

3. INDAGINI SULLO ZOOPLANCTON E SULLA RETE TROFICA PELAGICA ATTRAVERSO ANALISI D'ISOTOPI STABILI

3.1. Analisi di isotopi stabili di carbonio e azoto e rete trofica pelagica

Le indagini sulla caratterizzazione della rete trofica pelagica lacustre mediante analisi d'isotopi stabili di carbonio e azoto sono proseguite nel 2010 tenendo presente quanto emerso dalle indagini dell'anno precedente, vale a dire la necessità di meglio caratterizzare il segnale isotopico del carbonio litorale e le sue variazioni nel corso dell'anno. A tal fine sono stati prelevati, in aggiunta a quelli previsti, campioni di organismi (anfipodi e larve di chironomidi) da cinque diversi siti, ubicati lungo l'asse longitudinale del lago, sulla sponda piemontese, in tre diversi mesi (marzo, giugno e settembre), sì da ricostruire le variazioni stagionali del segnale isotopico litorale. Tali campioni sono serviti a completare quanto ottenuto mediante i campionamenti nelle tre stazioni pelagiche scelte in precedenza, a suo tempo identificate come rappresentative di zone differenti, da quella profonda dell'alto lago ("Ghiffa") a quella del basso lago ("Lesa"), passando attraverso il Bacino di Pallanza ("Baveno").

Gli studi condotti in precedenza hanno mostrato una sostanziale equivalenza funzionale degli organismi zooplanctonici prelevati dalle diverse stazioni; le differenze tra esse appaiono principalmente dovute a differenti densità numeriche, generalmente maggiori a Lesa che non negli altri due siti di campionamento.

La sostanziale omogeneità nei segnali isotopici di carbonio e azoto dei diversi organismi è stata confermata dalle indagini condotte nel corso del 2010. Anche per quest'anno, dunque, i dati riguardanti le stesse sono stati messi insieme per ogni data di campionamento. Per ognuna di esse, pertanto, i valori utilizzati nei grafici riguardanti la variabilità stagionale rappresentano per ciascuno degli organismi zooplanctonici considerati il valore medio (\pm errore standard) del risultato di sei analisi (relative a due repliche per ogni stazione) del $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ‰ e dei dati ad esse associati (%C, %N; rapporto C:N).

A ogni data di campionamento, organismi appartenenti ai diversi taxa zooplanctonici e agli organismi del litorale lacustre venivano raccolti in quantità sufficienti a consentire analisi del segnale isotopico (per la descrizione dei metodi di preparazione dei campioni si vedano Manca *et al.* 1994 e 1997).

Campioni quantitativi prelevati con le usuali metodiche sono serviti a determinare abbondanza e biomassa dello zooplancton nei quattro differenti momenti stagionali e nelle tre diverse stazioni. Entro lo strato d'acqua campionato veniva inoltre misurata la temperatura mediante termometro a termistore. Dalla profondità di scomparsa del Disco di Secchi si otteneva la misura della trasparenza delle acque.

I campioni e gli standard pesati in capsulini di stagno venivano successivamente caricati in analizzatore elementare (Vario EL III), interfacciato con uno spettrometro di massa per il rapporto isotopico (G. G. Hatch Isotope Laboratories, University of Ottawa, Faculty of Science, Ottawa, Canada). Essi sono stati combusti a circa 1800 °C (combustione di Dumas) e i prodotti gassosi risultanti trasportati in elio attraverso colonne di ossido-riduzione ottimizzate per CO₂ e N₂. I gas venivano separati mediante colonne di assorbimento a purificazione e cattura, inviate all'interfaccia (Conflo II) e all'IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometer della Delta XP Plus Advantage). La precisione analitica delle analisi è stata basata su uno standard interno (C-55, acido

glutamico, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C} = 3,98$, $-28,53$, rispettivamente) solitamente con precisione analitica inferiore allo 0,2 ‰.

I valori di $\delta^{15}\text{N}$ sono stati riferiti all'azoto atmosferico, e normalizzati con standard calibrati all'International standard IAEA-N1(+0,4 ‰), IAEA-N2(+20,3 ‰), USGS-40(-4,52 ‰) e USGS-41(47,57 ‰). I valori di $\delta^{13}\text{C}$, riferiti alla PDB sono stati normalizzati con standard interni calibrati presso l'International standard IAEA-CH-6(-10,4 ‰), NBS-22(-29,91 ‰), USGS-40(-26,24 ‰) e USGS-41(37,76 ‰).

