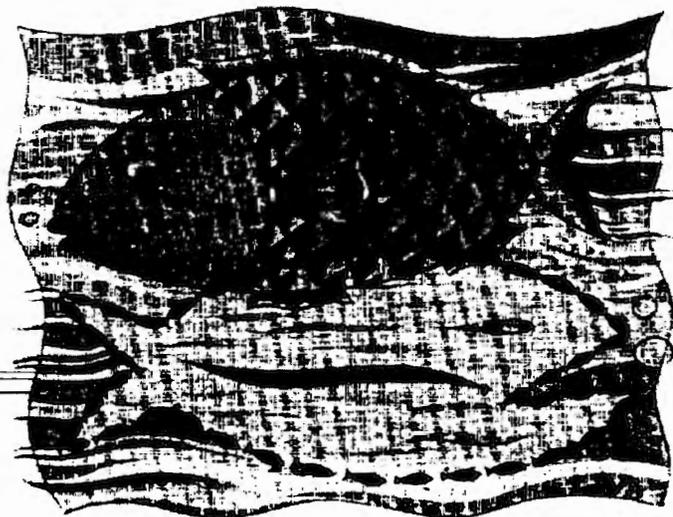


IGIENE AMBIENTALE



MORIA ITTICA NEL FIUME MAGRA (1990): CAUSE E CONCAUSE

di G. Pasini*, C. Ercolini**, F. Palmieri*, S. Fisichella**

INTRODUZIONE

Il fiume Magra prende origine dalla dorsale appenninica in provincia di Massa Carrara e poco prima di ricevere gli apporti del fiume Vara, suo maggiore affluente, entra nel territorio spezzino per giungere al mare dopo aver attraversato per circa 15 km la propria pianura alluvionale.

Le condizioni generali del fiume nel tratto appenninico ed intermedio sono soddisfacenti, come testimoniano i mappaggi biologici (SANSONI e SACCHETTI, 1987; ABBATE e BENCO, 1989) col metodo E.B.I. (GHETTI e BONAZZI, 1981). Tali ricerche, infatti, hanno permesso di classificare nella I^a C.Q. (Classe di Qualità) l'intero reticolo idrografico comprese le aste fluviali del

Magra e del Vara, ad eccezione di limitati tratti. L'area di confluenza ed il successivo tratto di circa 8 km, fino all'inizio della zona di transizione, risultano, invece, leggermente inquinati (II^a C.Q.).

Tale impoverimento è attribuibile sia allo sversamento di reflui urbani sia, soprattutto, alle alterazioni morfologiche dell'alveo conseguenti alle escavazioni di inerti (oltre 24 milioni di m³ nel solo periodo 1958-73), alla realizzazione in alveo di canali navigabili per la nautica da diporto, al rilevante prelievo idrico e allo spianamento e geometrizzazione dell'alveo, alla devegetazione e alla distruzione di microambienti connessi alla realizzazione di numerose "opere idrauliche" (arginature a scogliera, briglie, pennelli e risagomature in genere).

Per il tratto di transizione (di circa 7 km), vista l'inapplicabilità del metodo E.B.I. alle acque salmastre, sono disponibili solo dati chimici, fisici e batteriologici che, nell'insieme, testimoniano un accresciuto inquinamento. Basti ricordare, a titolo esemplificativo, che

* Laboratorio Biotossicologico P.M.P. XIX U.S.L. - Reg. Liguria, Via Fontevivo 129, 19100 La Spezia; tel. 0187/501258

** Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (Dir. Prof. G. Cantini Cortellezzi), Sezione Diagnostica della Spezia, Via degli Stagnoni 96, 19100 La Spezia; tel. 0187/507370

nella sola zona di estuario vengono sversate acque reflue attribuibili a 55.000 ab. eq., solo il 65% delle quali viene sottoposto ad un trattamento di depurazione tale da consentire il rispetto dei parametri chimico-fisici previsti dalla tabella A della legge n° 319/76. Inoltre, pur non essendo disponibili al momento dati affidabili sul carico inquinante connesso alle attività nautiche nel tratto di transizione, una stima attorno ai 5.000 ab. eq. non appare certamente eccessiva, almeno nei periodi di alta stagione turistica.

