registrino eventi di tossicità di origine algale. Infatti, a parte poche eccezioni, le specie elencate come tossiche raramente o mai raggiungono concentrazioni elevate. Si può inoltre ipotizzare che anche il terzo prerequisito per lo sviluppo di fioriture dannose, cioè l'interazione fra una fioritura e una risorsa o un organismo vettore, sia mancante nel nostro caso. Infatti da un lato la qualità igienica molto bassa in alcune zone, dall'altro la vocazione prettamente turistica in altre aree, hanno fino ad oggi contenuto notevolmente lo sviluppo delle attività di acquacultura, che sono in genere le prime che vengono colpite dalle fioriture di specie tossiche. Una moria di fauna ittica in un impianto di acquacultura, ovvero la presenza di tossine in mitili di allevamento, evidenzerebbero immediatamente la presenza di specie dannose. È anche possibile che le risorse esistenti non vengano colpite a causa delle caratteristiche idrografiche dell'area: la conformazione dei golfi della Campania e la circolazione delle acque consentono infatti un frequente ricambio delle acque costiere con le acque tirrene oligotrofiche, che preverrebbe l'accumulo e il ristagno di popolamenti algali più o meno dannosi nelle acque prossime alla costa. Infine, si può ipotizzare che alcuni casi di intossicazione da tossine algali nell'area possano essere scambiati per altri tipi di sindromi gastro-intestinali che sono a volte associate con l'ingestione di cibo di origine marina, contaminato ad esempio da batteri. Vale la pena ricordare l'estrema diffusione di malattie trasmesse dagli alimenti nell'Italia meridionale e in particolar modo in Campania, che potrebbe portare ad attribuire ad altre cause sindromi da tossine microalgali.

In ogni caso, quali che siano le motivazioni dell'assenza di eventi dannosi dovuti a fioriture tossiche in Campania, la nostra segnalazione di un numero così elevato di specie pericolose non andrebbe trascurata, bensì dovrebbe spingere al mantenimento dell'area sotto controllo continuo e accurato. Le condizioni che al momento mantengono basso il livello del rischio per la salute umana e per le risorse marine potrebbero infatti cambiare improvvisamente. Fluttuazioni nelle abbondanze di specie fitoplanctoniche, tossiche e non, sono infatti comunemente osservate nell'ambiente marino. Tuttavia i meccanismi ecologici alla base della variabilità quantitativa e qualitativa del fitoplancton sono noti solo dal punto di vista teorico e certamente non per le singole specie, per cui non è possibile formulare alcun tipo di previsione (Zingone & Wyatt, 2004). Inoltre, il continuo incremento d'uso delle acque costiere come fonte di cibo e sede di turismo e attività ricreative implica un aumento parallelo della probabilità di rischio: un maggior

numero di impianti di acquacultura, un aumento nel consumo di cibo di origine marina e un maggior flusso turistico possono infatti fungere da moltiplicatore naturale per il rischio da HAB.

Anche gli eventi di colorazione anomala vengono normalmente sottostimati. Infatti, sebbene rilevabili macroscopicamente, solo in pochi casi questi eventi vengono presi in considerazione ed esaminati in maggior dettaglio. La maggior parte dei fenomeni qui riportati sono stati infatti riscontrati personalmente dagli autori, e in modo del tutto accidentale. Anche per questi eventi, i meccanismi che permettono il loro verificarsi sono poco noti e richiederebbero ricerche mirate, che coinvolgano competenze nel campo dell'oceanografia e della biologia dei singoli organismi responsabili. Le conseguenze delle colorazioni anomale sono tutte a discapito delle qualità estetiche delle acque costiere, e potrebbero pertanto danneggiare fortemente le attività turistiche e ricreative, al pari dei problemi derivanti degli elevati carichi batterici o da altri tipi di micro-macroinquinanti.

Per tutti questi motivi è evidente che le operazioni di monitoraggio delle acque e di controllo degli alimenti vadano intensificate parallelamente all'aumento dello sfruttamento delle risorse marine costiere. Dal momento che le fioriture algali nocive sono fenomeni alquanto complessi e diversificati a vari livelli, da quello tossicologico a quello tassonomico ed ecologico, si rende inoltre necessario un incremento delle competenze scientifiche e analitiche appropriate e una promozione delle attività di ricerca che portino ad una migliore conoscenza dei fattori biologici ed ecologici che regolano la presenza e l'abbondanza di queste specie.

Bibliografia

- Agardh CD. *Systema algarum*. Literis Berlingianis, Lundae; 1824. p. 312
- Azmil Z, Fresnel J, Le Gal D, Billard C. Domoic acid accumulation in French shellfish in relation to toxic species of *Pseudo-nitzschia multiseries* and *P. pseudodelicatissima*. *Toxicon* 2001;39:1245-51.
- Barber RT, Hilting AK. History of the study of plankton productivity. In: Williams PJ, David NT, Reynolds CS (Ed.). *Phytoplankton productivity. Carbon Assimilation in Marine and Freshwater*. Oxford: Blackwell Science, 2002. p. 16-43.
- Bates SS. Ecophysiology and metabolism of ASP toxin production. In: Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM (Ed.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Berlin: Springer-Verlag, 1998. p. 405-26.
- Bates SS, Bird CJ, Freitas AS, Foxall R, Gilgan MW, Hanic LA, Johnson JE, McCulloch AW, Odense P, Pocklington R, Quilliam MA, Sim PG, Smith JC, Rao DVS, Todd ECD, Walter JA, Wright JLC. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Can J Fish Aquat Sci* 1989;46:1203-15.
- Bergholtz, T., Daugbjerg, N. & Moestrup, Ø. The genus *Karlodinium*: morphology, ultrastructure, species concept, and phylogeny. XI International Conference on Harmful Algal Blooms, Cape Town, South Africa. 2004.
- Bottalico A, Milella P, Felicini GP. Fioritura di *Ostreopsis* sp. (Dinophyta) nel porto di Otranto. Riunione Scientifica Annuale del Gruppo di lavoro per l'Algologia - Società Botanica Italiana, Chioggia (VE); 2002.
- Bruno M, Gucci PMB, Pierdominici E, Ioppolo A, Volterra L. Presence of saxitoxin in toxic extracts from *Gonyaulax polyedra*. *Toxicon* 1990;28:1113-6.
- Carrada GC, Casotti R, Saggiomo V. Occurrence of a bloom of *Gymnodinium catenatum* Graham in a Tyrrhenian Coastal Lagoon. *Rapp Comm int Mer Médit* 1988;31(2):61.
- Cembella AD, Lewis NI, Quilliam MA. The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirolide shellfish toxins. *Phycologia* 2000;39:67-74.

