



Monitoraggio delle popolazioni a Chironomidi del Lago Trasimeno sottoposte a trattamento con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

Alessandra Di Veroli,^a Enzo Goretti,^{a*} Angelisa Fabrizi,^a Caterina Marcucci,^a
Alessia Coletti,^a Maria V. Di Giovanni,^a Mario Mearelli,^a Elda Gaino^a &
Alessandro Maria Di Giulio^b

^a Dipartimento di Biologia Cellulare e Ambientale, Università degli Studi di Perugia, Via Elce Di Sotto, 06123 Perugia

^b AUSL n.2 dell'Umbria, Via della Pallotta 12, 06100 Perugia

Abstract

L'intera fascia rivierasca del Lago Trasimeno è interessata, negli ultimi anni, da intensi sfarfallamenti di Ditteri-Chironomidi, che provocano forti disagi ai residenti e al comparto turistico. Per questo motivo, gli Enti Locali hanno attivato un progetto (2004-07) atto al contenimento delle popolazioni di questi insetti mediante: 1) trattamento (maggio-agosto) con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, per il controllo delle larve lungo il litorale (350-400 ha); 2) diversione luminosa degli adulti in aree meno frequentate; 3) eventuale uso di insetticidi a bassa tossicità nei centri urbani. Nell'ambito di tale progetto, su un'area campione costiera, è in corso un piano di monitoraggio degli stadi larvali dei Chironomidi dopo trattamento con *B.t.i.* Nel 2006 sono stati effettuati 9 sopralluoghi mensili con una draga per bassi fondali. Ogni campionamento consta di ca. 30 prelievi, distribuiti lungo i 350 m di litorale, ad una profondità di 1,5 m. Complessivamente, la densità larvale dei 15 taxa, rinvenuti nell'area esaminata, presenta un decremento a fine primavera e a fine estate che, in accordo con i cicli biologici, corrisponde ai periodi di sfarfallamento. Le densità massime si rilevano in marzo e giugno, con valori intorno ai 2500 ind/mq. Pertanto, le dinamiche di popolazione dei Chironomidi non sembrano essere alterate dai trattamenti con *B.t.i.*, la cui azione sembra ridurre l'abbondanza senza privare l'ecosistema di questa importante componente della catena trofica.

Keywords: Chironomidi; sfarfallamenti; *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; Lago Trasimeno

1. Introduzione

I Chironomidi (Insecta-Diptera) rappresentano un importante componente zoologica negli ecosistemi di

acque dolci. Nei laghi, in particolare, la biomassa costituita da questi insetti è parte significativa della produttività. In limnologia, lo studio di questi Ditteri riveste, pertanto, una notevole importanza e rappresenta un valido strumento per la comprensione della qualità dell'intero ecosistema (Hansen *et al.*

* Corresponding author. Tel.: +0-039-075-5855731; fax: +0-039-075-5855733; e-mail: benthos@unipg.it.

1998). Negli ecosistemi lacustri, la comunità bentonica litorale presenta inoltre una composizione più ricca in specie di quella pelagica, grazie alle condizioni ambientali (luce, temperatura, disponibilità di cibo) che, per la bassa profondità delle acque, sono meno limitanti.

I Chironomidi costituiscono una delle più ampie famiglie di insetti acquatici e le specie ad essa appartenenti presentano abitudini alimentari e adattamenti anche molto diversi fra loro. Il ciclo biologico di questi insetti prevede gli stadi di uovo, larva (4 *instars*), pupa e adulto; i primi tre sono acquatici mentre l'adulto, alato, vive in ambiente aereo (Pinder 1978).

Le femmine, dopo l'accoppiamento, depongono di norma masse ovigere sulla superficie dell'acqua. Le larve che fuoriescono dall'uovo, larve di I *instar*, hanno dimensioni microscopiche, inferiori al millimetro. Il susseguirsi degli stadi larvali avviene attraverso una serie di mute, i cui tempi sono determinati dalla temperatura dell'acqua oltre che dalla disponibilità di cibo. Dalle pupe che si portano in superficie emergono gli adulti (Pery & Mons 2005; Kajak, 1997).

Alle nostre latitudini, i Chironomidi tendono ad avere due generazioni annuali (bivoltinismo): una generazione invernale le cui uova vengono deposte a fine estate e lo sfarfallamento avviene nella primavera successiva; una generazione estiva che, grazie alle temperature più elevate, ha tempi di sviluppo più brevi e sfarfalla al termine della stagione calda dando inizio ad un nuovo ciclo (Ceccagnoli *et al.* 2002).