E' in questo contesto ambientale che nell'estate del 1990 una grave epizoozia ha colpito la popolazione ittica interessando soprattutto esemplari adulti delle specie di Mugilidi presenti (*Mugil cephalus*, *Liza aurata*, *Chelon labrosus*) e -in minor misura e solo nella fase iniziale- anguille e branzini.

Scopo del presente lavoro è evidenziare, oltre all'etiologia dell'epizoozia, anche quei diversi fattori che obiettivamente possono aver giocato un ruolo concausale nell'innescare e nel mantenimento della prolungata moria verificatasi.

MATERIALI E METODI

L'epizoozia ha avuto inizio nella seconda decade di luglio, raggiungendo l'acme della mortalità nei primi quindici giorni di agosto, per poi attenuarsi nella prima metà di settembre in concomitanza di un brusco mutamento delle condizioni meteo-climatiche.

Il focolaio ha interessato l'intero tratto delle acque di transizione del fiume, lungo circa 7 km, compreso fra la foce e lo sbarramento artificiale di Battifollo (fig. 1); nessuna mortalità è stata osservata nelle acque continentali al di sopra della zona di estuario.

La mortalità complessiva è difficilmente quantificabile: alle diverse decine di tonnellate di Mugilidi galleggianti raccolte in superficie nell'arco dell'intero periodo va, infatti, sommato un imprecisato, ma elevatissimo, numero di pesci morti osservati sul fondo del fiume o in mare aperto, trasportativi dalla corrente.

Nel corso di diversi sopralluoghi è stato possibile osservare numerosi esemplari nella

