

F. SIMONI (*), G.N. BALDACCINI (**), P. BIANUCCI (**), G. BERNACCHI (*)

ULTIME ACQUISIZIONI SULLA PRESENZA
DI *PRYMNESIUM PARVUM* CARTER (*CHRISOMONADINAE*)
NEL LAGO DI MASSACIUCCOLI (***)

Riassunto — Negli anni 1980-1983 è stata confermata, nel lago di Massaciuccoli, la presenza di fioriture del fitoflagellato tossico *Prymnesium parvum*. Il fenomeno è stato più frequente nei mesi invernali e primaverili; un elevato numero di cellule di *Prymnesium* non è sempre associato alla tossicità dell'acqua né alla mortalità della fauna ittica, poiché l'attività dell'ittiotossina è regolata da diversi fattori chimico-biologici.

Abstract — *The latest studies on the presence of Prymnesium parvum Carter (Chrisomonadinae) in Massaciuccoli lake.* A considerable presence of *Prymnesium parvum*, an ichthyotoxic phytoplankter, has been verified in Massaciuccoli lake (Lucca), during the years 1980-1983. Its appearance has been more frequent in winter and spring months. The remarkable bloom of *P. parvum* is not always associated to water toxicity and fish mortality, because the activity of ichthyotoxin depends on various cofactors.

Key words — *Prymnesium parvum*, ichthyotoxin activity - Massaciuccoli (North-Western Tuscany).

INTRODUZIONE

A partire dall'anno 1972, in seguito ad una estesa moria di pesci, il Lago di Massaciuccoli è stato oggetto di approfondite ricerche da parte di équipes di studiosi che miravano a rilevarne gli aspetti chimici, fisici, geologici, biologici e tossicologici (LL.PP.I.P. LUCCA, PISA, FIRENZE, 1973; GEOTECNECO, 1975; AQUATER, 1980).

(*) Laboratorio Multizonale USL 6 - Via Vallisneri - Lucca.

(**) USL 3 Versilia - Via Matteotti, 16 - Viareggio.

(***) Indagini sulle zone umide della Toscana, XXIII.

Lo scopo di queste ricerche era anche quello di evidenziare le cause delle morie che periodicamente, con intensità più o meno elevata, si verificavano nelle acque del lago.

I dati analitici dimostrarono che le acque del lago non contenevano quantità significative di metalli pesanti né di pesticidi (GEOTECNECO, 1975; AQUATER, 1980), ma presentavano tutte le caratteristiche di un corpo idrico fortemente eutrofizzato. L'input del fosforo e dell'azoto fu valutato rispettivamente in 3,8 g/m² e 23,5 g/m², tenori nettamente superiori ai valori di pericolosità stabiliti dal C.N.R. per le acque eutrofizzate (GEOTECNECO, 1975).

Le cause di tale fenomeno sono da ricercarsi nell'elevato apporto di elementi nutritivi di origine urbana e agricola, per quest'ultima in particolare rappresentati dall'azoto dei fertilizzanti (CAPORALI e PALMERINI, 1981) veicolati dai canali tributari del lago.

Le cause delle morie furono evidenziate da SIMONI (1977) che dimostrò come la presenza di fioriture del fitoflagellato *Prymnesium parvum* Carter, endemico delle acque del lago, fosse responsabile della produzione, in determinate condizioni, di una specifica ittiotossina letale per tutti gli organismi branchiati (SHILO, 1971). L'ittiotossicità si manifesta con un primo stadio specifico in cui la tossina, agendo sulla membrana branchiale, ne aumenta in maniera reversibile la permeabilità. Nel secondo stadio, aspecifico, l'organismo colpito rimane sensibilizzato ad un certo numero di tossici presenti nel mezzo, tra cui la stessa tossina del *Prymnesium*, che, anche in dosi subletali, penetrando attraverso l'epitelio branchiale ne causano la morte.

Durante le prove tossicologiche di laboratorio abbiamo evidenziato che anche crostacei come *Daphnia magna*, immessi in acqua del lago contenente dosi letali di ittiotossina, vengono uccisi.