- Cerino F, Orsini L, Sarno D, Dell'Aversano C, Tartaglione L, Zingone A. The alternation of different morphotypes in the seasonal cycle of the toxic diatom *Pseudo-nitzschia galaxiae*. *Harmful Algae* 2005;4:33-48.
- Ciminiello P, Fattorusso E, Fiorino M, Montresor M. Saxitoxin and neosaxitoxin as toxic principles of *Alexandrium andersoni* (Dinophyceae) from the Gulf of Naples, Italy. *Toxicon* 2000;38:1871-7.
- Costa OG. Fauna del Regno di Napoli. Napoli: Stamperia di Azzolino e Compagno;1838. p. 24.
- Daugbjerg N, Hansen G, Larsen J, Moestrup O. Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of unarmoured dinoflagellates. *Phycologia* 2000;39:302-17.
- de Salas MF, Bolch CJS, Botes L, Nash G, Wright SW, Hallegraeff GM. *Takayama* gen. nov. (Gymnodiniales, Dinophyceae), a new genus of unarmoured dinoflagellates with sigmoid apical grooves, including the description of two new species. *J Phycol* 2003;39:1233-46.
- Delgado M., Alcaraz M. Interactions between red tide microalgae and herbivorous zooplankton: the noxious effects of *Gyrodinium corsicum* (Dinophyceae) on *Acartia grani* (Copepoda: Calanoida). *J Plankton Res* 1999;21:2361-71.
- Elbrächter M, Kusber WH, Jahn R, Hoppenrath M. *Peridinium splendor-maris* Ehrenberg is an *Alexandrium*-species, but not *Blepharocysta splendor maris* sensu Stein, 1883. *XI International Conference on Harmful Algal Blooms*. Cape Town, South Africa 2004.
- Fraga S, Bravo I, Delgado M, Franco JM, Zapata M. *Gyrodinium impudicum* sp. nov. (Dinophyceae), a non toxic, chain forming, red tide dinoflagellate. *Phycologia* 1995;34:514-21.
- Guarino G, Siano R, Giovinazzi F, Sorrentino T, Silvestro A, Muselli D. Controlli sui molluschi eduli lamellibranchi lungo la filiera di produzione e commercializzazione in Campania. *XIV Congresso Internazionale Ordine Nazionale dei Biologi*. Altavilla Milicia (PA) 2002.
- Honsell G, Poletti R, Pompei M, Sidari L, Milandri A, Casadei C, Viviani R. *Alexandrium minutum* Halim and PSP contamination in the northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (Ed.). *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO; 1996. p. 77-80.
- James KJ, Moroneya C, Rodena C, Satakeb M, Yasumoto T, Lehanea M, Fureya A. Ubiquitous 'benign' alga emerges as the cause of shellfish contamination responsible for the human toxic syndrome, azaspiracid poisoning. *Toxicon* 2003;41:145-51.
- Larsen A. *Prymnesium parvum* and *P. patelliferum* (Haptophyta) - one species. *Phycologia* 1999;38:541-3.
- LoCicero VR (Ed.). *Proceedings of the first international conference on toxic dinoflagellates blooms*. Boston: Massachusetts Science and Technology Foundation; 1975. p. 541.
- Lundholm N, Moestrup O, Hasle GR, Hoef-Emden K. A study of the *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima/cuspidata* complex (Bacillariophyceae): what is *P. pseudodelicatissima*? *J Phycol* 2003;39:797-813.
- Maclean C, Cembella AD, Quilliam MA. Effects of light, salinity and inorganic nitrogen on cell growth and spiroside production in the marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen) Balech et Tangen. *Bot Mar* 2003;46:466-76.
- Marino D, Marzocchi M, Montresor M, Solazzi A, Zingone A. Etude préliminaire du phytoplancton dans le Golfe de Salerne (Mer Tyrrhénienne méridionale). *Rapp Comm int Mer Médit* 1985;29:107-8.
- Marino D, Modigh M, Zingone A. General features of phytoplankton communities and primary production in the Gulf of Naples and adjacent waters. In: Holm-Hansen O, Bolis L, Gilles R (Ed.). *Marine phytoplankton and productivity*. Berlin: Springer-Verlag; 1984. p. 89-100.
- Mills EL. *Biological oceanography: an early history 1870-1960*. Ithaca and London: Cornell University press; 1989. p. 378.

- Montresor M, John U, Beran A, Medlin LK. *Alexandrium tamutum* sp. nov. (Dinophyceae): a new nontoxic species in the genus *Alexandrium*. *J Phycol* 2003;40:398-411.
- Montresor M, Marino D. Reproduction and cyst formation in *Scrippsiella precaria* (Dinophyceae). *G Bot It* 1989;123:157-67.
- Montresor M, Zingone A, Sarno D. Dinoflagellate cyst production at a coastal Mediterranean site. *J Plankton Res* 1998;20:2291-2312.
- Nakajima I, Oshima Y, Yasumoto T. Toxicity of benthic dinoflagellates in Okinawa. *Bull Jap Soc Sci Fish* 1981;47:1029-33.
- Noguchi T, Hwang DF, Arakawa O, Daigo K, Sato S, Ozaki H, Kawai N. Palytoxin as the causative agent in the parrotfish poisoning. In: Gopalakrishnakone P, Tan CK (Ed.). *Progress in Venom and Toxin Research*. Singapore: National University of Singapore; 1987. p. 325-35.
- Orsini L, Procaccini G, Sarno D, Montresor M. Multiple rDNA ITS-types within the diatom *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Bacillariophyceae) and their relative abundances across a spring bloom in the Gulf of Naples. *Mar Ecol Prog Ser* 2004;271:87-98.
- Orsini L, Sarno D, Procaccini G, Poletti R, Dahlmann J, Montresor M. Toxic *Pseudo-nitzschia multistriata* (Bacillariophyceae) from the Gulf of Naples: morphology, toxin analysis and phylogenetic relationships with other *Pseudo-nitzschia* species. *Eur J Phycol* 2002;37:247-57.
- Pan Y, Rao DVS, Mann KH. Acclimation to low intensity in photosynthesis and growth of *Pseudo-nitzschia multiseries* Hasle, a neurotoxic diatom. *J Plankton Res* 1996;18:1427-38.
- Paulmier G, Berland B, Billard C, Nezan E. *Gyrodinium corsicum* nov. sp. (Gymnodiniales, Dinophyceae), organisme responsable d'une "eau verte" dans l'étang marin de Diana (Corse), en Avril 1994. *Cryptogamie Algal* 1995;16:77-94.
- Paz B, Riobó P, Fernández ML, Fraga S, Franco JM. Production and release of yessotoxins by the dinoflagellates *Protoceratium reticulatum* and *Lingulodinium polyedrum* in culture. *Toxicon* 2004;44:251-8.
- Quod JP. *Ostreopsis mascarensis* sp. nov. (Dinophyceae), dinoflagellé toxique associé à la ciguatera dans l'Océan Indien. *Cryptogamie Algal* 1994;15:243-51.
- Ribera d'alcalà M, Conversano F, Corato F, Licandro P, Mangoni O, Marino D, Mazzocchi MG, Modigh M, Montresor M, Nardella M, Saggiomo V, Sarno D, Zingone A. Seasonal patterns in plankton communities in a pluriannual time series at a coastal Mediterranean site (Gulf of Naples): an attempt to discern recurrences and trends. *Sci Mar* 2004;68(1):65-83.
- Sarno D, Dahlmann J. Production of domoic acid in another species of *Pseudo-nitzschia*: *P. multistriata* in the Gulf of Naples (Mediterranean Sea). *Harmful Algae News* 2000;21:5.
- Sarno D, Zingone A, Saggiomo V, Carrada GC. Phytoplankton biomass and species composition in a Mediterranean coastal lagoon. *Hydrobiologia* 1993;271:27-40.
- Scholin CA, Gulland F, Doucette GJ, Benson S, Busman M, Chavez FP, Cordaro J, DeLong R, Vogetaere AD, Harvey J, Haulena M, Lefebvre K, Lipscomb T, Loscutoff S, Lowenstine LJ, Marin Iii R, Miller PE, McLellan WA, Moeller PDR, Powell CL, Rowles T, Silvagni P, Silver M, Spraker T, Trainer V, Van Dolah FM. Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom. *Nature* 2000;403:80-4.
- Scotto Di Carlo B, Tomas CR, Ianora A, Marino D, Mazzocchi MG, Modigh M, Montresor M, Petrillo L, Ribera D'alcalà M, Saggiomo V, Zingone A. Uno studio integrato dell'ecosistema pelagico costiero del Golfo di Napoli. *Nova Thalassia* 1985;126:99-128.
- Siano R, Giovanazzi F, Montresor M. Un esempio di controllo ambientale di una risorsa costiera naturale: il Lago Fusaro. *Biologi Italiani* 2002;8:62-73.

- Smetacek V, Montresor M, Verity P. Marine productivity: footprints in the past and steps into the future. In: Williams PJ, David NT, Reynolds CS (Ed.). *Phytoplankton productivity. Carbon Assimilation in Marine and Freshwater*. Oxford: Blackwell Science; 2002. p. 350-69.
- Taniyama S, Arakawa O, Terada M, Nishio S, Takatani T, Mahmud Y, Noguchi T. *Ostreopsis* sp., a possible origin of palytoxin (PTX) in parrotfish *Scarus oviifrons*. *Toxicon* 2003;42:29-33.
- Thronsen, J. & Zingone, A., 1988. *Tetraselmis wettsteinii* (Schiller) Thronsen comb. nov. and its occurrence in Golfo di Napoli. *G. Bot. It.* 122: 227-35.
- Tindall DR, Miller DM, Tindall PM. Toxicity of *Ostreopsis lenticularis* from the British and United States Virgin Islands. In: Granéli E, Sundström B, Edler L, Anderson DM (Ed.). *Toxic Marine Phytoplankton*. New York: Elsevier; 1990. p. 424-9.
- Tognetto L, Bellato S, Moro I, Andreoli C. Occurrence of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae) in the Tyrrhenian Sea during summer 1994. *Bot Mar* 1995;38:291-5.
- Zingone A, Casotti R, Ribera d'alcalà M, Scardi M, Marino D. 'St Martin's Summer': the case of an autumn phytoplankton bloom in the Gulf of Naples (Mediterranean Sea). *J Plankton Res* 1995;17:575-593.
- Zingone A, Montresor M, Marino D. Summer phytoplankton physiognomy in coastal water of the Gulf of Naples. *P.S.Z.N.I: Mar Ecol* 1990;11:157-72.
- Zingone A, Siano R, D'Alelio D, Sarno D. Potentially toxic and harmful microalgae from coastal waters of the Campania region (Tyrrhenian Sea, Mediterranean Sea) *Harmful Algae* 2005. (In press). Disponibile all'indirizzo: www.sciencedirect.com/science/journal/15689883; ultima consultazione 7/11/2005.
- Zingone A, Wyatt T. Harmful algal blooms: keys to the understandings of the phytoplankton ecology. In: Robinson AR, Mccarthy J, Rothschild BJ (Ed.). *The Sea*. Harvard: Harvard University Press, 2004. p. 867-926.