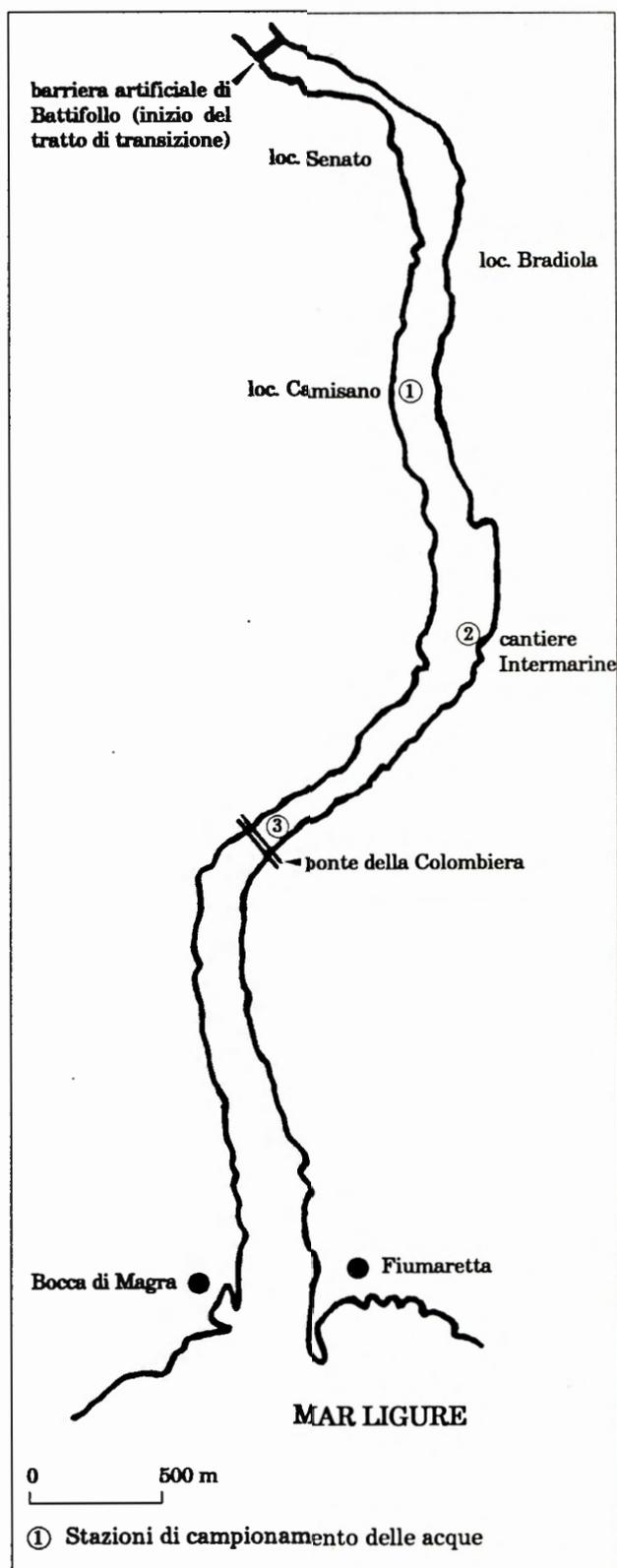


Fig. 1 - Il tratto del fiume Magra interessato dalla grave moria ittica

fase agonica della malattia: facilmente catturabili col retino, si mostravano in superficie boccheggianti ed alcuni giungevano rapidamente a morte dopo spasmodiche contrazioni del corpo.

Sono stati eseguiti sia esami necroscopici su Mugilidi morti o rinvenuti ancora vitali che esami isto-patologici su sezioni d'organo fissate in formalina al 10% e colorate con ematossilina-eosina e Giemsa.

Gli accertamenti microbiologici sono stati eseguiti su materiale prelevato sterilmente da milza, rene e fegato. Le semine sono state effettuate in doppio sui seguenti terreni colturali: Columbia Blood Agar supplementato con il 5% di globuli rossi di cavallo, Mc Conkey Agar n° 3, Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar; le piastre sono state quindi incubate sia a 30 °C che a 37 °C in atmosfera normale. I tests biochimici identificativi sono stati eseguiti su terreni addizionati dell'1% di NaCl e dell'1% di estratto di lievito.

Le analisi chimico-fisiche delle acque sono state condotte dal laboratorio del Centro Ricerche Energia Ambiente dell'ENEA della Spezia e gentilmente concesse. In particolare, temperatura, salinità, ossigeno disciolto e pH sono state rilevate mediante sonda multiparametrica CTD-Hydronaut e i nutrienti tramite Auto-Analyzer Technicon II generazione mentre per la clorofilla "a" è stato adottato il metodo spettrofotometrico, così come previsto dagli "Standard Methods" (APHA-AWWA-WPCF, 1989).

Sono stati inoltre eseguiti sulle acque accertamenti di carattere puramente biologico:

- indagini quali-quantitative fitoplanctoniche: i campioni sono stati prelevati con bottiglie Niskin ad una profondità di 50 cm ed analizzati secondo la tecnica di Utermöhl per la conta e la tipizzazione qualitativa del fitoplancton sedimentato;
- analisi microbiologiche per la valutazione del grado di fecalizzazione: sono stati quantificati i classici indicatori di contaminazione fecale (Coliformi totali, Coliformi fecali, Streptococchi fecali) secondo le metodiche su membrane filtranti previste dagli "Stan-

dard Methods" (APHA-AWWA-WPCF, 1989);

- indagini biotossicologiche su molluschi lamellibranchi del genere *Mitilus* per evidenziare la presenza di biotossine algali D.S.P. e P.S.P.: tali accertamenti sono stati condotti secondo le metodiche Yasumoto e AOAC-USA (D.M. 1/9/90);
- saggi tossicologici eseguiti a livello di screening qualitativo con batteri bioluminescenti ed apparecchiatura automatica Lumistox.

RISULTATI

Nel primo periodo della moria i pesci esaminati non manifestavano lesioni macroscopiche evidenti, nè esterne nè agli organi cavitari. Al contrario, i pesci analizzati in seguito presentavano costantemente diffuse lesioni emorragiche cutanee, soprattutto in corrispondenza dell'apertura anale, e notevole congestione branchiale con chiara ipermucosità e presenza di aree necrotiche.