L'incremento di nutrienti inorganici causa l'intenso sviluppo di fitoplancton da cui dipende l'esigua trasparenza dell'acqua che, nel periodo della ricerca era compresa tra cm 40 e cm 67 (metodo Secchi).

Alla mancanza di luce è attribuibile la riduzione o la totale scomparsa delle macrofite sommerse e la conseguente sfavorevole modificazione dell'habitat, sia per i pesci che per gli uccelli (MOSS e LEAH, 1981). L'eutrofizzazione ha favorito inoltre l'intensificarsi delle fioriture del fitoflagellato citato determinando nel periodo primaverile, e in alcuni anni anche autunnale, fenomeni di ittiotossicità più o meno intensi causa di morie o di repentini spostamenti di ittiofauna (SIMONI e BERNACCHI, 1980).

Sulla base delle precedenti esperienze abbiamo continuato anche per gli anni 1980-1983 ad eseguire il controllo sulle fioriture dell'alga tossica, evidenziando l'eventuale presenza della relativa ittiotossina per avere una ulteriore conferma dello stato endemico di questo organismo nelle acque del lago.

MATERIALE E METODI

Le indagini sono state concentrate intorno ai mesi primaverili, periodo in cui sono prevedibili le fioriture di *P. parvum*. Le stazioni di campionamento erano rappresentate costantemente dal Centro Lago, e saltuariamente da altre zone dove venivano segnalati, da parte di pescatori e abitanti del luogo, quei sintomi che potevano preludere alle morie (fig. 1).

Il numero di cellule del fitoflagellato *P. parvum* è stato determinato centrifugando a 2000 giri per 10' un quantitativo di acqua campionata pari a ml 10 e togliendo il soprannatante fino a ml 1. Il conteggio è stato eseguito in camera di Thoma.

Le prove tossicologiche sono state eseguite sulla base del meccanismo biochimico mediante il quale agisce l'ittiotossina: questa infatti viene attivata da fattori polivalenti (fig. 2) che nell'ecosistema naturale sono costituiti da cationi bivalenti (Ca^{++} , Fe^{++} , Mg^{++} , ecc.), mentre in laboratorio vengono sostituiti da una poliammina. Tale molecola, esaltando di circa venti volte il potere tossico, consente il dosaggio di quantità subletali di tossina e il riconoscimento della stessa grazie alla sua azione specifica (ULITZUR e SHILO, 1963). Sono stati pertanto allestiti due tipi di test, in uno dei quali venivano utilizzati l'5 di acqua del lago allo stato naturale, mentre l'altro prevedeva l'aggiunta del cofattore poliamminico. In quest'ultimo caso ml 500 di acqua del lago erano portati ad un volume di l 5 (diluizione 1:10) con acqua distillata; dopo ossigenazione per 10' si aggiungevano gr 30,25 di tampone tris (0,05 M) e gr 0,95 di 3,3-diaminodipropilamina (0,0015 M), aggiustando il pH a 9 con HCl concentrato.

L'aggiunta di queste due sostanze permette di evidenziare, con il rapporto di diluizione adottato, la tossicità dell'acqua con una efficacia pari a circa due volte quella naturale.

In entrambi i tests venivano utilizzati come organismi indicatori n. 5 *Carassius auratus*, la cui morte entro 24 h indicava la presenza dell'ittiotossina.