PRESENZA DI OSTREOPSIDIACEAE NEL BASSO ADRIATICO

Nicola Ungaro (a), Giovanni Marano (a), Anna Maria Pastorelli (a), Maria Cristina Marzano (b), Marinella Pompei (b)

(a) *Laboratorio Provinciale di Biologia Marina, Molo Pizzoli (Porto), Bari*

(b) *Centro Ricerche Marine Cesenatico, Forlì*

Introduzione

La problematica relativa alla comparsa, presenza e persistenza di microalghe marine epibentoniche potenzialmente tossiche è studiata da tempi relativamente brevi in Mediterraneo (1). In particolare, per quanto riguarda le Ostreopsidiaceae negli ultimi anni si sono verificati alcuni episodi di fioritura in alcuni areali costieri italiani, soprattutto nel bacino tirrenico, ligure e adriatico meridionale (2, 3, 4, 5).

La dinamica temporale e le modalità degli episodi osservati nell'Adriatico meridionale sono descritti di seguito.

Dinamiche temporali e modalità di fioritura in Adriatico meridionale

Durante il mese di ottobre dell'anno 2000 alcuni pescatori delle marinerie del Nord-Barese accusano bruciori/fastidi alle mani durante le operazioni di pulitura delle reti da posta. Gli stessi pescatori comunicano al Laboratorio Provinciale di Biologia Marina di Bari tali inusuali eventi, e contemporaneamente inviano allo stesso Laboratorio campioni di residui vegetali (essenzialmente macroalghe) intrappolati nelle reti.

L'analisi accurata dei campioni evidenzia la presenza di microalghe attribuite al genere *Ostreopsis*.

Gli episodi riportati dai pescatori nel 2000 rimangono comunque isolati, e terminano in un arco temporale breve.

Nel periodo luglio-agosto 2001 alcune aree costiere del litorale barese (Adriatico sud-occidentale) sono state interessate da fenomeni di "sofferenza" dell'ambiente marino, con segnalazioni sulla presenza di aggregati pseudo-mucillaginosi in superficie e localizzate morie di organismi, oltre che malesseri quali rino-faringiti, congiuntiviti e dermatiti, riscontrati in numerosi bagnanti.

In questa occasione il Laboratorio Provinciale di Biologia Marina di Bari viene ufficialmente interessato alla problematica da differenti istituzioni pubbliche (Capitanerie di Porto, Uffici Veterinari, Amministrazioni Comunali, Provinciale e Regionale). I fenomeni sono riportati con una certa eco anche dai mass-media sia a livello locale che nazionale, con interviste a biologi e tecnici dello stesso Laboratorio.

In particolare, nel mese di agosto 2001, a seguito delle diverse segnalazioni da parte delle autorità competenti, tecnici e biologi del Laboratorio Provinciale di Biologia Marina di Bari si recarono presso diversi tratti costieri dell'Adriatico sud-occidentale, per constatare gli eventi e campionare i siti.

In un sito, localizzato immediatamente a sud della cittadina di Mola di Bari, è stata approfondita l'indagine (Figura. 1).

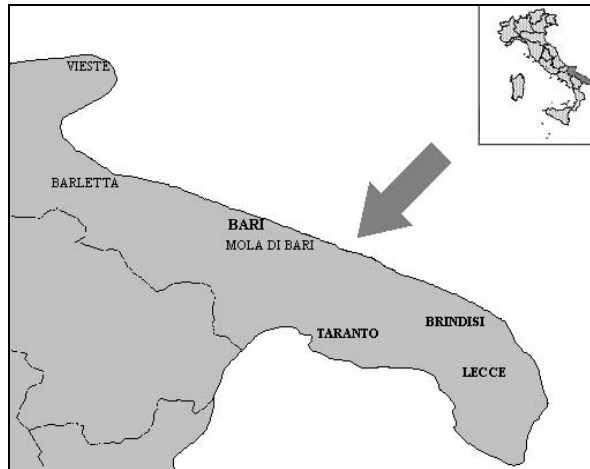


Figura 1. Area interessata alla fioritura di *Ostreopsis*

Durante i sopralluoghi si è proceduto ad un'ispezione visiva, oltre che al prelievo di campioni di acqua e organismi per le successive analisi. Alcune variabili sono state misurate in loco mediante l'utilizzo di una sonda multiparametrica.

L'ispezione visiva del luogo ha evidenziato una discreta sospensione di macroalghe frammentate. Inoltre, nelle pozze di marea circostanti, si è rilevata una certa presenza di organismi marini morti. Più in particolare si trattava di alcuni crostacei decapodi dei generi *Eriphia* e *Pachygrapsus*, oltre ad alcune oloturie e spugne.

Nello stesso tratto costiero le acque superficiali presentavano i valori dei parametri chimico-fisici illustrati nella Tabella 1. Sia i valori di temperatura (compresi tra 26,4 e 27,12 °C), sia quelli di salinità (compresi tra 36,75 e 38,44 ‰) e di pH (compresi tra 8,00 e 8,16) rientravano nel range di normalità per l'area e il periodo; la concentrazione dei nutrienti, in special modo l'azoto nitrico, è invece risultata decisamente superiore alle medie di riferimento come risulta dalla relazione finale del Settore Ecologia, Assessorato all'Ambiente della Regione Puglia, "Monitoraggio delle acque costiere (Fiume Candelabro, Brindisi) marzo 2000-dicembre 2000". L'analisi dei nutrienti è stata effettuata per via spettrofotometrica, in accordo con le metodiche standard (6).

Tabella 1. Variabili chimico-fisiche misurate in campioni prelevati nell'area interessata dalla fioritura di *Ostreopsis*

Variabili	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
Temperatura (°C)	26,4	27,12	26,4	26,74
Salinità (g/L)	36,75	38,44	37,87	37,87
pH	8,00	8,06	8,16	8,08
N-NO ₂ (µg/L)	21,7	8,5	n.e.	n.e.
N-NO ₃ (µg/L)	497,6	136	435	307
P-PO ₄ (µg/L)	4,2	3,6	3,29	4,61
P-tot. (µg/L)	169,7	54,2	55,5	23,2

n.e.: non effettuato

L'analisi del fitoplancton, previa fissazione in formaldeide neutralizzata al 4%, si è seguita la metodologia di Utermöhl (7) e inoltre quote-parti del campione sono state analizzate nei laboratori dell'Istituto Ricerche Marine di Cesenatico, anche mediante la metodica del Calcofluor.

I risultati dell'analisi del fitoplancton hanno evidenziato una composizione quali-quantitativa abbastanza caratteristica, con poche specie di microalghe presenti tra cui *Ostreopsis* sp., che risultava la più abbondante con oltre 1.500.000 cell mL⁻¹. Come detto, la determinazione specifica degli individui appartenenti al genere *Ostreopsis* è stata resa possibile grazie anche alla metodica Calcofluor; in seguito a tali osservazioni è stata ipotizzata una probabile attribuzione alla specie *O. ovata* Fukujo, dinoflagellata tipica delle aree subtropicali e tropicali (Figura. 2).



Figura 2. Determinazione Calcofluor di *O. ovata*

In tutte le segnalazioni la fioritura algale appariva strettamente legata alla situazione stagionale e meteomarina nei giorni precedenti il fenomeno; infatti un lungo periodo di alta pressione atmosferica (forte irraggiamento), in coincidenza con condizioni di mare calmo e assenza di vento (scarso idrodinamismo), sembra favorire la fioritura microalgale nei mesi più caldi.

Per quanto riguarda la moria degli organismi, e le patologie riscontrate in alcuni bagnanti del luogo, ricordiamo che le alghe del genere *Ostreopsis* sono potenzialmente tossiche, sembra in relazione alla componente idrosolubile della tossina (1); le morie associate alla fioritura potrebbero essere legate a tale aspetto, così come le patologie umane riscontrate potrebbero essere riconducibili ad un effetto aerosol, anche se tale ultimo fenomeno è stato documentato solo per il genere *Gymnodinium* (8). Anche gli aspetti legati alla balneazione e le problematiche sanitarie affrontate durante gli episodi nell'Adriatico meridionale sono stati comunque riportati e discussi in ambito scientifico (9).