All'esame autoptico le lesioni più rappresentative erano costituite da: forte degenerazione epatica, congestione di tutto il tratto intestinale con abbondante presenza di materiale muco-purulento, ispessimento e congestione della vescica natatoria e ingrossamento della milza, disseminata di piccoli noduli bianco-grigiastri del diametro di 1-3 mm che, in alcuni casi, erano repertati anche sul parenchima epatico e renale.

Istologicamente le lesioni nodulari risultavano caratterizzate da aree necrotiche contornate da numerose cellule fagocitarie notevolmente ingrossate. Sezioni istologiche della milza colorate con Giemsa permettevano, inoltre, di apprezzare ammassi di batteri negli spazi interstiziali e nei capillari sanguigni.

Gli esami microbiologici hanno evidenziato, unicamente sulle piastre di Columbia Blood Agar incubate a 30 °C, piccole colonie traslucide a goccia di rugiada non emolitiche. Tali colonie, del diametro di una capocchia di spillo dopo 24 ore di incubazione, raggiungevano dopo 48 ore le dimensioni di 0,5-1 mm di diametro senza poi accrescersi ulteriormente. La colorazione di Gram permetteva di osservare coccobacilli

gram-negativi con spiccata colorazione bipolare e dotati di un chiaro pleiomorfismo, particolarmente evidente nelle colture vecchie. La crescita era completamente assente su C.A.B. incubato a 37 °C, così come su Mc Conkey n° 3 e T.C.B.S. agar incubati sia a 30 °C che a 37 °C. Le caratteristiche biochimiche dei ceppi isolati sono riportate in tab. 1.

L'aspetto macroscopico ed istologico delle lesioni nodulari spleniche, renali ed epatiche associate alle caratteristiche colturali, morfologiche e biochimiche del ceppo batterico costantemente isolato dagli organi degli animali colpiti, in accordo con la descrizione che della malattia fa ROBOHM (1982), ha permesso di formulare la diagnosi di pasteurellosi (ERCOLINI et al., 1990). Gli stipti batterici isolati infatti, nonostante in letteratura esistano discordanze sulle caratteristiche biochimiche dei vari ceppi di *Pasteurella piscicida* di volta in volta isolati (JANSSEN e SURGALLA, 1968; TUNG et al., 1985), presentavano un profilo metabolico che si accordava significativamente con quanto proposto dalla bibliografia recente (AUSTIN e AUSTIN, 1987).

In tab. 2 sono elencati i risultati dei parametri chimico-fisici, dei nutrienti e della clorofilla "a" determinati nelle acque, in 3 stazioni e a tre diverse profondità, per il periodo maggio-agosto 1990. In sintesi, da essi emergono: un modico grado di eutrofia; una certa sottosaturazione dell'ossigeno disciolto; una forte riduzione, in tutte le stazioni, della stratificazione salina nel periodo luglio-agosto; una temperatura più elevata in superficie che in profondità nel mese di giugno ed una sostanziale isoterma verticale in luglio; in agosto la temperatura superficiale inizia nuovamente a scendere al di sotto di quella di fondo e si osserva un sensibile miglioramento dei livelli di ossigeno disciolto.

Le indagini quali-quantitative sul fitoplancton hanno evidenziato una concentrazione compresa fra 100.000 e 1.000.000 cellule/litro, con esclusione del nannoplancton, mentre dal punto di vista qualitativo non sono state riscontrate specie tossigene o potenzialmente tali.