Le ricerche condotte nel primo anno d'indagine hanno messo in luce come nel pelago del Lago Maggiore, indipendentemente dalla stazione di campionamento, il segnale isotopico di *Daphnia* sia correlato a un livello di levata significatività statistica con quello del materiale sestonico (<50 μm) che ne costituisce la base alimentare (Manca *et al.*, 2009). Pertanto, alla pari di quanto osservato in altri laghi profondi subalpini, *Daphnia* rappresenta un buon integratore della linea di base pelagica e delle sue variazioni nel corso dell'anno. Alla luce di questo fatto, sono state investigate le relazioni tra i taxa e la linea di base rappresentata da *Daphnia*, e i valori delle prime sono stati comparati a quelli previsti per il frazionamento trofico di ^{13}C e ^{15}N . In generale, un *taxa* è stato considerato supportato dalla linea di base pelagica quando il suo $\delta^{13}\text{C}$ differiva meno dell'1-2‰ rispetto a quello misurato per *Daphnia* in quel dato momento.

Il segnale di organismi provenienti da zone diverse da quella pelagica, e in particolare di quelli prelevati in diversi punti del litorale lacustre, sono serviti a identificare l'importanza di fonti non pelagiche di supporto alla produzione secondaria.

Nel corso dell'anno 2010, oltre a *Daphnia*, sono stati analizzati i copepodi, con distinzione di diaptomidi e ciclopidi, i cladoceri di grosse dimensioni (*Leptodora kindtii* e *Bythotrephes longimanus*) e quelli di taglia minore, appartenenti ai generi *Bosmina* e *Diaphanosoma* (*Bosmina longirostris* ed *Eubosmina longispina*, *Diaphanosoma brachyurum*).

I risultati delle analisi del segnale isotopico del carbonio nei diversi mesi dell'anno e per le diverse componenti prese in esame sono riassunti nel grafico in figura 3.1. La scala del $\delta^{13}\text{C}$ è stata scelta in modo da comprendere i valori rappresentativi dell'ambiente litorale (indicativamente meno negativi) e di quello pelagico di laghi profondi, quali il Maggiore. Generalmente, organismi di acque più profonde presentano valori di $\delta^{13}\text{C}$ più negativi rispetto a quelli di acque più superficiali. Il grafico può dunque essere letto, dall'alto verso il basso, come una graduale transizione da zone più prossime alla superficie a quelle più profonde del lago. Le variazioni nel segnale sono anche interpretabili come l'espressione delle alterazioni nella distribuzione verticale degli organismi in conseguenza della transizione dall'omeotermia invernale alla stratificazione termica estiva e del perdurare di quest'ultima nel periodo autunnale. La misura del profilo termico verticale nelle tre stazioni nei diversi momenti dell'anno, più che ad una puntuale caratterizzazione delle temperature, oggetto di dettagliate indagini di limnologia fisica, serve, nel contesto delle indagini sullo zooplancton e sulla rete trofica pelagica mediante analisi d'isotopi stabili di carbonio e azoto, a metter in luce le condizioni di stratificazione termica delle acque nei vari momenti.