Negli ultimi anni, soprattutto a causa delle alte temperature estive (in particolare nel 2003 quando in giugno, luglio e agosto la media mensile delle acque ha raggiunto i 29 °C alle ore 11-12), la fascia rivierasca del Lago Trasimeno è stata interessata da intensi sfarfallamenti di Chironomidi, con disagi ai residenti e al comparto turistico. È nata così l'esigenza di cercare di controllare tale fenomeno, senza provocare danni all'ecosistema del Lago evitando un impatto negativo sull'intera catena trofica.

A tale proposito, a partire dal 2004, gli Enti Locali hanno attivato un piano operativo per il contenimento dei Chironomidi del Lago Trasimeno articolato in tre tipologie di intervento:

1) diversione luminosa per attirare i Chironomidi in aree lontane dai centri abitati, attuata mediante posizionamento di punti luce, denominati "Tofolamp", lungo il litorale;

2) trattamento con insetticidi a bassa tossicità (piretroidi e piretrine in soluzione acquosa) presso i centri abitati a distanza maggiore di 20 m dalle acque del Lago, solo in caso di particolare elevata densità di Chironomidi;

3) trattamento (dal 2005) con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, in formulazione liquida, in aree costiere (30-50 m dalla costa) per il controllo diretto sulle popolazioni larvali. Il batterio entomopatogeno produce endotossine che colpiscono soprattutto le giovani larve di Chironomidi.

Quest'ultima tipologia, basata sull'impiego del *B.t.i.*, costituisce un intervento di particolare interesse poiché rappresenta un mezzo di controllo alternativo, a basso impatto tossicologico e maggiormente eco-compatibile rispetto ai normali insetticidi di sintesi. L'effetto del prodotto si manifesta nell'arco di 12-18 ore dopo il trattamento e persiste per alcuni giorni, colpendo, in particolare, le microscopiche larve di I *instar*, ossia quelle appena uscite dall'uovo (Butko *et al.* 1996; Rai & Rana 1979; Schnell & Nickerson 1983; Thomas & Ellar 1983).

I trattamenti larvicidi sono stati effettuati dal personale dell'Asl.2 dell'Umbria, attraverso l'impiego di un mezzo anfibo hovercraft. Nel 2005, l'area sottoposta a trattamento ha riguardato una fascia costiera di 30 metri, pari ad una superficie complessiva di circa 350 ha. In tale anno, i trattamenti sono stati ripetuti quattro volte. Nel 2006, il trattamento è stato effettuato per cinque volte (16 maggio; 3, 11 luglio; 7, 18 agosto) in un'area di complessivi 400 ha.

La presente indagine si è proposta di monitorare le popolazioni rivierasche di Chironomidi sottoposte ai trattamenti con il batterio entomopatogeno, al fine di verificarne gli effetti attraverso lo studio della densità e delle dinamiche di popolazione di questi insetti.

2. Materiali e metodi

Il Lago Trasimeno, di origine tettonica-alluvionale, è situato ad una quota di 256 m s.l.m. e presenta una superficie di 118 Km², attualmente con

una profondità massima di 4,5 m circa. La sua ampia superficie e la scarsa profondità influenzano in modo determinante il trofismo e le condizioni ambientali. Una profondità così modesta, infatti, determina un continuo rimescolamento delle acque ad opera dei venti, non permettendo una vera stratificazione termica. Inoltre, il livello delle acque è molto variabile ed è strettamente connesso sia con l'alto tasso di evaporazione, favorito dall'ampia superficie, che con le precipitazioni annue (Dragoni 1982).

L'area indagata è situata presso Castiglione del Lago, si estende per 350 m parallelamente alla linea di costa e ha una profondità media di 1,5 m (Fig. 1). Il piano di monitoraggio ha previsto 9 sopralluoghi mensili nel corso del 2006 (da marzo a dicembre, con l'esclusione di novembre); per ogni campionamento sono state effettuate almeno 30 prelievi con una draga manuale (14x8 cm) per bassi fondali.

I Chironomidi raccolti sono stati osservati allo stereomicroscopio, al fine di evidenziare le caratteristiche morfologiche e misurare alcune variabili biometriche (lunghezza torace-addome, lunghezza e ampiezza della capsula cefalica) per l'individuazione dell'*instar* di appartenenza. Successivamente, l'osservazione al microscopio ottico ha consentito l'esame delle capsule cefaliche per l'attribuzione specifica (Ferrarese 1983; Nocentini 1985).