Le analisi microbiologiche hanno accertato

Tab. 1. Caratteristiche biochimiche e colturali dei ceppi di *Pasteurella piscicida* isolati

Crescita su Mc Conkey n° 2 30 °C	-
Crescita su Mc Conkey n°3 30 °C	-
Crescita su S.S. agar 30 °C	-
Crescita su Brilliant Green agar 30 °C	-
Crescita su TCBS 30 °C	-
Crescita su CAB 37 °C	-
Crescita su CAB 30 °C	+
Crescita su TSA 1% NaCl 0,6% YE 30°C	+
Crescita su Marin Agar 30°C	+
Torbidità uniforme in brodo	+
Richiesta NaCl	+
Crescita favorita da CO ₂	+
T.S.I.	NC/A/-/-
O-F Glucose	F
Tween 80	+
Urea	-
Motilità 30°C	-
Motilità 25°C	-
Emolisi	-
Catalasi	+
Ossidasi	+
Riduzione nitrati	-
Indolo	-
H ₂ S (PbAc)	-
Rosso-metile	+
Voges-Proskauer	+
ADH	+
LDC	-
ODC	-
ONPG	-
TDA	-
Degradazione di:	
Amido	-
Gelatina	-
Sensibilità a:	
Novobiocina 30 mcg	+
Penicillina 10 U.I.	+
O/129 500 mcg	+
Acido da:	
Fruttosio 0,5%	+
Galattosio 1%	+
Glucosio 0,5%	+
Lattosio 0,5%	-
Maltosio 0,5%	-
Mannitolo 0,5%	-
Mannosio 0,5%	+
Ramnosio 0,5%	-
Saccarosio 0,5%	-
Xilosio 0,5%	-
Esculina 0,5%	-
Sorbitolo 0,5%	-

A = acidificazione

F = fermentazione

NC = Nessun cambiamento

un discreto grado di fecalizzazione delle acque: i coliformi totali oscillano da 1.000 a 180.000 UFC/100 ml, i coliformi fecali da 580 a 45.000 UFC/100 ml e gli streptococchi fecali da 100 a 6.200 UFC/100 ml. Per quanto attiene, infine, gli accertamenti biotossicologici, sia la ricerca delle biotossine algali D.S.P. e P.S.P. sia i saggi tossicologici condotti con batteri biolumune-

scenti hanno dato costantemente esito negativo.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Esaurita succintamente la pura e semplice etiologia della moria, resta da chiarire se fattori ambientali possano aver influito sull'innescò, sull'entità e sulla durata del fenomeno.

Tab. 2 - Temperatura, salinità, ossigeno disciolto, nutrienti e clorofilla "a" nelle tre stazioni di campionamento per il periodo maggio-agosto 1990.

(S = in superficie

I = a profondità intermedia

F = presso il fondo)