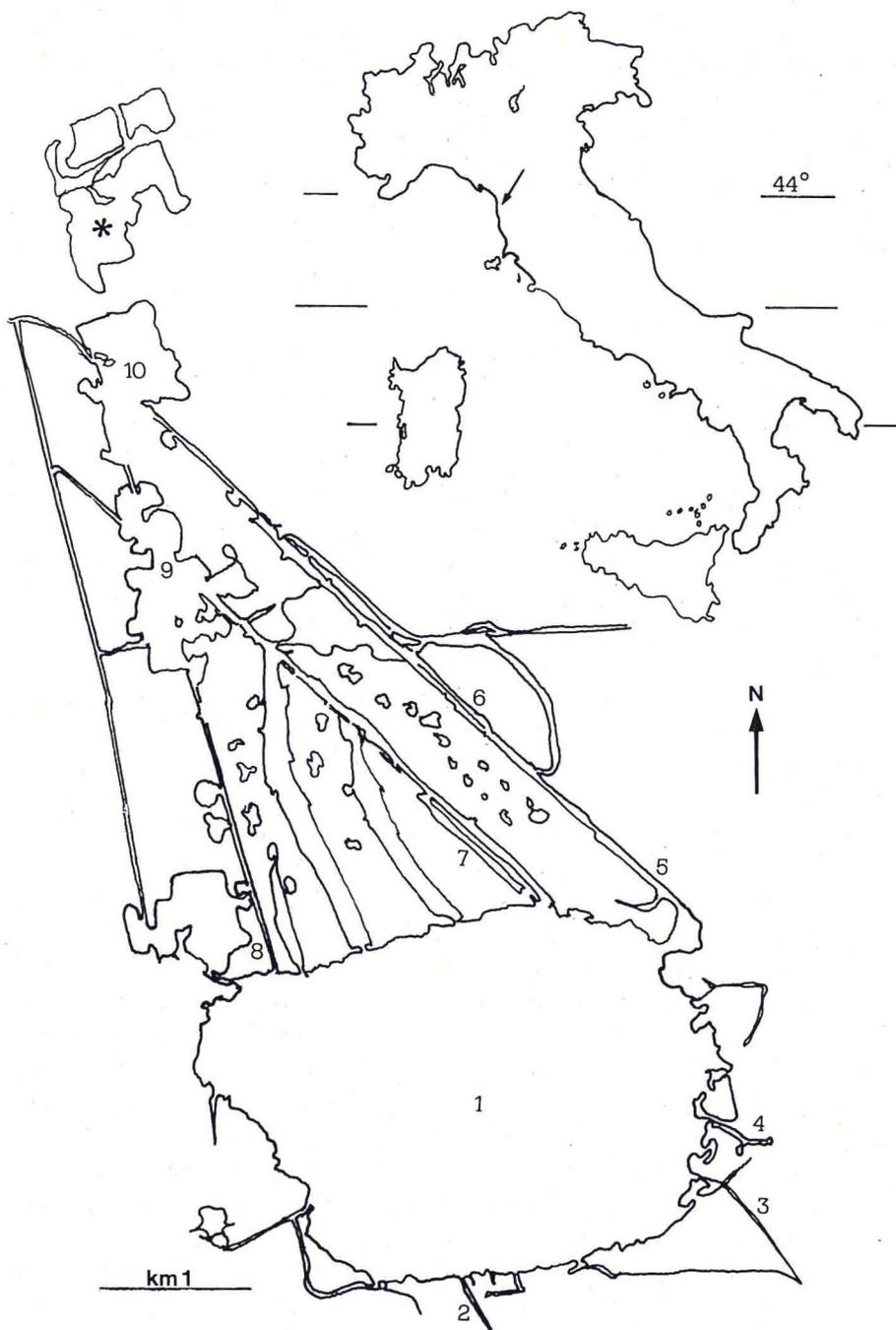


Fig. 1 - Bacino del Lago di Massaciuccoli. I numeri corrispondono alle stazioni di campionamento elencate nella tabella I. L'asterisco si riferisce all'ex cava Imeg.