In seguito a questi fenomeni di fioritura avvenuti nell'agosto 2001, e data la complessità della problematica, appariva dunque necessario proseguire le indagini sull'argomento, al fine di meglio definire le dinamiche e i processi che regolano sia la fioritura che la tossicità delle microalghe in questione. A questo scopo, il Centro Ricerche Marine di Cesenatico organizzava nel gennaio del 2002 un incontro *ad hoc* sull'argomento, a cui era invitato a partecipare il Laboratorio Provinciale di Biologia Marina di Bari in qualità di referente per la Regione Puglia. Sulla base delle indicazioni scaturite durante il suddetto incontro, nel mese di marzo del 2002 il Laboratorio Provinciale di Biologia Marina di Bari era direttamente interessato dal Ministero dell'Ambiente per la problematica in oggetto, anche in relazione del ruolo dello stesso

Laboratorio nell'ambito del Monitoraggio delle Acque Marine Costiere Italiane (Coordinamento per la Regione Puglia).

Infine, nel luglio del 2003 il Laboratorio Provinciale di Biologia Marina di Bari presentava una bozza di programma sull'argomento all'Assessorato all'Ambiente della Regione Puglia, Settore Ecologia. La bozza era stata preparata su indicazione e di concerto con lo stesso Assessorato, al fine di studiare nel maggiore dettaglio possibile le cause della comparsa, presenza e persistenza di microalghe marine epi-bentoniche potenzialmente tossiche nelle aree costiere pugliesi.

In conclusione, in considerazione dell'occorrenza dei fenomeni in diverse zone delle acque marine italiane, e degli aspetti multidisciplinari da affrontare e studiare, sarebbe auspicabile un coordinamento effettivo di tutte le attività sull'argomento, con la compartecipazione di Organismi titolati (Istituto Superiore di Sanità, Ministero dell'Ambiente, Centri Scientifici di riferimento, ecc.).

Bibliografia

1. Vila M, Garcés E, Maso M. Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. *Aquat Micr Ecol* 2001;26:51-60.
2. Tognetto L, Bellato S, Moro I, Andreoli C. Occurrence of *Ostreopsis ovata* (Dinophyceae) in the Tyrrhenian Sea during summer 1994. *Bot Mar* 1995;38:291-5.
3. Sansoni G, Borghini B, Camici G, Casotti M, Rustighi C. Fioriture algali marine di *Ostreopsis ovata* e malesseri da inalazione di aerosoli marini: un problema emergente. Abstract 3° *Convegno Nazionale delle Scienze del Mare*. Conisma. Genova, 22-25 novembre 2000. p.270.
4. Di Turi L, Lo Caputo S, Marzano MC, Pastorelli AM, Pompei M, Rositani L, Ungaro N. Sulla presenza di *Ostreopsidiaceae* (Dinophyceae) lungo il litorale barese. *Biol Mar Medit* 2003;10(2):675-8.
5. Simoni F, Di Paolo C, Gaddi A, Lepri L, Nuti S, Melley A. Microalghe dinoflagellate epifitiche e bentoniche nelle scogliere del Mar Ligure sud-orientale. *Biologia Marina Mediterranea* 2004;11(2):530-33.
6. Strickland JDH, Parson TR. A practical and handbook of sea water analysis. *Bull Fish Res Bd Canada* 1972;167:311.
7. Zingone A, Honsell G, Marino D, Montresor M, Socal G. Fitoplancton. In: Innamorati M, Marino D, Ferrari I, Ribera d'Alcalà M (Ed.). *Metodi nell'ecologia del plancton marino*. Trieste: Nova Thalassia; 1990. p.183-198.
8. Pierce RH, Henry MS, Proffitt LS, Hasbrouck PA. Red tide toxin (brevetoxin) enrichment in marine aerosol. In: Graneli E, Sundström S, Elder L, Anderson DM (Ed.). *Toxic Marine Phytoplankton* New York: Elsevier; 1990. p. 397-402.
9. Gallitelli M, Addante LM, Procacci V, Stea F, Staiano C, Cicconi V, Ungaro N, Poletti R, Felicini G, Gentiloni N, Sabbà C. Dalla tropicalizzazione del clima... alla "tropicalizzazione della medicina". Cambiamenti climatici e nuove patologie. Le alghe tossiche, per esempio. *Giornale Italiano di Medicina d'urgenza e Primo Soccorso* 2004;6(1):40.

FIORITURE ALGALI DELLA COSTA MARCHIGIANA

Cassandra Mengarelli
ARPAM Dipartimento di Ancona

Il presente intervento nasce dall'esigenza di fare il punto della situazione su quanto sta accadendo lungo le coste dei nostri mari, in materia di fioriture algali.

Le richieste puntuali ai nostri Servizi, da parte dell'Istituto Superiore di Sanità, di segnalazioni e rapporti in merito al fenomeno delle fioriture algali, aveva la necessità di espletarsi in una giornata di lavori dedicata a questo problema, valutando l'andamento che uno o più fenomeni di questo tipo hanno nell'arco temporale, la territorialità dei fenomeni di cui sopra, la ripetitività ed la tipologia quali-quantitativa degli stessi.

Nell'affrontare il discorso delle fioriture algali, non si può prescindere dalla premessa che le alghe, come tali, sono organismi ubiquitari e dunque anche il fenomeno di una loro abnorme crescita è segnalata in tutti i mari del mondo.

Mi fa piacere a questo proposito proiettare l'immagine delle coste americane, interessate nel tempo dalle diverse fioriture algali di alghe tossiche di vario tipo.

Dopo un breve *excursus* sulla vita delle alghe, l'attenzione va focalizzata sulla collocazione che le alghe occupano lungo la catena alimentare; in considerazione della loro posizione occupata, scaturisce l'importanza del riconoscimento quali-quantitativo delle stesse, finalizzato al risvolto sanitario, che esse possono avere nel caso siano ritenute tossiche, per l'uomo e gli animali.

A conferma di quanto sostenuto sopra, vanno ricordate le fioriture algali di *Gymnodinium* breve segnalata in Florida nel 1996, e sempre nel 1996 in Florida, la grande moria di Cetacei ad essa conseguente, la moria di pesci per ingestione dell'alga tossica *Karenia brevis* e la moria di *Trichurus manatus latirostris*, per conseguente ingestione di pesci a loro volta intossicati o la moria di cormorani nel North Carolina del 1991, per ingestione di acqua infestata da *Pseudonitzschia australis*. Non si può evitare la comparazione tra le immagini di fioritura algale da *Noctiluca scintillans* avvenuta in Florida nel 1991 e quelle da medesima fioritura in zona Ancona-Palombina-Torrette-Falconara dell'aprile 2003, fenomenologicamente simile alla prima, ma segnalata all'altro capo del mondo, a conferma dell'ubiquitarità algale di cui si parlava prima, facilitata per di più dalle possibilità di trasporto algale tramite *biofouling*, *ballast waters* ecc.

La situazione nelle Marche

Si ripropongono puntualmente al gennaio, febbraio, marzo di ogni anno, fioriture algali di *Skeletonema costatum* di considerevoli entità; negli ultimi tre anni si ripresenta puntualmente la fioritura da *Noctiluca scintillans* fortunatamente poco estesa nel tempo; torna ormai da circa otto anni, nel periodo dell'anno che va dalla prima quindicina di agosto sino, nella stagione più sfortunata, a tutto settembre, della *Fibrocapsa japonica*, alga, come dice il nome di provenienza giapponese, tipica di alti mari e latitudini, che sembra aver trovato, in estate, nelle acque basse e surriscaldate della nostra costa sabbiosa a Nord del Conero, il suo ambiente ideale.

Ha tutte le connotazioni della marea colorata, acque bruno-vinaccio. Iniziata a comparire timidamente e limitatamente ad un piccolo ambito, oggi si presenta sempre come fenomeno molto esteso e marcatamente evidente.

Alla sfortuna di questo fenomeno che capita al culmine della stagione balneare con comprensibili disagi alla balneazione, al turismo e tutto quanto graviti attorno ad esso, non si associa fortunatamente, la conseguenza più tipica di questa fioritura algale nei mari giapponesi e cioè la moria di pesci, che la fanno ritenere l'alga killer dei vivai e della piscicoltura.

Si ebbe nel 1998, un fenomeno di moria di pesci successiva a fioritura di *Fibrocapsa japonica* nella fascia di mare antistante il porto di Ancona, ma le analisi dei reperti autoptici, rilevarono trattarsi di moria per soffocamento branchiale da intasamento algale e non da tossine (emolisine), tipiche di questa alga.

Altre alghe tossiche vengono ricercate in ottemperanza alla legge 530/1992, per il controllo delle acque adibite alla molluschicoltura e cioè *Lingulodinium polyedra*, *Pseudonitzschia* spp., *Gonyaulax grindley*, *Dinophysis* nella sue varie specie e *Alexandrium minutum*.