Staz. N°	MESE		T(°C)	S°/∞	O ₂	pH	NH ₃	NO ₃	PO ₄	P org.	Cl. "a"
1	MAGGIO	S	18,93	1,14		7,8	40,9	245	20,8		0,68
		I	21,35	26,37		8,4	10,8	6,4	5,6	15,5	39,70
		F	21,08	35,51		7,9	4,3	1,5	9,3	5,9	3,03
	GIUGNO	S	25,47	13,90	4,58	7,9	45,9	130	4,9	12,7	8,34
		I	25,73	28,20	4,90	8,2	tr.	11,8	4,6	10,8	17,40
		F	24,12	36,10	3,44	8,1	tr.	1,3	0,6	13,6	13,40
	LUGLIO	S	24,47	31,50	5,08	8,1	7,1	56,7	7,4	4,3	14,44
		I	24,30	35,30	4,76	8,0	1,7	1,5	7,1	5,3	26,5
		F	23,70	36,60	3,15	8,0	8,4	6,0	2,5	8,0	5,68
	AGOSTO	S	24,34	28,30	6,87	7,7	43,3	124	2,8		21,00
		I	24,53	29,30	6,77	7,7	9,4	36	3,4		24,00
		F	25,75	35,50	6,18	7,8	65,2	235	3,1		16,80
2	MAGGIO	S	19,77	2,06		7,9	55,2	267	28,0		0,67
		I	21,22	30,80		8,2	2,5	0,7	2,5	11,5	18,80
		F	20,43	35,90		7,9	3,4	4,3	5,0	6,8	8,47
	GIUGNO	S	25,04	15,14	5,87	8,1	tr.	76	3,1	9,0	13,83
		I	25,08	22,78	6,00	8,2	tr.	16	5,6	6,2	11,71
		F	24,12	36,02	4,30	8,0	tr.	4,5	2,5	9,3	13,43
	LUGLIO	S	23,95	25,84	5,28	8,0	8,7	79,5	5,9	3,7	9,77
		I	24,29	36,64	5,33	8,0	0,7	0,4	5,6	1,9	10,81
		F	24,04	37,05	4,31	8,0	13,0	7,3	0,6	8,4	2,44
	AGOSTO	S	23,94	27,39	7,03	7,8	7,0	15,2	2,8		13,80
		I	25,18	34,72	6,37	7,8	9,4	58,8	2,8		13,10
		F	25,30	37,19	6,25	7,8	68,0	15	5,3		1,60
3	MAGGIO	S	20,29	6,86		8,0	43,4	177	9,8		1,02
		I	20,55	34,90		8,0	2,8	10,5	0,8	5,0	4,53
		F	20,40	36,40		8,0	4,3	6,4	1,1	3,1	2,65
	GIUGNO	S	24,63	14,42	6,50	8,1	tr.	81,9	1,0	6,8	24,51
		I	24,44	33,73	5,92	8,1	tr.	35,3	0,4	8,7	3,55
		F	23,54	37,41	5,12	8,1	tr.	3,5	0,2	7,1	2,83
	LUGLIO	S	23,90	25,31	5,56	8,0	2,7	40,3	5,2	4,3	10,39
		I	24,14	36,86	5,29	8,0	1,7	2,2	5,9	1,6	9,85
		F	24,05	37,43	4,62	8,0	5,0	5,7	1,9	7,7	3,19
	AGOSTO	S	24,35	27,85	7,12	7,8	9,4	185	2,5		2,60
		I	24,46	30,45	7,03	7,9	9,4	114	2,5		5,10
		F	24,71	37,77	6,66	7,9	16,0	9,1	1,3		1,80

Già BULLOCK nel 1971 sottolineava come blooms algali, inquinamenti e modificazioni dei normali parametri fisici delle acque potessero essere fattori predisponenti nelle epizootie di pasteurellosi.

Nel nostro caso è da ritenersi che, in accordo con MATSUSATO (1975) secondo cui i focolai più gravi di tale malattia si verificano con valori di temperatura compresi fra 23 °C e 26 °C e di salinità tra 30 ‰ e 33 ‰, questi due parametri fisici abbiano giocato un ruolo significativo. Dall'esame dei dati della tab. 2 appare chiaramente che a partire da giugno la temperatura delle acque ricade proprio nell'intervallo ottimale per *P. piscicida* e che, nel periodo interessato dalla moria (luglio-agosto), è venuta meno la normale stratificazione esistente tra le acque superficiali meno salate e le acque profonde più salate per far posto ad una omogeneità di valori sull'intera colonna d'acqua.

Nel caso del Magra, tra le cause di questa anomala situazione ambientale appare preponderante l'esigua portata fluviale legata sia alle scarse precipitazioni, sia agli eccessivi prelievi idrici. Basti pensare, infatti, che il solo prelievo del Canale Lunense -il principale degli innumerevoli canali irrigui- sottraeva nel mese di agosto 2 m³/s, pari a ben il 75% della portata del fiume (SANSONI 1991, comunicazione personale). D'altronde una eloquente misura del livello di irrazionalità nella gestione delle risorse idriche del Magra è data dalle autorizzazioni ai prelievi concesse nell'intero reticolo idrografico: oltre 30 m³/s, contro una portata estiva del Magra di 3-4 m³/s.

Il generalizzato abbassamento dell'alveo conseguente alle escavazioni e le estese opere di canalizzazione, inoltre, riducono il ruolo di volano idraulico degli acquiferi di subalveo (assorbire acqua nei periodi di maggior portata, per restituirla gradualmente nei periodi di magra), accentuando l'entità e la durata delle condizioni di magra. Anche il rallentamento della corrente e la sua dispersione su più ampie superfici, provocati dagli spianamenti e allargamenti del letto, determinano un sensibile riscaldamento delle acque.

