



Laboratorio FLEMING s.a.s di A. D'Alessandro & C.

Analisi Agro-Alimentari ed Ambientali ---- Via Lauro n° 312 – SCALEA (CS)

Telefax 0985/20777 - labfleming.scalea@tiscali.it - info@flemingscalea.it - www.flemingscalea.it

Direttore Responsabile : Dott/ssa Angelina D'Alessandro



STUDIO CONOSCITIVO AMBIENTE IDRICO SUPERFICIALE

Area interessata da lavori di Ammodernamento ed Adeguamento al tipo 1A delle Norme CNR/80 dal km 393+500 (svincolo di Gioia Tauro escluso) al km 423+300 (svincolo di Scilla escluso)

ATTIVITA'	<p><u>AMBIENTE IDRICO SUPERFICIALE:</u> Indagini idro-biologiche e fisiche-Analisi dei parametri chimico- fisici ,ecotossicologici , e microbiologici di qualita' delle acque e portata idrica</p> <p><u>AMBIENTE IDRICO SOTTERRANEO:</u> Analisi dei parametri chimico- fisici e microbiologici di qualita' delle acque-Radioattivita'</p>
TIPO DOCUMENTO	<p><u>AMBIENTE IDRICO SUPERFICIALE:</u> COMMENTO AI RISULTATI ANALITICI E CONCLUSIONI STATO ECOLOGICO E STATO AMBIENTALE DEI CORSI D'ACQUA</p> <p><u>AMBIENTE IDRICO SOTTERRANEO:</u> COMMENTO AI RISULTATI ANALITICI E CONCLUSIONI -STATO QUALITATIVO CHIMICO : INDICE SCAS E CLASSE DI GIUDIZIO QUALITA'</p>
RELAZIONE	
COMMITTENTE	SARC S.C.P.A
RIFERIMENTO	PMA : AMBIENTE IDRICO
FASE	ANTE OPERAM
REALIZZAZIONE	LABORATORIO FLEMING sas di A.D'Alessandro & C. Via Lauro 312- Parco Scalea 2000 Arenile Pal.D –SCALEA (CS) Tel 0985 20777 - Fax 0985 20777
DATA DI EMISSIONE	10/04/2006
RESPONSABILE E REFERENTE	Dott/ssa Angelina D'alessandro

Laboratorio FLEMING S.a.s.

IL DIRETTORE RESPONSABILE

Dott. ssa Angelina D'Alessandro

isc. 24411 Ord. Naz. Biologi



INTRODUZIONE

In questo lavoro vengono riportati i risultati delle indagini svolte nel corso della fase conoscitiva (ANTE OPERAM), del monitoraggio delle acque superficiali presenti nell'aria territoriale interessata ai lavori di Ammodernamento ed Adeguamento al tipo 1A delle Norme CNR/80 dal km 393+500 (svincolo di Gioia Tauro escluso) al km 423+300 (svincolo di Scilla escluso), come previsto nel Piano di monitoraggio ambientale (PMA) ed in attuazione del D.Lgs 152/1999 modificato ed integrato dal D.Lgs n° 258/2000 e del D. Lgs 152/2006. (Studio di Impatto Ambientale.)

Secondo quanto indicato nell'Allegato I al D.Lgs n°152/99 la fase conoscitiva ha come scopo la prima classificazione dello stato di qualità ambientale dei corpi idrici.

In termini temporali le indagini sono state condotte, per incarico della SARC S.C.P.A, da gennaio 2006 a fine marzo 2006 e si riferiscono alla fase ANTE OPERAM.

Le stazioni di indagini sono state in tutto 21

MATERIALI E METODI

Nelle pagine che seguono viene descritto minuziosamente il lavoro fatto ed i risultati ottenuti

PUNTI DI CAMPIONAMENTO

- **Bacino Fiume Petrace**
 - Stazione IDR 21
 - Stazione IDR 22
 - Stazione IDR 23
 - Stazione IDR 24
- **Bacino Fosso Madonna della Neve**
 - Stazione IDR 19
- **Bacino Vallone Granaro**
 - Stazione IDR 18
 - Stazione IDR 17
- **Bacino Torrente Gaziano**
 - Stazione IDR 16
- **Bacino Fosso Bagnara Calabria I**
 - Stazione IDR 15
- **Bacino Fiumara Sfalassa'**
 - Stazione IDR 13
 - Stazione IDR 12
 - Stazione IDR 11
- **Bacino Torrente Acqua della Signora**
 - Stazione IDR 10
- **Bacino Fosso Pietra del Corvo**
 - Stazione IDR 09
- **Bacino Torrente Mancusi**
 - Stazione IDR 08
- **Bacino Fiumara Favazzina**
 - Stazione IDR 06
- **Bacino Fosso Favagrega**
 - Stazione IDR 05
- **Bacino Valloneo Condoleo**
 - Stazione IDR 04
- **Bacino Vallone Sciro**
 - Stazione IDR 03
- **Bacino Vallone Oliveto**
 - Stazione IDR 02
- **Bacino Fosso Annunziata**
 - Stazione IDR 01

RETE IDRICA SUPERFICIALE

Il tratto autostradale in esame si inserisce nel settore più meridionale della Calabria in corrispondenza del versante settentrionale del massiccio dell'Aspromonte, questa area, caratterizzata da ridotta estensione delle superfici pianeggianti, concentrate nelle limitate spiagge costiere, unitamente alla conformazione geografica allungata ed occupata da rilievi che giungono quasi ovunque al mare, ha impedito la formazione di corsi d'acqua di notevole ampiezza.