Alla presenza in acqua di queste alghe tossiche per l'uomo consegue la stima biotossicologica su mouse e, in caso di positività, l'inevitabile interdizione alla raccolta e al consumo.

Nel merito, la situazione nella regione Marche, si è mostrata altalenante, con anni di assoluta assenza di tossicità (1999-2000), brevi periodi di interdizione (2001), lunghi periodi di interdizione (2002), con gravissimo nocimento al settore economico di riferimento e periodi di possibile convivenza commerciale (2003).

Ritengo che le occasioni di confronto come questa di oggi, le possibilità di dialogo tra operatori del settore che tengano ognuno di noi e tutti insieme, al corrente di quanto accade altrove, rispetto al luogo in cui lavoriamo e dunque inevitabilmente conosciamo meglio, e perché no, la possibilità che a questi incontri possano seguire progettazioni di rete informative tra regioni e quant'altro possa risultare utile ad una conoscenza sempre più ampia del fenomeno fioriture e alghe tossiche, costituiscano

FIORITURE TOSSICHE DI *OSTREOPSIS OVATA* SUL LITORALE APUANO

Chiara Rustighi, Monica Casotti
ARPAT, Dipartimento Provinciale di Massa Carrara

Durante l'estate del 1998 il dipartimento ARPAT di Massa Carrara è stato contattato dalla Unità Funzionale Igiene e Sanità Pubblica dell'ASL 1, in seguito alla segnalazione che alcune decine di bagnanti avevano accusato malesseri dopo aver soggiornato su un breve tratto del litorale apuano. L'insorgenza della sintomatologia era rapida (2-3 ore dopo il soggiorno presso la riva) e la sua durata breve (proporzionale all'esposizione, ma regressione in media entro 12 ore) (Figura 1); i sintomi erano reazioni simil-allergiche (Figura 2); l'agente responsabile doveva essere veicolato per via aerea, poiché erano colpite anche persone che avevano soggiornato nell'area senza bagnarsi nelle acque.

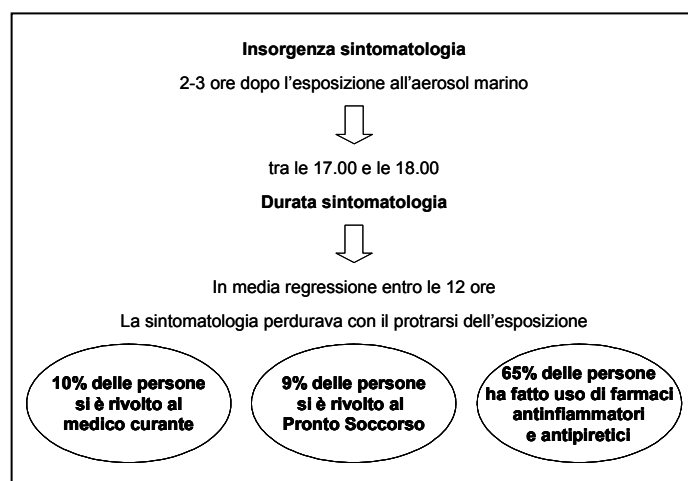


Figura 1. Sintomatologia: insorgenza e durata
Dati forniti da ASL 1 di Massa Carrara, Unità Funzionale Igiene e Sanità Pubblica

L'intervento dell'ARPAT è stato richiesto per ricercare le cause di tali malesseri, per le quali veniva avanzata una ridda di ipotesi: da trattamenti fitosanitari condotti nelle aree circostanti, alla presenza di depositi di materiali tossici e/o nocivi contenuti nelle sabbie provenienti dal dragaggio del Porto di Viareggio e accumulate poco distanti, a scarichi tossici o trattamenti irregolari (clorazione eccessiva) dei fossi o dell'effluente di depuratori.

Pur non trascurando tali ipotesi, rivelatesi ben presto infondate, la nostra attenzione è stata rivolta fin da subito all'ambiente marino antistante il tratto di litorale interessato dall'acme dell'episodio, in quanto è apparso in evidente stato di sofferenza. In particolare, le acque erano opalescenti e si notavano chiazze schiumose biancastre galleggianti e grumi centimetrici marroni galleggianti (di aspetto repulsivo perché simili a frammenti di escrementi). Tale tratto, lungo circa 400 m, è compartimentato in specchi d'acqua (vasche) da opere di difesa dall'erosione del litorale: scogliere frangiflutti emerse perpendicolari alla costa (pennelli) e scogliere soffolte parallele ad essa (Figura 3).

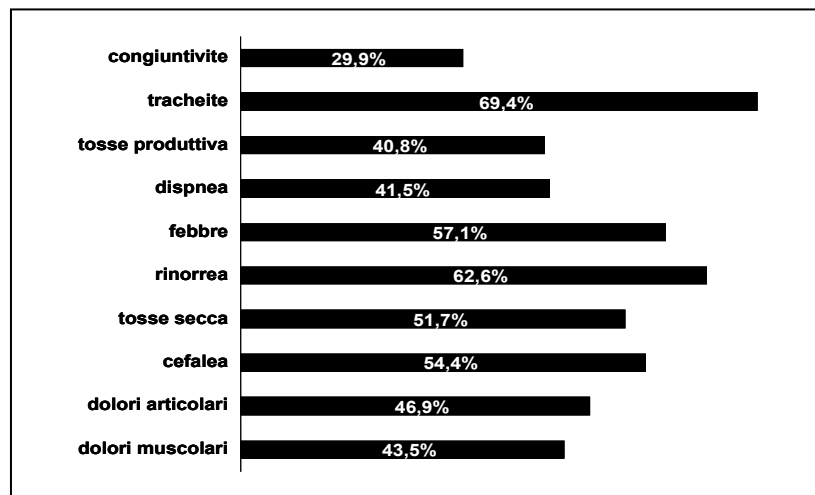


Figura 2. Sintomatologia riferita dai soggetti all'esame anamnesico

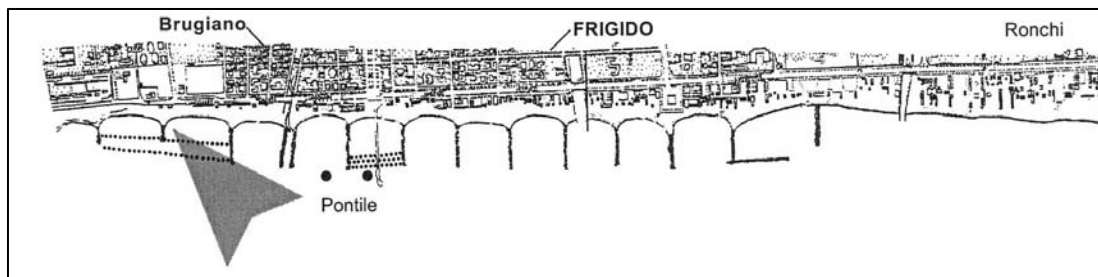


Figura 3. Tratto di litorale massese (indicato dalla freccia) in cui si è verificato l'acme dello stato di sofferenza dell'ambiente marino e dei malesseri accusati dai bagnanti. Sono evidenti i pennelli perpendicolari alla riva e (in tratteggio) le scogliere soffolte parallele ad essa

L'intuizione, rivelatasi poi determinante per la delucidazione del fenomeno, è stata quella di non limitarsi a prelievi di campioni d'acqua, ma di osservare direttamente lo stato dell'ambiente e delle cenosi bentoniche, sia dalla superficie che immergendosi in apnea.

Ne è emerso un quadro di gravi alterazioni, soprattutto a carico dei popolamenti dei piani mesolitorale e infralitorale. Nel piano mesolitorale, le popolazioni di *Patella* sp., *Monodonta turbinata*, *Actinia equina* che vi dimorano abitualmente, apparivano sofferenti, rarefatte e in alcuni punti addirittura scomparse; molto frequenti le impronte chiare lasciate dalle patelle morte. I banchi di *Mitylus galloprovincialis* presentavano il bisso allentato, così che fluttuavano col moto ondoso; alcuni, invece, avevano subito un'estesa moria, così che erano rimaste solo le valve aperte, attaccate agli scogli o cadute sul fondo sabbioso. Estese morie interessavano anche i banchi di denti di cane (Cirripedi balanidi).

Più in basso, nell'infralitorale, la superficie degli scogli presentava un aspetto spettrale: quasi completamente priva dell'abituale copertura macroalgale e di invertebrati, era rivestita da una pellicola gelatinosa bruno-rossastra (i cui frammenti, distaccatisi, producevano i grumi galleggianti scuri sopra citati). I ricci di mare (*Paracentrotus lividus*) erano per la maggior parte morti e caduti sul fondo, mentre i pochi sopravvissuti presentavano vari gradi di perdita degli aculei; le stelle di mare (*Coscinasterias tenuispina*) mostravano un'anomala postura delle braccia, rivolte verso il dorso, e vari gradi di perdita delle braccia stesse (Figura 4).