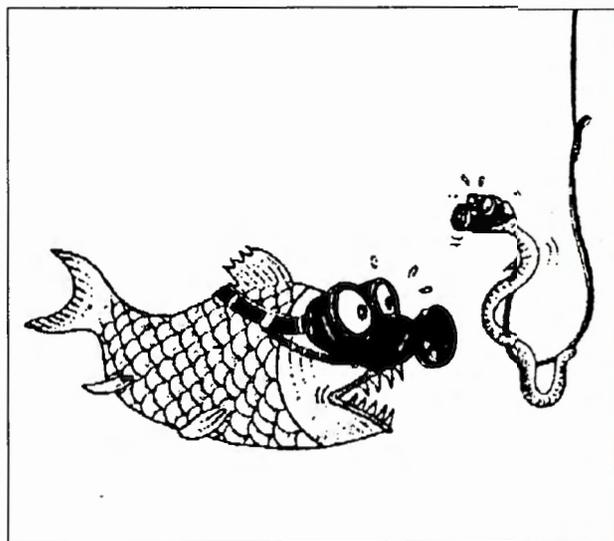
L'innaturale profondità del tratto terminale

del Magra dovuta alla realizzazione di canali navigabili e alle massicce escavazioni del passato esaspera, infine, le condizioni di fragilità di questo tratto che, per la salinità e la stagnazione delle acque, è paragonabile più ad un lago salmastro stretto e lungo (7 km) che ad un corso d'acqua fluente.

In conclusione, è ragionevole ritenere che le alterazioni ambientali che hanno contribuito a determinare condizioni di temperatura e salinità favorevoli al batterio *Pasteurella piscicida* abbiano svolto un ruolo non secondario nell'insorgere e/o nell'entità del focolaio epidemico.

Per quanto riguarda invece i reflui urbani, depurati e non, con il relativo apporto di inquinanti e sostanze tossiche, aumento di trofia e riduzione dell'ossigeno disciolto, allo stato attuale delle conoscenze non è possibile stabilire se essi abbiano rivestito un ruolo significativo quali fattori stressanti in grado di ridurre la resistenza dei pesci alla noxa patogena.

Al fine di ripristinare nel tratto terminale del fiume Magra condizioni ambientali più vicine a quelle originarie, certamente più favorevoli alle biocenosi acquatiche, al momento attuale l'unica strada percorribile appare quella del reinnalzamento dell'alveo ottenibile mediante ripascimenti solidi mirati nonché il graduale smantellamento di tutte quelle opere idrauliche ritenute ambientalmente incompatibili.



BIBLIOGRAFIA

ABBATE M., BENCO C. - 1989. Mappaggio biologico del fiume Magra (tratto intermedio) e del fiume Vara (tratto terminale).

In "Studio ambientale del fiume Magra", *ENEA, Centro Ricerche Energia Ambiente, S. Teresa, La Spezia*, pp: 145-157.

APHA-AWWA-WPCF - 1989. Standard methods for examination of water and wastewater (17th edition). *APHA, Washington*.

AUSTIN B., AUSTIN D.A. - 1987. Bacterial fish pathogens: Diseases in farmed and wild fish. *Ellis Horwood Limited., Chicester, England*.

BULLOCK G.L. - 1978. Pasteurellosis of fishes. *United States Dep. of the Interior, Fish and Wildlife Service, Fish Disease Leaflet, n°54*.

ERCOLINI C., PASINI G., FISICHELLA S., PALMIERI F. - 1990. Su di un focolaio di Pasteurellosi in alcune specie ittiche della zona di estuario di un fiume della provincia di La Spezia.

In: *Atti I° Conv. Naz. Soc. It. Pat. Ittica, Verona, 11 Ottobre 1990*.

GHETTI P.F., BONAZZI G. - 1981. I macroinvertebrati nella sorveglianza ecologica dei corsi d'acqua.

CNR, Collana Progetto Finalizzato "Promozione della qualità dell'ambiente", AQ/1/127, Roma.