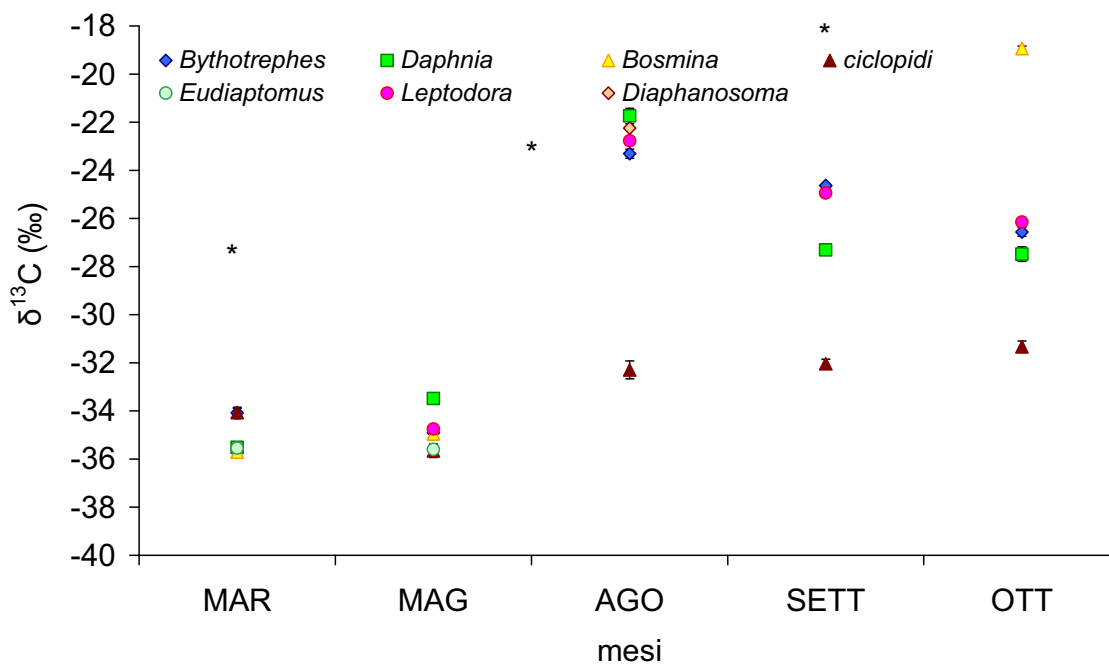


Fig. 3.1. Valori medi (\pm Errore Standard) del segnale isotopico del carbonio ($\delta^{13}\text{C}\text{‰}$) misurati nei diversi taxa componenti lo zooplancton pelagico e in organismi prelevati lungo il litorale del Lago Maggiore (*) nel corso del 2010.

Anche dai dati del 2010 emerge chiaramente come la variabilità del segnale isotopico del carbonio nello stesso organismo e alla medesima data di campionamento sia davvero molto ridotta. Tale risultato conferma la sostanziale omogeneità di segnale sia nelle tre stazioni, sia nelle diverse repliche predisposte. Questo premesso, l'analisi dei dati rappresentati nel grafico consente di metter in luce come, con il progredire della stagione e l'instaurarsi della stratificazione termica si verifichi un generale innalzamento dei valori del $\delta^{13}\text{C}$, da valori dell'ordine di -36‰ a valori massimi intorno a -22‰ . Tale andamento altro non è se non il riflesso delle modificazioni nella linea di base del pelago e la dipendenza da essa dei diversi organismi zooplanctonici. Variazioni stagionali interessano anche il segnale litorale; il grafico in figura 3.1 mostra chiaramente come il valore relativo al segnale invernale, rilevato nella prima settimana di marzo, sia nettamente inferiore a quello misurato a settembre. Il minor dettaglio temporale dei campionamenti litorali rispetto a quelli pelagici non consente di individuare il valore massimo del delta, con tutta probabilità registrabile ad agosto. Il dato di settembre è di grande importanza, poiché sembra avvalorare l'ipotesi che, alla pari di quanto accade in ambiente pelagico, il ritorno del segnale litorale ai valori tipici del periodo invernale sia più rallentato rispetto a quello dell'aumento estivo. Il fatto poi che sussistano valori meno negativi nel mese di ottobre è ben relazionabile al perdurare della stratificazione termica nel pelago del lago. Di grande utilità sono i dati del profilo termico verticale delle acque, misurato in occasione delle pescate. Essi dimostrano come le più elevate, omogenee temperature dei primi dieci metri cedano il passo a una graduale diminuzione, con un gradiente pressoché costante, fino alla profondità di ventisei-trenta metri. La stratificazione termica, che influenza il ciclo della produzione e la stratificazione chimica ha un effetto marcato sul segnale isotopico del carbonio del fitoplancton (Zohary *et al.*, 1994). Durante la stratificazione termica, il $\delta^{13}\text{C}$ del

fitoplancton aumenta. Il crescere della produzione primaria, che porta a un graduale esaurimento della CO₂ in epilimnio, porta a un minore frazionamento del $\delta^{13}\text{C}$ del fitoplancton. In autunno e in inverno, la diminuzione del segnale isotopico del carbonio è il risultato della graduale de-stratificazione che porta a un rinnovo del carbonio inorganico disciolto dall'ipolimnio, culminante nel minimo stagionale, solitamente osservato durante il mescolamento invernale (Zohary *et al.*, 1994).