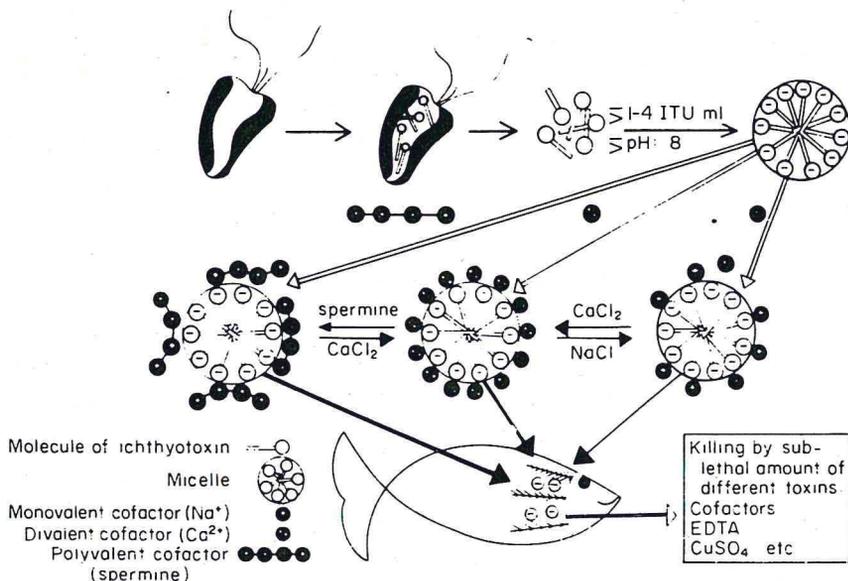


Fig. 2 - Modello di azione della tossina di *P. parvum* sui pesci (da SHILO, 1971).

Durante i campionamenti sono stati presi in esame altri parametri come temperatura dell'acqua, pH, cloruri e trasparenza.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nel grafico di figura 3 è rappresentato l'andamento del numero di cellule di *P. parvum* per ml rilevato durante il periodo della ricerca e la relativa presenza di tossicità nella stazione Centro Lago; mentre nella tabella I sono riportati i risultati dei campionamenti effettuati anche nelle altre stazioni.

Da tutti questi dati emerge che il «bloom» dell'alga tossica si è verificato per gli anni 1980-1983 nel periodo compreso tra febbraio e maggio. Ciò conferma le osservazioni eseguite negli anni '72-'80, dalle quali risulta che le maggiori fioriture dell'alga avvengono in primavera, per il fatto che *P. parvum*, nel lago di Massaciucoli, ha un periodo di sviluppo che anticipa quello degli altri componenti del fitoplancton.

Dal grafico di figura 3 si evidenzia che il numero minimo di *P. parvum* necessario per produrre quantità significativa di ittiotos-