JANSSEN W.A., SURGALLA M.J. - 1968. Morphology, physiology and serology of a *Pasteurella* species pathogenic for the white perch (*Roccus americanus*). *J.Bacteriol.*, **96**: 1606-1610.

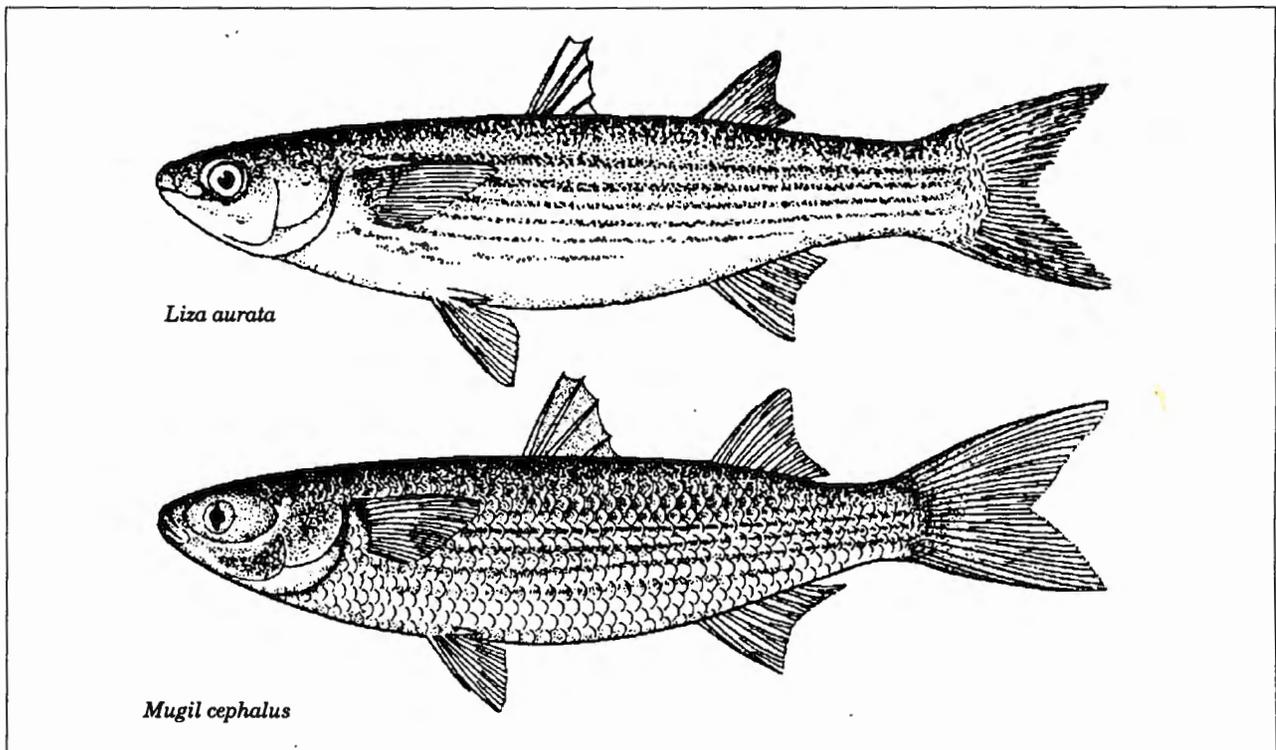
MATSUSATO T. - 1975. Bacterial tuberculosis of culture Yellowtail.

Proceedings of the Third U.S.-Japan Meeting on aquaculture at Tokio, Japan 15-16 October 1974.

ROBOHM R.A. - 1982. *Pasteurella piscicida*. *Symposium International de Taillores "Antigen of fish pathogens: development and production for vaccine and serodiagnostic"*, Talloires 10-12 May 1982.

SANSONI G., SACCHETTI P. - 1987. Il Bacino del Magra: un ambiente da salvaguardare.

In *Atti Conv. "Mappaggio biologico, strumento di valutazione della qualità delle acque correnti"*, Firenze, 9 aprile 1986. *Giunta Regionale Toscana*, pp. 29-33.



Liza aurata

Mugil cephalus