Infatti i numerosissimi torrenti che costituiscono la maggior parte dell'idrografia sono per lo più a breve percorso con andamento pressoché parallelo e a pendenza elevatissima nei tratti montani che si riduce bruscamente a breve distanza dal mare dove i corsi d'acqua assumono la forma di fiumare con letti ampi e divaganti, ingolfati dalle grandi masse detritiche provenienti dalle conoidi addossate ai rilievi estremamente erodibili.

Essi sfociano nel Mar Tirreno in corrispondenza del tratto di costa (Costa Viola) compreso tra Favazzina e Scilla

La natura geologica e la frequenza delle precipitazioni di notevole intensità, durata ed altezza determinano rapidi ed elevatissimi deflussi di piena, attribuendo all'intera regione un carattere di dissestabilità elevatissimo.

In riferimento all'area interessata al monitoraggio ambientale osserviamo lo sviluppo di diversi bacini imbriferi drenati da fiumare e torrenti caratterizzati da elevata acclività; si tratta della FIUMARA DI SFALASSA', del TORRENTE PRAIALONGA e del TORRENTE ACQUA DELLA SIGNORA.

Si rilevano inoltre alcune ripide aree drenate direttamente dal Mar Tirreno, aree in cui il reticolo idrografico è poco evoluto e rappresentato da aste torrentizie per lo più rettilinee ad elevata pendenza, queste aree sono state nominate sulla base dei toponimi caratteristici delle località che interessano: Pietra del Corvo, Monte Cocuzzo e Vardaru

LA FIUMARA SFALASSA' rappresenta il bacino idrografico più esteso all'interno dell'area di studio e mostra un reticolo dendritico, a luoghi angolato, fortemente incassato nel substrato lapideo; caratteristico l'andamento molto sinuoso per tutto lo sviluppo dell'asta principale.

Tale fiumara, per mezzo dei tributari sinistri denominati Val di Rubbia e Pantano Dindra, drena l'abitato di Solano Inferiore procedendo da quote pari a circa 600 m s.l.m. fino a 190 m s.l.m. in corrispondenza della confluenza dei citati fossi con l'asta principale sita a circa 2 Km dall'agglomerato urbano a conferma della notevole acclività media.

IL TORRENTE PRAIALONGA, che delimita ad oriente la zona di studio, presenta uno sviluppo areale molto più ridotto del precedente; caratterizzato da sviluppo dendritico nella zona di testata e a pettine nella zona di valle, presenta acclività notevoli essendo compreso tra una quota massima di circa 600 m s.l.m. ed il livello del mare in soli 2 km di lunghezza totale.

IL TORRENTE ACQUA DELLA SIGNORA presenta un bacino di modestissime dimensioni; ha origine dall'emergenza sorgiva denominata Fontana posta a 511 m s.l.m. e, in soli 800 metri, sfocia nel Tirreno in corrispondenza della Spiaggia di Pietracanale. La rete idrografica di tale torrente è rappresentata da un'unica asta rettilinea a direzione SSW-NNE che riceve l'alimentazione occasionale di un tributario destro a metà del suo percorso.

Il reticolo idrografico, nella zona in esame ed interessata ai lavori, ha determinato sulle rocce cristalline affioranti una serie di incisioni che procedendo in direzione della costa si incassano sempre più profondamente. L'erosione pluviale, infatti, in concomitanza con il generale sollevamento della regione, ha originato nel tempo una fitta rete di valloni e valloncelli tra loro pressoché paralleli e disposti secondo la linea di massima pendenza.

I principali corsi d'acqua dell'area procedendo da Est verso Ovest sono:

- la Fiumara di Favazzina (lunga circa 13 km)
- il Vallone Condoleo (lungo km 2,6)
- il Vallone Sciro' (lungo 1,8 Km)
- Il Vallone Oliveto (lungo 2,1 km)
- Il Vallone dell'Angelo (Fosso Annunziato) (lungo Km 2,2 km)

Sono presenti inoltre alcuni impluvi di minore importanza con sviluppo generalmente inferiore ad 1 km che solcano il pendio settentrionale del Puntone Le Selle (581 s.l.m.)

I bacini idrografici dei valloni ricadenti nel territorio in esame hanno un'estensione molto contenuta e presentano una forma stretta ed allungata in senso meridiano

Il bacino piu' ampio e' ovviamente quello della Fiumara di Favazzina che, come si e' detto , ha un'asta principale di circa 13 km di lunghezza

Le testate di tali bacini si originano in gran parte in prossimità del ciglio della vasta area subpianeggiante chiamata

"Piani della Melia" che si estende verso l'entroterra ad un'altitudine, compresa tra 500 e 650 metri s.l.m.