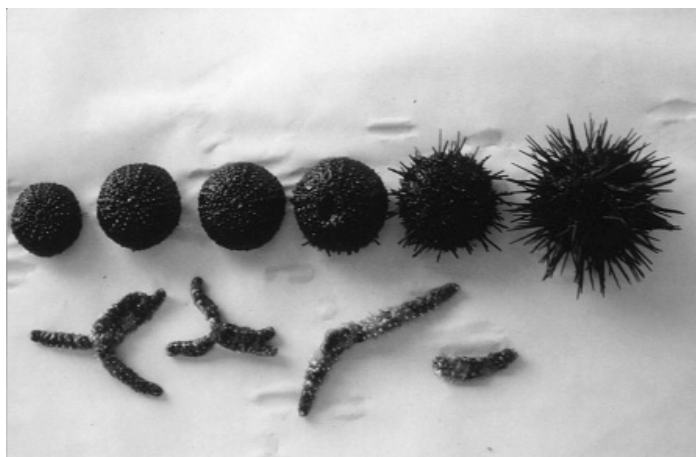


Figura 4. Ricci di mare (*Paracentrotus lividus*) ancora vivi ma con vari gradi di perdita degli aculei, e stelle marine (*Coscinasterias tenuispina*) con vari gradi di perdita delle braccia

Scavando la sabbia sotto gli scogli, si notavano estese chiazze nere sulla loro superficie inferiore, segno tangibile di spiccati processi anaerobici; anche la sabbia, sotto lo strato superficiale dell'abituale colore grigio, era nerastra. Sono stati osservati anche numerosi dermascheletri di spatangidi privi di aculei, mentre è stata raccolta la segnalazione di una moria di polpi (*Octopus vulgaris*), rinvenuti spiaggiati la settimana precedente.

All'osservazione al microscopio stereoscopico, le chiazze biancastre galleggianti sono risultate costituite da migliaia di esoscheletri di cirripedi balanidi. L'analisi microbiologica dei campioni d'acqua, come prevedibile, non ha mostrato particolari segni di contaminazione fecale, mentre l'osservazione microscopica dei campioni d'acqua e dei frammenti di pellicola gelatinosa raccolti ha rivelato una abnorme concentrazione di cellule algali, rispettivamente 3-50 mila cell mL⁻¹ e 250 milioni-3 miliardi cell mL⁻¹ (Figura 5), in un primo momento identificate (erroneamente) come *Prorocentrum micans* e in seguito (correttamente) come *Ostreopsis ovata* (Figura 6).

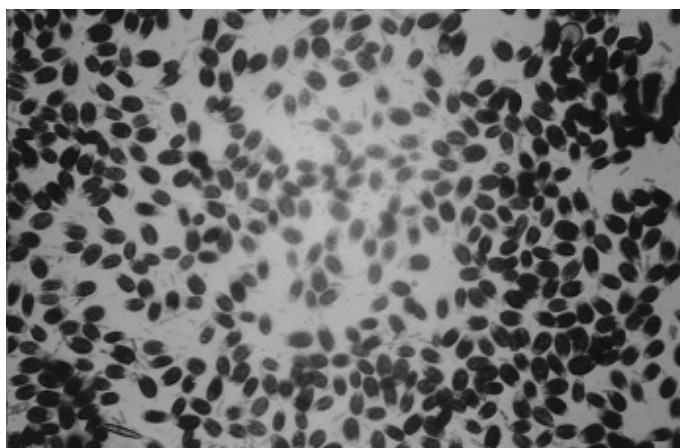


Figura 5. All'osservazione microscopica i frammenti della pellicola gelatinosa bruno-rossastra che ricopre gli scogli rivelano una massiccia fioritura della microalga bentonica *O. ovata*

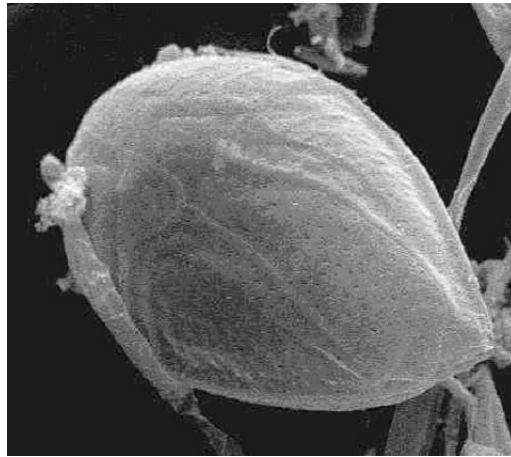


Figura 6. Fotografia al microscopio elettronico a scansione di *Ostreopsis ovata* (Florida Marine Research Institute)

Sebbene in letteratura non fossero segnalati casi di malesseri umani conseguenti all'esposizione ad aerosol marini in specchi acquei interessati da fioriture delle due microalghe, il quadro ambientale forniva evidenze sufficienti a farci avanzare come ipotesi esplicativa causale dei malesseri l'inalazione di aerosol marini contenenti sostanze tossiche microalgali. Prudentemente, considerata l'assenza di segnalazioni in letteratura, avanzammo anche, come ipotesi alternativa, l'inalazione di sostanze derivanti dalla decomposizione degli organismi marini morti (animali e vegetali), pur segnalando che l'assenza di disturbi umani in casi di estese morie di animali marini (es. quelle associate alle mucillagini dell'Adriatico), faceva propendere per l'ipotesi di una tossicità delle microalghe stesse.

Durante le stagioni estive successive (2000 e 2001), la fioritura di *O. ovata* si è verificata nuovamente, ma con un'intensità minore e accompagnata da un numero inferiore di casi di malessere umano; nell'ambito di questi due episodi abbiamo potuto appurare che non erano presenti altre microalghe tossiche.

Nell'estate del 2002 e in quella del 2003 le fioriture di *O. ovata* hanno assunto nuovamente le proporzioni di quella del 1998 per l'intensità delle conseguenze umane e sulle biocenosi marine.

Dopo 6 anni di osservazioni e indagini è possibile concludere che la fioritura di *O. ovata* è divenuta oramai un evento frequente nelle acque del litorale apuano e la sua comparsa determina estese morie di organismi marini e malesseri dei bagnanti.

Va tuttavia precisato che, sebbene l'acme delle conseguenze ambientali e umane si manifesti nel breve tratto di litorale descritto, la fioritura di *O. ovata* ha sempre interessato l'intero litorale apuano e spesso, da segnalazioni raccolte, anche quello di intere regioni (es. Liguria, Toscana, Lazio, Puglia).

Ciò fa supporre che la manifestazione dei sintomi a carico dell'uomo si verifichi solo laddove la fioritura algale è particolarmente intensa.

È verosimile che fattori favorenti siano lo scarso ricambio idrico (localmente causato dalla presenza delle scogliere) e il conseguente aumento della temperatura dell'acqua: nel tratto di mare apuano "incriminato" è stata, infatti, registrata la massima temperatura media estiva delle acque (Figura 7).

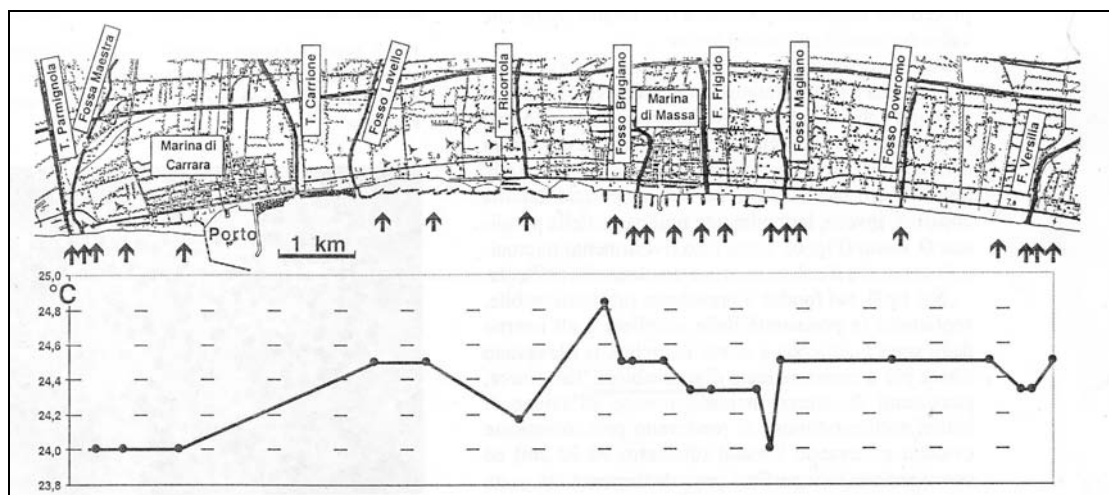


Figura 7. Andamento della temperatura delle acque lungo il litorale apuano (media dei mesi giugno-agosto 1998; misure bimensili). La massima intensità della fioritura algale e della compromissione delle biocenosi bentoniche si è manifestata nello specchio acque con la temperatura più elevata. Le frecce indicano la localizzazione dei punti di misura della temperatura

La moria degli organismi marini può essere imputabile in parte ad un'intossicazione diretta e in parte ad un'azione di soffocamento dovuta alla copertura uniforme per opera della pellicola gelatinosa. I malesseri accusati dai bagnanti, invece, sono presumibilmente dovuti all'inalazione di aerosol carico di tossina algale. Può essere ragionevolmente scartata l'ipotesi che vede responsabili dei malesseri le sostanze provenienti dalla decomposizione degli organismi marini, visto che in altre zone in cui questi sono stati interessati da massicce morie non si è mai manifestata una sintomatologia analoga.