In Fig. 3.1 sono mostrati con simboli di colore differente i segnali del $\delta^{13}\text{C}$ dei diversi taxa zooplanctonici misurati alle date di campionamento, rappresentative di diversi periodi dell'anno. A marzo, in condizioni di omeotermia dello strato d'acqua campionato, il segnale isotopico del carbonio di *Daphnia*, *Bosmina* ed *Eudiaptomus* risultano del tutto sovrapposti, con un valore medio molto prossimo a $-36 \delta^{13}\text{C} \text{‰}$. Sovrapposti tra loro sono anche i segnali dei ciclopidi e di *Bythotrephes*, lievemente più elevati, molto vicini al valore di $-34 \delta^{13}\text{C} \text{‰}$. A maggio la situazione non cambia in modo rilevante; *Leptodora*, comparsa nel pelago, risulta prossima a *Bosmina*; entrambe sono anche pienamente sovrapponibili a *Eudiaptomus*, ai ciclopidi e a *Bythotrephes*, tutti solidali tra loro nel ricalcare il segnale pelagico. Il lieve innalzamento dei valori del segnale isotopico di *Daphnia* è con tutta probabilità legato al fatto che in questo mese è massimo lo sviluppo numerico della popolazione, con un reclutamento di giovani; questi ultimi, come dimostrano ricerche precedenti, tendono a portarsi verso strati d'acqua meno profondi rispetto a quelli solitamente occupati dalle più grosse femmine ovigere.

Ancora solidali tra loro, e con valori decisamente meno negativi (compresi tra -24 e $-22 \delta^{13}\text{C} \text{‰}$), sono i segnali isotopici misurati in agosto per tutti i taxa zooplanctonici, ivi incluso *Diaphanosoma*, divenuto abbondante in acque pelagiche, ad eccezione dei ciclopidi, che tendono a mantenere un segnale di acque più profonde. Tale tendenza perdura anche nei due mesi successivi, quando il segnale isotopico di *Daphnia* tende a portarsi verso valori più negativi, come pure quello, pienamente sovrapposto, di *Leptodora* e *Bythotrephes*. Questi ultimi, a $\delta^{13}\text{C} \text{‰}$ meno negativo di *Daphnia*, potrebbero anche utilizzare, in questa fase, fonti alimentari diverse da quest'ultima, possibilmente più prossime al litorale o a strati d'acqua meno profondi di quelli nei quali si trovava *Daphnia* al momento del campionamento. I valori del $\delta^{13}\text{C}$ tendono a divenire più negativi in ottobre, quando *Daphnia*, e i due predatori *Leptodora* e *Bythotrephes* tornano ad avere segnali isotopici del carbonio sovrapposti tra loro. Ai due estremi dell'intervallo di valori misurati nello zooplancton del lago sono i ciclopidi, con valori più negativi, in media prossimi a $-32 \delta^{13}\text{C} \text{‰}$, e *Bosmina*, con un valore medio di $-20 \delta^{13}\text{C} \text{‰}$, registrato nella sola stazione di Lesa, tipico del litorale lacustre.

Il segnale isotopico dell'azoto, rappresentato nel grafico in figura 3.2, consente di metter in luce come si sviluppino nel corso dell'anno i rapporti trofici tra gli organismi componenti lo zooplancton del lago, consentendo anche l'individuazione di ruolo vicarianti tra essi. A marzo, a un livello più basso occupato da *Daphnia* e *Bosmina*, pienamente sovrapposte fra loro, si aggiunge quello di ciclopidi e diaptomidi. Sopra di essi si colloca *Bythotrephes* il quale, come suggerito in precedenza (Manca *et al.*, 2010; Manca 2011), potrebbe su di essi predare. A maggio, si ripete la sequenza già osservata nello stesso periodo dell'anno passato, con, in ordine di segnale crescente, *Bosmina*, *Daphnia*, *Leptodora*, *Bythotrephes*, *Eudiaptomus* e i ciclopidi. Sulla base di una sostanziale corrispondenza del segnale isotopico del carbonio, indicativa di una dipendenza da fonti alimentari comuni, e dell'arricchimento del valore del segnale isotopico dell'azoto, è possibile ipotizzare che in questo momento dell'anno *Leptodora*