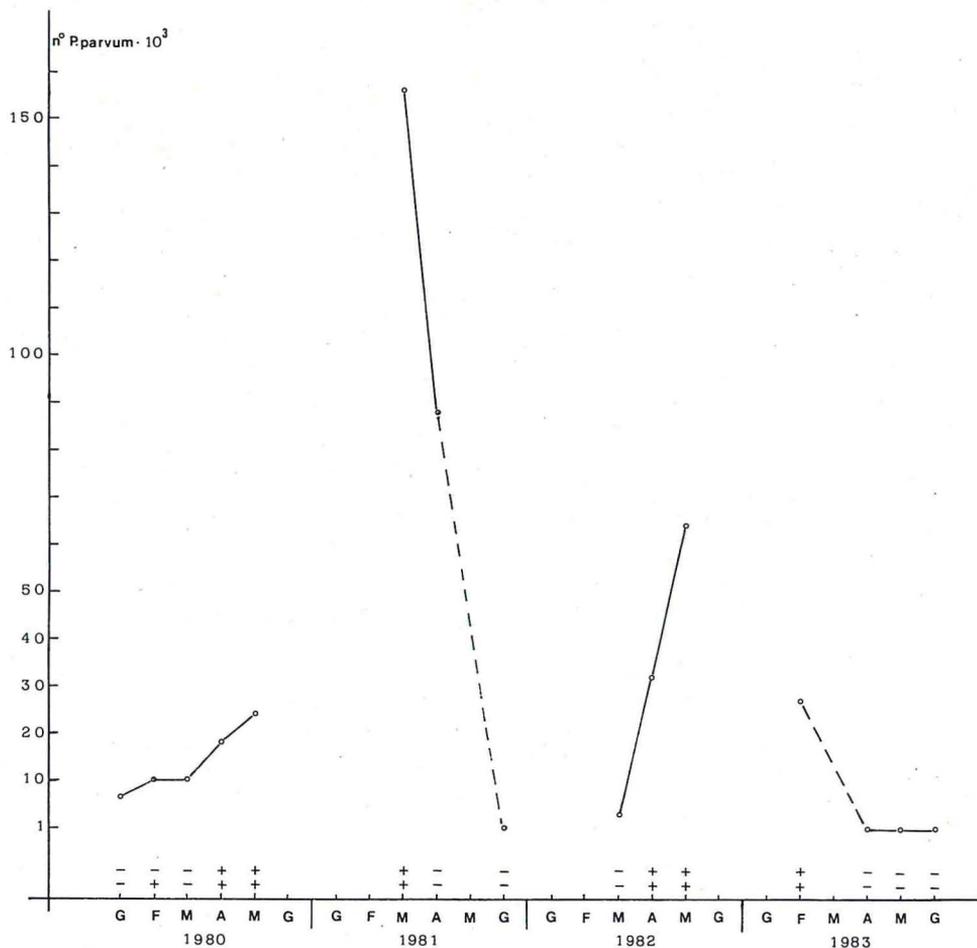


Fig. 3 - Nel grafico è rappresentato il numero di cellule di *Prymnesium* ($\times 10^3$) per ogni campionamento effettuato nella stazione Centro Lago. I due segni al di sopra dell'ascissa indicano rispettivamente l'esito (+ positivo o - negativo) dei due tests tossicologici, in assenza e presenza di cofattore.

sina risulta essere di 10.000 cell/ml, dato riscontrato anche da WORTLEY (1976). Si deve precisare tuttavia che elevate concentrazioni di cellule non sono sempre accompagnate dalla tossicità delle acque, e che quindi un loro alto numero non è strettamente connesso con la presenza della tossina. Un notevole tasso di ittiotossina si può rilevare con un numero minimo di cellule e, al contrario, «blooms» consistenti non necessariamente causano morie. Questo fenomeno

TABELLA I - Numero di cellule di *Prymnesium* ($\times 10^3$) nelle stazioni di campionamento.

	1980			1981			1982			1983					
	G	F	M	A	M	A	G	F	M	A	G	F	M	A	G
1 Centro Lago	6	10	10	18	24		156	88	1	3	32	64	27	1	1
2 Fosso Barra	5	10	8	26		100	45				10	8		1	
3 Fossa Nuova	4	13	10	24			34								
4 Loc. Oliva						18	35						30	1	
5 F. Burlamacca			18	6		100	109				20			1	1
6 F. Cavallo					77	162	53			108					
7 F. Malfante	8	17	10	19		260	84		1						
8 F. delle Venti	6	20	6	40		60			1					1	
9 Incrociata					38										
10 San Rocchino						56			2			20		1	1

si spiega in quanto la sintesi della tossina raggiunge picchi massimi durante l'ultimo periodo della fase logaritmica di crescita e si mantiene ad alti livelli nella fase stazionaria (SHILO, 1967), che peraltro non può essere rilevata.

Fra gli altri fattori chimici che influenzano l'attività della tossina dobbiamo menzionare lo ione Na^+ che la inibisce, mentre variazioni di pH da 7 a 9 l'aumentano di alcune decine di volte (Tab. II); inoltre alti valori del P solubile riducono o arrestano la produzione dell'ittiotossina (DAFNI, ULITZUR, SHILO, 1972), la luce e fenomeni di adsorbimento contribuiscono alla sua neutralizzazione.

TABELLA II - Effetti del pH da 7 a 9 sull'attività dell'ittiotossina in presenza e assenza dei vari cofattori. La concentrazione di questi ultimi è di 0,0015 M.

	Attività a pH 7	Attività a pH 8	Attività a pH 9
CaCl_2	< 100	1000	4000
Streptomicina	< 100	1000	4000
Spermina	< 100	10000	40000
3,3-Diaminodipropilamina	< 100	5000	20000
Neomicina	< 100	2000	4000
Assenza di cofattore	< 100	250	1000

Si ritiene che nelle acque del lago i cationi che agiscono come attivatori siano il Ca^{++} e il Mg^{++} , mentre il Na^+ , proveniente dal mare come NaCl , dovrebbe ridurre la tossicità, soprattutto se con valori prossimi a 4000 mg/l di Cl^- (SARIG, comunicazione personale).