Considerata l'estensione geografica del fenomeno – al quale sono ormai esposte tutte le coste italiane – è auspicabile che i classici controlli routinari delle acque di balneazione previsti per legge siano affiancati da un monitoraggio diretto delle fioriture di *O. ovata*.

A tal fine possono rivelarsi utili l'osservazione di indizi rilevabili dalla superficie (quali le impronte chiare sugli scogli lasciate dalle patelle morte) e, soprattutto, immersioni subacquee periodiche per verificare visivamente alterazioni delle biocenosi bentoniche, con particolare riguardo a quelle dei substrati duri. Ciò, certamente, non rimuoverebbe le cause scatenanti del fenomeno, ma consentirebbe alle autorità di affrontare con maggior cognizione di causa il problema dei malesseri dei bagnanti, segnalando le aree critiche e adottando, se del caso, misure preventive. Tra queste ultime, sembrano particolarmente raccomandabili interventi volti a migliorare il ricambio idrico.

FIORITURE TOSSICHE IN EMILIA ROMAGNA E ATTIVITÀ DEL CENTRO NAZIONALE DI RIFERIMENTO PER LE BIOTOSSINE MARINE

Anna Milandri, Marinella Pompei e Roberto Poletti

Centro Ricerche Marine, Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine, Cesenatico, Forlì

Il Centro Ricerche Marine nasce a Cesenatico nel 1965 come Centro Universitario di Studi sulla Fauna Marina Commestibile allo scopo di promuovere attività didattica e di ricerca sulla produzione ittica. Nel 1993 è nominato Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Biotossine Marine (NRL) dalla Comunità Europea con Decisione del Consiglio 93/383/CEE del 14/06/93 (GUCE Legge 166/31, del 08/07/93).

Tale riconoscimento viene confermato il 29 aprile 1999 con Decisione 1999/312/CE (GUCE Legge 120/37 del 08/07/99).

In questo ambito, i compiti istituzionali di ogni Laboratorio Nazionale di Riferimento, sanciti dall'art. 2 della Decisione Comunitaria, sono quelli di:

- *Provvedere alla diffusione delle informazioni, fornite dal Laboratorio Comunitario di Riferimento, presso l'Autorità competente dello Stato membro e i laboratori nazionali incaricati dell'analisi delle biotossine marine.*

A tal proposito i Laboratori Nazionali di Riferimento (NRLs) collaborano con il Laboratorio Comunitario di Riferimento (CRL), identificato, all'art. 4 della stessa Decisione, nel Laboratorio del "Ministerio de Sanidad y Consumo" in Vigo (Spagna), con "Incontri" e "Gruppi di Lavoro" organizzati annualmente nel corso dei quali vengono presi in esame:

- nuovi materiali di riferimento certificati;
 - studi di eventuali nuovi episodi di tossicità verificatisi nei mari europei;
 - piani di sorveglianza e campionamento;
 - validazione di metodi alternativi al test biologico (ancora utilizzato, per legge, in molti Paesi dell'Unione Europea);
 - attività di accreditamento;
 - elaborazione di Decisioni della Commissione Europea (quali, ad esempio, la 2002/225/EC e la 2002/226/EC).
- *Assistere l'Autorità Competente nella organizzazione del sistema di controllo delle biotossine marine.*
- A tal riguardo diverse sono le collaborazioni, fra il Centro Ricerche Marine, il Ministero della Salute e l'Istituto Superiore di Sanità, su:
- elaborazione di linee guida per il piano di monitoraggio del fitoplancton tossico e della biotossine marine;
 - messa a punto delle metodiche di legge per la determinazione della ASP, in ottemperanza alla Direttiva 97/61/CE;
 - messa a punto della metodica per la determinazione della DSP, Decreto 16 maggio 2002, GU n. 165 del 16/07/2002.
- *Coordinare le attività dei vari laboratori nazionali incaricati delle analisi delle biotossine marine.*

Il Centro Ricerche Marine collabora e svolge attività di aggiornamento del personale tecnico e sanitario dei seguenti laboratori: ARPA Friuli Venezia Giulia (Dipartimento di Gorizia), Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (sede di Padova), Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna (sezione di Ferrara), Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (sezione di Ancona), Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia (sezione di Palermo), Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno (sezione di Napoli), Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Val d'Aosta, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna.

- *Organizzare prove comparative fra i vari laboratori nazionali incaricati dell'analisi delle biotossine marine.*

Il Centro Ricerche Marine periodicamente provvede alla raccolta e preparazione, con distribuzione ai laboratori sopracitati, di campioni di molluschi tossici da utilizzarsi per i *ring test* delle analisi delle biotossine marine del tipo DSP, PSP e ASP.

Due episodi in particolare, verificatisi a metà degli anni 70, hanno contribuito a focalizzare l'interesse scientifico del Centro Ricerche Marine sui problemi delle microalghe marine tossiche e delle biotossine marine, precisamente:

- nell'estate del 1975 il primo grave episodio di moria di pesce bentonico, avvenuto nel mar Adriatico, lungo la costa dell'Emilia Romagna nell'area fra Porto Garibaldi e Cesenatico. In quell'occasione, decine di tonnellate di organismi marini, soprattutto piccoli pesci, vennero spiaggiati, provocando, con il cattivo odore conseguente alla loro putrefazione, seri problemi alle attività turistiche. Le ricerche condotte rilevarono la presenza di una fioritura microalgale sostenuta da *Ceratium* spp, responsabile di danni meccanici all'epitelio branchiale della fauna ittica e di ipossia/anossia (1);
- nel 1976 e nel 1977 i primi casi di intossicazione umana dovuti al consumo di prodotti della pesca, di importazione, contaminati da biotossine. Si trattò di mitili tossici della Galizia contaminati da PSP, nel primo caso (2) e di pesci contenenti tetrodotossine, provenienti da Formosa, nel secondo (3).

Da allora è stata avviata un'intensa attività di studi e ricerche su tali fenomeni, per comprenderne le cause e le implicazioni igienico-sanitarie. Questa attività vede da anni il Centro Ricerche Marine impegnato in un continuo e sistematico monitoraggio delle acque costiere emiliano-romagnole, per la caratterizzazione e distribuzione del fitoplancton, la valutazione delle concentrazioni dei fitopigmenti e dei sali nutritivi, lo studio dei possibili effetti delle microalghe sulla fauna marina e sull'uomo.

Dai dati raccolti è stato evidenziato un primo periodo di circa 11 anni, dal 1976 al 1987, caratterizzato dal susseguirsi di fioriture stagionali delle specie:

- *Skeletonema costatum* (con valori massimi anche di 200×10^6 cell mL^{-1}) e *Chaetoceros* spp che, nel periodo inverno-primavera, in concomitanza all'ingresso di acque dolci dal bacino padano, hanno determinato intensa colorazione giallo-bruna delle acque.
- *Noctiluca scintillans* (con 9×10^6 cell mL^{-1}), responsabile nei mesi primaverili della formazione di strisce rosso-arancio di aspetto gelatinoso. Questa specie con il suo elevato contenuto di ammoniaca è ritenuta responsabile, in diverse parti del mondo, di morie di pesci (4).
- *Diplopsalis lenticula* (max 30×10^6 cell mL^{-1}) e *Prorocentrum micans* (max 20×10^6 cell mL^{-1}), che sempre nel periodo primaverile hanno determinato rispettivamente maree colorate in rosa e rosso-bruno.