tenda a predare su *Bosmina* (in questa data, *Eubosmina longispina*) e *Bythotrephes* su *Daphnia*. Poco chiaro risulta il dato relativo a *Eudiaptomus*, relazionato ai ciclopidi anche per il segnale isotopico dell'azoto. Non altrettanto può dirsi per il campione di agosto, quando la differenza nel segnale isotopico del carbonio è tale da non consentire un collegamento tra i ciclopidi e i restanti organismi che compongono il popolamento zooplanctonico pelagico del lago. In questo momento dell'anno, un ruolo equivalente svolgono *Leptodora* e *Bythotrephes*, predatori su *Daphnia-Diaphanosoma*, questi ultimi perfettamente sovrapponibili non solo per fonte alimentare (cf. Fig. 3.1), ma anche per ruolo trofico. Il rapporto *Daphnia-Leptodora/Bythotrephes* rimane pressoché invariato a settembre. Lo spostamento nel segnale isotopico dell'azoto di *Bythotrephes* in ottobre verso valori più alti, in perfetta sintonia con *Daphnia*, sembra suggerire il perdurare della preferenza per quest'ultima quale fonte di alimento, ma anche un possibile utilizzo di *Leptodora*.

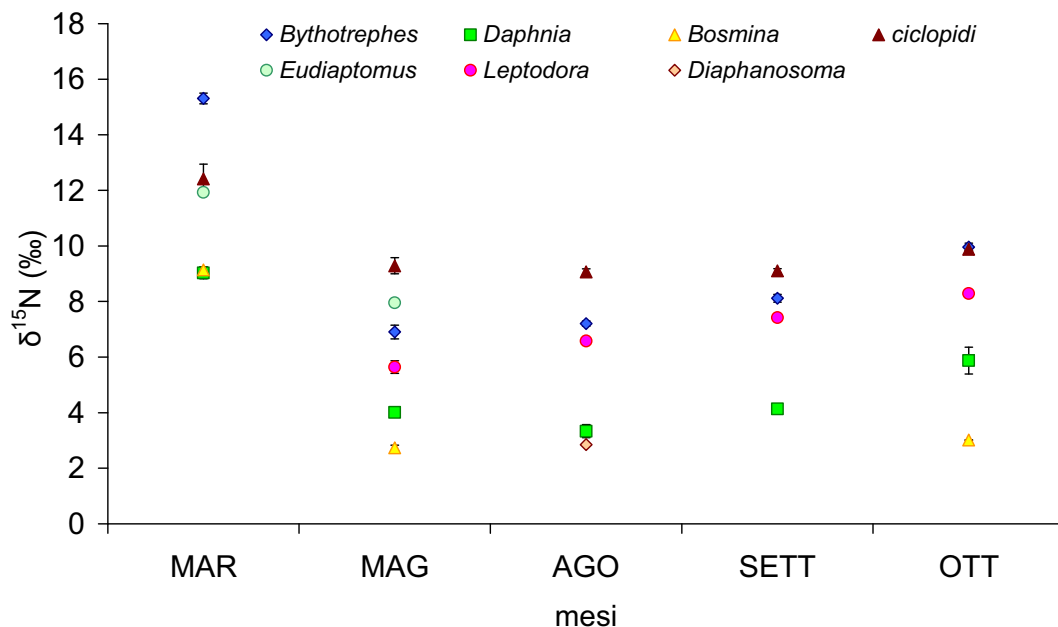


Fig. 3.2. Valori medi (\pm Errore Standard) del segnale isotopico dell'azoto ($\delta^{15}\text{N}$) misurati nei diversi taxa componenti lo zooplancton pelagico del Lago Maggiore nel corso del 2010.

Una visione d'insieme di come varino le caratteristiche trofocimiche degli organismi zooplanctonici del lago nei diversi momenti dell'anno si può ottenere dall'esame del grafico in figura 3.3. In inverno, la sovrapposizione del segnale isotopico del carbonio e l'arricchimento in quello dell'azoto suggeriscono per *Bythotrephes* un ruolo di predazione nei confronti dei copepodi ciclopidi, alla pari di quanto osservato in altri ambienti (Pangle *et al.*, 2007; Visconti & Manca 2011).

Con il procedere dell'anno, l'arricchimento nel segnale isotopico dell'azoto di *Bythotrephes* tende a mantenersi costante, non solamente rispetto alla linea di base pelagica rappresentata da *Daphnia*, ma anche in riferimento a *Leptodora* con la quale esso sembra competere nei mesi estivi. Quest'ultima potrebbe, stante la completa sovrapposizione nel segnale isotopico del carbonio, preferire in questa fase *Bosmina*, così come osservato in altri ambienti (Branstrator & Lehman 1991).