Nell'anno 1983 si nota un abbassamento di pH da valori superiori a 8 a valori compresi tra 7 e 7,5: per quanto sopra esposto si può ipotizzare una riduzione dell'attività tossica. Le prove tossicologiche sono state eseguite anche su campioni provenienti dalle altre stazioni elencate nella Tabella I e per le quali si sono ottenuti risultati coerenti con quelli del Centro Lago; l'unica eccezione è rappresentata dal Fosso Burlamacca dove anche alle concentrazioni più elevate di *Prymnesium*, presenti nei prelievi del marzo e aprile '81, non è corrisposta la presenza di tossina, sia nel test con acqua allo stato naturale sia in quello che prevede l'aggiunta del cofattore.

CONCLUSIONI

Come evidenziato dalle nostre indagini la presenza di *Prymnesium parvum* nel lago di Massaciuccoli è confermata anche negli anni '80-'83. Tuttavia è stata rilevata una diminuzione dei fenomeni di moria, sia per numero che per entità, imputabile probabilmente ad un abbassamento del pH riscontrato nell'ultimo periodo della ricerca e all'assenza di imponenti fioriture del fitoflagellato.

Le condizioni di eutrofizzazione del lago richiedono, a nostro avviso, un controllo costante ed accurato che permetta i rilevamenti di quei dati necessari a promuovere interventi di risanamento mirati a ristabilire i giusti equilibri fra i vari livelli trofici.

Da indagini preliminari abbiamo rilevato la presenza di *Prymnesium* anche in altri corpi idrici come l'ex cava IMEG (fig. 1), dove nel marzo 1979 si verificò una notevole moria causata da alte concentrazioni dell'alga, e un laghetto artificiale adibito alla pesca sportiva e localizzato in provincia di Massa. Non è da escludersi quindi che in Italia *P. parvum* si possa ritrovare anche in altri laghi o lagune con caratteristiche simili a quelle del Massaciuccoli.

BIBLIOGRAFIA

- AQUATER (1980) - Accertamenti e indagini per la salvaguardia dall'inquinamento del Lago di Massaciuccoli e del suo territorio. Fase II. Min. Agr. e For., Roma.
- CAPORALI F., PALMERINI M. (1981) - Indagini sulle zone umide della Toscana. XV. Il contributo dell'agricoltura al processo di eutrofizzazione del lago di Massaciuccoli. *Il bacino del Massaciuccoli*, 2, 1-11. Cons. Idr. Sec. Cat., Viareggio.
- DAFNI Z., ULITZUR S., SHILO M. (1972) - In HOLDWY P.A., WATSON R., MOSS B. (1978) - Aspects of the ecology of *P. parvum* (*Haptophyta*) and water chemistry in the Norfolk Broads. *Eng. Freshw. Biol.*
- GEOTECNECO (1975) - Accertamenti e indagini per la salvaguardia dall'inquinamento del Lago di Massaciuccoli e del suo territorio. Fase I. Min. Agr. e For., Roma.
- LL.PP.I.P. LUCCA, PISA, FIRENZE (1973) - Relazione chimica. Conferenza dei servizi sul bacino di Massaciuccoli per il recupero funzionale e culturale delle risorse ambientali. Massarosa.
- MOSS B., LEATH R.T. (1981) - Ecological relations in the restoration of a shallow lake. University of East Anglia, Norwich, U.K.
- SHILO M. (1971) - Microbial Toxins, 7, 67-102, Edited by Kadis S., Ciegler A., Ail S.J. Academic Press N.Y., London.
- SIMONI F. (1977) - Sulle cause della moria dei pesci nel Lago di Massaciuccoli negli anni '72-'77. *Riv. It. Ig.*, 37 (5-6), 363-380.

- SIMONI F., BERNACCHI G. (1980) - *P. parvum* (*Chrisomonadina*) quale fattore di tossicità per l'ittiofauna del Lago di Massaciuccoli. *Riv. It. Ig.*, **40** (1-2), 139-154.
- ULITZUR S., SHILO M. (1964) - A sensitive assay for determination of the ichthyotoxicity of *P. parvum*. *J. gen. Microbiol.*, **36**, 161-179.
- WORTLEY (1976) - In HOLDWAY P.A., WATSON R., MOSS B. (1978) - Aspects of the ecology of *P. parvum* (*Haptophyta*) and water chemistry in the Norfolk Broads. *Eng. Freshw. Biol.*

(ms. pres. il 28 dicembre 1984; ult. bozze il 5 marzo 1985)