Fig. 1 – Batimetria del Lago Trasimeno e area di monitoraggio

3. Risultati e Discussioni

L'esame di 4030 larve di Chironomidi raccolte nei 9 mesi di indagine ha messo in evidenza la presenza di 15 taxa (Tab.1). E' interessante sottolineare che solo i rappresentanti del genere *Polypedilum* sono stati rinvenuti in tutti i sopralluoghi.

Tab. 1 –Taxa di Chironomidi rinvenuti nell'area di studio durante i campionamenti mensili del 2006

Fam. Chironomidae	marzo	aprile	maggio	giugno	luglio	agosto	settembre	ottobre	dicembre
Sfam. Tanyptodinae									
<i>Procladius</i> sp.	-	-	-	+	+	+	+	-	-
<i>Tanyptus</i> sp.	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Sfam. Chironominae									
Tr. Chironomini									
<i>Chironomus plumosus</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cladopelma</i> sp.	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<i>Cryptochironomus</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Dicortendipes</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Glyptotendipes</i> sp.	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microchironomus</i> sp.	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Microtendipes</i> sp.	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Polypedilum</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudochironomus</i> sp.	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stictochironomus</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Tr. Tanytarsini									
<i>Cladotanytarsus</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Tanytarsus</i> sp.	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Chironomidae indet.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

La figura 2 riporta l'andamento della densità dei Chironomidi nel periodo marzo-dicembre 2006 con una densità media mensile di 1241 indiv/mq. In merito all'azione tossica del batterio, gli esemplari sono stati suddivisi in 2 raggruppamenti grazie all'analisi morfometrica (relazione tra l'ampiezza e la lunghezza del capo) che ha permesso di assegnare gli individui esaminati ad uno specifico stadio larvale. Il primo gruppo è composto da quelli appartenenti al II *instar*, relativamente più sensibili alla tossina insieme a quelli del I *instar* (quest'ultimi non rilevabili dalle tecniche di campionamento per le dimensioni <1 mm); il secondo gruppo è costituito da individui appartenenti agli stadi di sviluppo successivi (III-IV *instar*) e quindi meno suscettibili all'azione del batterio.

Di particolare interesse sono gli andamenti mensili di questi 2 raggruppamenti da aprile a settembre, in cui sono stati effettuati i trattamenti con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, interessando i primi stadi larvali soprattutto nei mesi di luglio ed agosto.

Emergono 2 picchi di massima densità: a marzo con 2363 indiv/mq; a giugno con 2462 indiv/mq. Densità inferiori si riscontrano in tarda primavera (maggio, 695 indiv/mq), e a fine estate (settembre, 186 indiv/mq; ottobre, 408 indiv/mq).

Tale dinamica stagionale è in accordo con quanto previsto dal ciclo biologico di questi insetti che, di norma, prevede, alle nostre latitudini, due periodi di sfarfallamento: in primavera e a fine estate.

Le fasi di sfarfallamento sono in accordo con l'aumento dei valori di temperatura delle acque, a sottolineare che l'emergenza è particolarmente condizionata da questa variabile ambientale. Il trend dell'ossigeno disciolto non evidenzia fenomeni di anossia (Fig. 3).

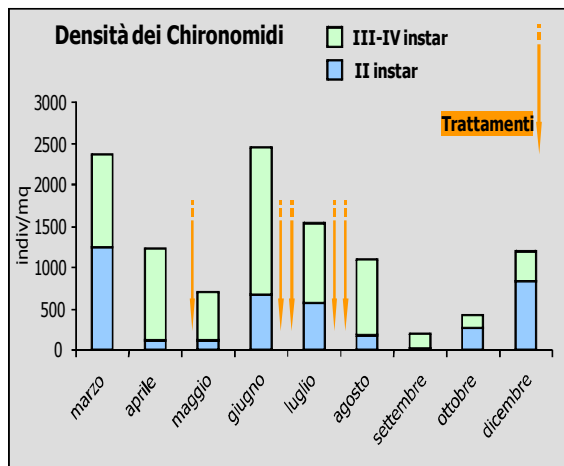


Fig. 2 – Densità mensile delle larve di Chironomidi (giovani e mature) e trattamenti con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