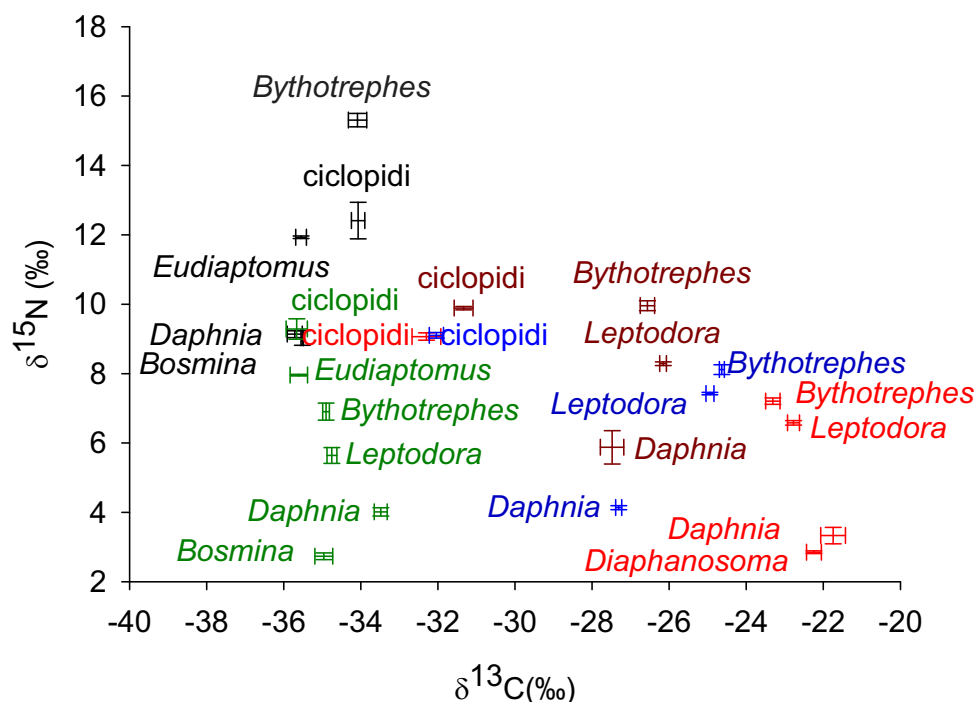


Fig. 3.3. Grafico trofochimico dei segnali isotopici degli organismi zooplanctonici campionati nelle tre diverse stazioni del pelago lacustre nel corso del 2010. I colori consentono di identificare i diversi campionamenti eseguiti nei quattro momenti stagionali. In particolare, il nero si riferisce al campionamento di marzo (invernale), il verde a quello di maggio (primaverile), il rosso e il marrone a quelli di agosto e settembre, rispettivamente, l'azzurro al campionamento di ottobre.

Il grafico mostra molto chiaramente come il binomio *Daphnia-Bosmina* del semestre invernale- primaverile sia sostituito da quello di *Diaphanosoma-Daphnia* in agosto. In questo periodo, e fino a ottobre, il ruolo di *Bythotrephes* e quello di *Leptodora* sembrano essere tra loro equivalenti. La permanenza del primo nel pelago lacustre durante tutto l'anno permette anche di osservare come il notevole abbassamento del livello di arricchimento di *Bythotrephes* dall'inverno alla primavera possa riflettere variazioni nella taglia degli organismi costituenti la popolazione, anche in conseguenza dell'impatto su di essi esercitato dalla predazione da parte dei pesci zooplanctivori (Manca *et al.*, 2008).

3.2 Popolamento zooplanctonico nelle tre stazioni e nei quattro momenti stagionali

Come di consueto, campioni quantitativi di zooplancton del Lago Maggiore sono stati raccolti nelle tre stazioni di Ghiffa, Baveno e Lesa durante il 2010, al fine di mantenere una continuità con l'attività di monitoraggio e nel contempo, affiancare alle analisi del segnale isotopico di carbonio e azoto, quella delle variazioni stagionali in densità di popolazione e biomassa dello zooplancton, utili ai fini di un'analisi quantitativa della rete alimentare nel pelago.

I campioni zooplanctonici sono stati raccolti in tutte e tre le stazioni con la consueta attrezzatura (plankton sampler di Clarke-Bumpus armati di rete a maglie da 76 e 126 μm) e le consolidate metodologie di monitoraggio del lago (sinusoidale 0-50-0 m; vedi