- *Lingulodinium polyedrum* (max 15×10^6 cell mL^{-1}), responsabile, nei mesi estivi, di maree rosse spesso associate alla morte di organismi bentonici, in seguito ai fenomeni di ipossia/anossia conseguenti alla degradazione delle cellule algali.
- *Gymnodinium* sp (max 200×10^6 cell mL^{-1}) che nei mesi estivo-autunnali ha dato origine ad intensa colorazione (verde pisello) delle acque.

Dal 1987 in poi si è assistito ad una evoluzione di queste fioriture algali e in particolare ad una graduale diminuzione della loro incidenza, unita ad un sensibile decremento del loro numero di cellule.

Accanto alle specie *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp, *Noctiluca scintillans* e *Lingulodinium polyedrum* che già avevano caratterizzato il periodo precedente, si sono sviluppate anche specie prima scarsamente rappresentate quali: *Hemiaulus hauckii* e *Thalassiosira* spp (maree giallo-bruno), *Prorocentrum minimum* e *Lingulodinium polyedrum* (acque rosse), *Fibrocapsa japonica* (marea rosso bruno).

Tuttavia l'evento più importante che da questo periodo ha cominciato a caratterizzare le acque emiliano-romagnole è sicuramente la comparsa di microalghe potenzialmente tossiche o tossiche, con la conseguente contaminazione dei molluschi (soprattutto mitili) che vengono allevati in quest'area.

Risale al periodo maggio-giugno 1989 il primo episodio di tossicità del tipo DSP in Italia, dovuto al consumo di mitili raccolti negli allevamenti e banchi naturali (Figura 1), prima dell'Emilia Romagna, poi anche di Marche e Abruzzo a sud, di Veneto e Friuli Venezia Giulia a nord.

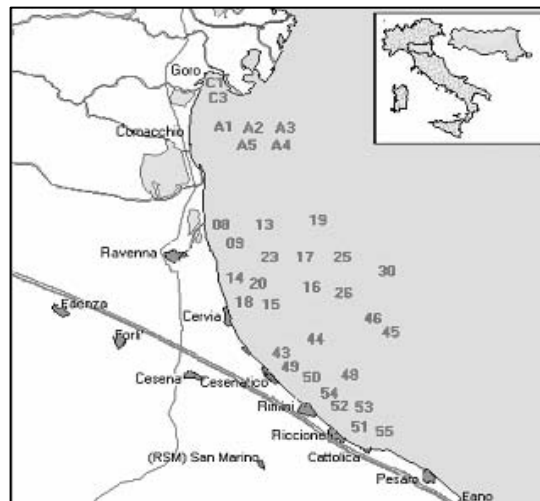


Figura 1. Distribuzione degli allevamenti e banchi naturali di mitili lungo la costa dell'Emilia Romagna

In quell'occasione il Centro Ricerche Marine, nell'ambito delle attività di monitoraggio, fu in grado di associare i sintomi (vomito e diarrea), accusati dai consumatori di molluschi bivalvi, alla presenza nell'acqua di mare e nel tratto digestivo degli stessi molluschi delle specie algali *Dinophysis sacculus*, *D. fortii* e *D. cfr. acuminata* (5) e di dimostrare la natura liposolubile della tossina responsabile della tossicità, identificata successivamente come acido okadaico (6).

Nel 1995 i risultati delle attività di monitoraggio delle alghe tossiche e delle biotossine marine nelle aree di produzione evidenziavano il coinvolgimento di altre sostanze, sinergiche

con acido okadaico e dinofisitossine: le yessotossine, composti liposolubili che attualmente non vengono più inclusi nel gruppo delle tossine DSP, perché non producono diarrea.

Responsabili di tale tossicità risultavano *Lingulodinium polyedrum* e *Protoceratium reticulatum*.

Nel maggio 1994 è stato evidenziato il primo caso di contaminazione PSP in mitili dell'Emilia Romagna: responsabile della tossicità è risultata la microalga *Alexandrium minutum* (7), specie segnalata per la prima volta in Adriatico soltanto quattro anni prima, nel 1990, di fronte al delta del Po (8).

Durante questo episodio di tossicità la fioritura di *A. minutum* ha interessato tutta l'area costiera, da Goro a Cattolica, limitatamente ai primi metri della colonna d'acqua. Le concentrazioni di questa dinoflagellata tossica si sono mantenute su valori piuttosto bassi (max 73.000 cell mL⁻¹, a Porto Garibaldi), ma la sua persistenza nelle acque ha fatto sì che nei mitili campionati si sia accumulata tossicità, tanto che sono stati superati i limiti di legge. Sono state rilevate, col mouse-test, concentrazioni pari a 192 µg di saxitossina equivalente/100 g di polpa edibile e l'analisi chimica HPLC ha evidenziato la presenza di gonyautossine (GTX3 e GTX2) e tracce di saxitossina.

In questi ultimissimi anni di attività di monitoraggio è da rilevare la comparsa di specie fitoplanctoniche potenzialmente tossiche mai osservate prima lungo la costa emiliano-romagnola: *Alexandrium ostenfeldii*, *Alexandrium concavum*, *Alexandrium taylori*, *Prorocentrum lima* fra le dinoflagellate e, fra le diatomee, *Pseudo-nitzschia galaxiae*.

In particolare per la specie *Alexandrium ostenfeldii* è stata dimostrata la produzione di gonyautossine 2-3 e di saxitossina, mentre è per ora solo ipotizzata quella di spiroliidi (analisi in corso); per *Prorocentrum lima* è stata dimostrata la produzione di acido okadaico (Figura 2).

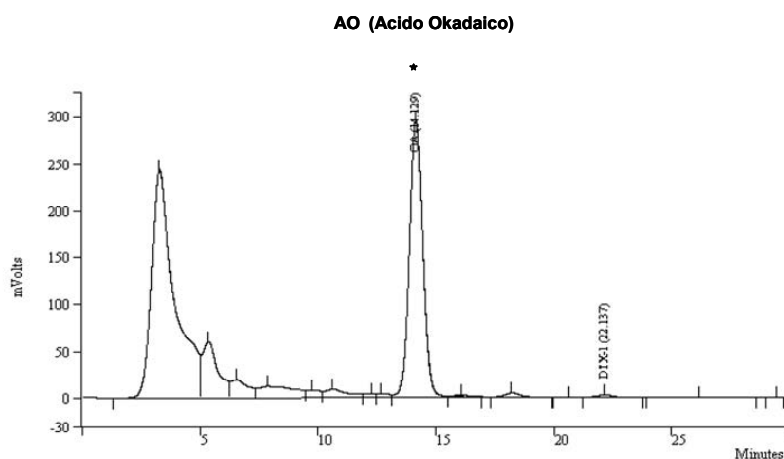


Figura2. Risultati dell'analisi chimica HPLC su una coltura di *Prorocentrum lima* (da acque delle Valli di Lido di Spina, maggio 2002)

Bibliografia

1. Mancini L, Milandri A, Nizzoli C, Pirini M, Poletti R, Pompei M, Viviani R. L'eutrofizzazione in rapporto ad alcuni aspetti igienico-sanitari delle acque costiere e dei prodotti della pesca. *Nova Thalassia* 1986;8(3):325-30.
2. Viviani R, Proja M, D'Alessandro F, Mancini L, Poletti R, Montanari G. Primi casi in Italia di Paralytic Shellfish Poisoning da mitili coltivati nei rias della Spagna. *Soc It Sc Vet* 1977;31:331.
3. Viviani R. *The Veterinarian in the control of Aquatic Biotoxins*. Bologna: Patron; 1981.

4. Hallegraef GM. *Aquaculturists' guide to Harmful Australian Microalgae* Australia: CSIRO; 1991. pp. 64-5.
5. Viviani R, Boni L, Milandri A, Poletti R, Pompei M. DSP nell'Alto Adriatico e molluschicoltura. *Soc It Sci Vet* 1997;44:675-9.
6. Fattorusso E, Ciminiello P, Costantino V, Magno S, Mangoni A, Milandri A, Poletti R, Pompei M, Viviani R. Okadaic acid in mussels of Adriatic sea. *Mar Pollut Bull* 1992;24(5):234-7.
7. Honsell G, Poletti R, Pompei M, Sidari L, Milandri A, Casadei C, Viviani R. Alexandrium minutum Halim and PSP contamination in the Northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (Ed.). *Harmful and Toxic Bloom*. UNESCO, Sendai; 1996. p. 77-80.
8. Honsell G. First report of Alexandrium minutum in the Northern Adriatic waters (Mediterranean Sea). In: Smayda TJ, Shimizu Y (Ed.). *Toxic Phytoplankton Bloom in the Sea*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1993. p. 127-32.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, settembre 2005 (n. 3) 19° Suppl.