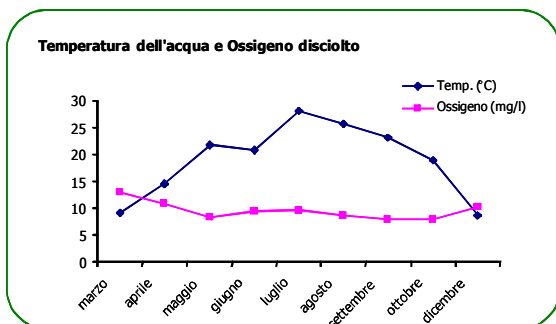


Fig. 3 – Andamento mensile della temperatura e dell'ossigeno nell'area di studio

Il monitoraggio ha permesso di evidenziare i taxa più abbondanti e la loro densità media mensile: *Polypedilum* (351 indiv/mq), *Cladotanytarsus* (310 indiv/mq), *Stictochironomus* (113 indiv/mq), *Chironomus plumosus* (88 indiv/mq). Consistente è la quota di Chironomidi non identificati (265 indiv/mq) per l'assenza di caratteri diagnostici negli stadi giovanili o per il cattivo stato di conservazione del reperto al momento del prelievo. Quote minori spettano a *Cladopelma*, *Cryptochironomus*, *Dicrotendipes*, *Tanytus*, *Microchironomus*, *Microtendipes*, *Procladius*, *Pseudochironomus*, *Tanytarsus*.

Il numero medio mensile dei taxa ammonta a 9 con un valore minimo in ottobre (5 taxa) e massimo in giugno e luglio (12 taxa). Indici di biodiversità, in merito alla componente a Chironomidi, quali l'indice di Shannon (H) e di Evenness (E) (Shannon & Weaver 1949), hanno evidenziato valori più elevati nel periodo estivo, raggiungendo il primo il valore massimo in luglio (2,9) e il secondo in luglio e settembre (0,8).

L'effetto dell'azione dell'endotossina sulla densità di popolazione larvale, valutato sia complessivamente che per singolo taxon, è di difficile quantificazione per la complessità delle interazioni ambientali.

L'indagine non ha evidenziato un'alterazione delle normali dinamiche stagionali e della biodiversità della comunità a Chironomidi. Si ritiene che l'uso del batterio abbia probabilmente solo ridotto l'abbondanza delle larve di tali Ditteri.

Il monitoraggio effettuato sulle fasi acquatiche del ciclo biologico dei Chironomidi ha permesso di raccogliere dati sulla biologia di questi insetti nell'ecosistema Lago Trasimeno. Tali informazioni sono essenziali per una corretta pianificazione dei trattamenti con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, con l'obiettivo di operare in modo da minimizzare l'impatto sulle biocenosi lacustri.

Bibliografia

- Butko, P., Huang, F., Pusztai-Carey, M. & Surewicz, W. K. (1996) Membrane permeabilization induced by cytolytic delta-endotoxin CytA from *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Biochemistry*, **35**, 11355-11360.

- Ceccagnoli, D., Goretti, E., Chiappafreddo, U. & Di Giovanni, M.V. (2002) Macrofauna bentonica della zona profonda del Lago Trasimeno. *Atti 63° Congr. Naz. U.Z.I.*, 76.
- Dragoni, W. (1982) Idrogeologia del Lago Trasimeno: sintesi, problemi, aggiornamenti. *Geogr. Fis. e Din. Quaternaria*, **5**, 192-206.
- Ferrarese, U. (1983) *Chironomidi*, 3. Guida per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane, CNR AQ/1/204.
- Hansen, K., Mouridsen, S. & Kristensen, E. (1998) The impact of *Chironomus plumosus* larvae on organic matter decay and nutrient (N,P) exchange in a shallow eutrophic lake sediment following a phytoplankton sedimentation. *Hydrobiologia*, **364**, 65-74.
- Kajak, Z. (1997) *Chironomus plumosus* – what regulates its abundance in a shallow reservoir? *Hydrobiologia* **342/343**, 133-142.
- Nocentini, A. M. (1985) *Chironomidi*, 4. Guida per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. CNR AQ/1/233.
- Pery, A. R. R. & Mons, R. G. J. (2005) Modelling of the life cycle of *Chironomus* species using an energy-based model. *Chemosphere* **59**, 247-253.
- Pinder, L. C. V. (1978) *A key to the adult males of the british Chironomidae*. Freshwater Biological Association.
- Rai, G. P. & Rana, R. S. (1979) Effectiveness of beta-exotoxin of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on the ability of *Meloidogyne* sp. from brinjal (*Solanum melongena* L.) to survive. *J. Biosci.*, **1**, 271-278.
- Schnell, D. J. & Nickerson, K. W. (1983) Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* crystals to *Aedes aegypti* larvae: carbonate reversal. *Applied And Environmental Microbiology*, **45**, 1691-1693.
- Shannon, C.E. & Weaver, W. (1949) *The mathematical theory of communication*. University & Illinois Press, Urbana, pp. 117.
- Thomas, W.E. & Ellar, D.J. (1983) *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* crystal delta-endotoxin: effects on insect and mammalian cells in vitro and in vivo. *Journal of Cell Science*, **60**, 181-197.