Quest'ampia superficie rappresenta un importante ripiano di abrasione marina che caratterizza unitamente ad altri disposti a quote differenti, il settore occidentale dell'Aspromonte.

LA FIUMARA DI FAVAZZINA e' il corso piu' importante della zona in esame, essa nasce in prossimità di Rumia a 1324 metri s.l.m. e sbocca nel Mar Tirreno poco a nord di Favazzina, dove si protende verso il mare con una conoide di deiezione. Tale fiumara presenta, in tratti a minor pendenza, piccole piane alluvionali ristrette e discontinue, la sezione idraulica e' per lo piu' a fondo piatto ed e' delimitata da versanti generalmente abbastanza ripidi.

Nel tratto terminale del suo corso(tra A3 e linea ferroviaria)sono presenti alcune briglie atte a contenere i fenomeni di erosione fluviale che si sono verificati in passato. Opere dello stesso tipo sono presenti anche nel tratto finale del Vallone Condoleo

Il reticolo idrografico dell'area di studio si presenta nel complesso poco gerarchizzato ed ha un andamento abbastanza rettilineo con la sola eccezione della Fiumara di Favazzina che, a valle di Piano Nucellari , descrive una serie di anse a piccolo raggio di curvatura.

Quasi tutti i corsi di acqua presenti nel territorio in esame sono caratterizzati da una sezione trasversale a forma di V ed in qualche caso il loro andamento, come pure per il Vallone Sciro e per quello in localita' Fronte, e' controllato da linee tettoniche.

Il materiale solido trasportato dal reticolo idrografico ha determinato la formazione delle piccole spiagge che si osservano localmente lungo il tratto di costa in esame, tra queste la piu' importante per estensione e' quella su cui sorge l'abitato di Favazzina.

In generale si puo' affermare che il reticolo idrografico e' in uno stadio abbastanza giovanile della propria evoluzione ed e' soggetto pertanto ad un lento ma continuo mutamento, come risulta evidente dalla semplice osservazione di carte topografiche edite dall'Istituto Geografico Militare in periodi differenti.

Tutti i corsi d'acqua sono caratterizzati da un marcato regime torrentizio con portate che possono assumere talora una certa importanza ma che sono assolutamente episodiche ed in stretta relazione con gli eventi meteorici.

E' da tenere presente, inoltre, che gran parte del territorio e' costituito da rocce metamorfiche ed ignee, generalmente poco permeabili, che favoriscono pertanto il ruscellamento superficiale.

L'Ecosistema Fluviale

Per ecosistema si intende una unità funzionale, strutturale, ben definita nello spazio, con una sua evoluzione nel tempo, dotata di autosufficienza e di una certa indipendenza dall'esterno, almeno nei confronti di altre unità vicine.

Ogni corso d'acqua, invece è un'unità in realtà molto dipendente dal proprio bacino imbrifero, cioè dagli ecosistemi terrestri nei quali scorre e dai quali riceve contemporaneamente l'acqua che lo alimenta, insieme con tutto quello che essa trova lungo il suo percorso, di origine naturale o antropica, e trasporta ruscellando sul terreno, in diluizione o in solido.

Quindi un fiume, un torrente od un rio vanno considerati come "ecosistemi aperti", in quanto necessitano di notevoli apporti di materia ed energia dall'esterno per permettere e mantenere l'esistenza e la funzionalità delle proprie componenti biologiche.

L'interazione della comunità biotica di una zona fluviale con l'ambiente fisico porta a regolare il flusso in entrata dall'esterno (costituito da energia luminosa e termica, sali minerali, sostanze organiche e materiali biologici in decomposizione trasportati dall'acqua o provenienti dalla vegetazione riparia, etc.) secondo una struttura trofica, governata dai complessi processi metabolici fondamentali, che produce una grande diversità delle forme viventi e una ciclizzazione della materia (scambi tra viventi e non viventi) all'interno del sistema.

Senza addentrarsi troppo nel dettaglio di questi elaborati fenomeni, ai fini della presente analisi si accenna solo alla catena alimentare principale dell'ambiente fluviale ed alle relazioni con il particolare metabolismo di una comunità di organismi che ne fanno parte.

Gli Indicatori Ecologici

Il popolamento animale dell'ambiente fluviale, come si è visto, al pari di quelli di altri ecosistemi è caratterizzato da una grande ricchezza di forme e di specializzazioni; la sua complessità dipende non solo dalla disponibilità di risorse trofiche, ma anche dalla serie di fattori ecologici, tipici degli ambienti fluviali, alcuni dei quali agiscono direttamente, altri indirettamente, sulla sopravvivenza delle singole specie e sulle possibilità di sviluppo delle loro popolazioni.

I principali fattori che quindi determinano la qualità dell'acqua, sono, sotto il profilo fisico-chimico : la velocità della corrente, la torbidità o la trasparenza (che controllano la penetrazione della luce), il tenore di ossigeno disciolto, il pH, la durezza, la temperatura, la presenza di composti chimici in soluzione (dai sali nutritivi utili per gli organismi autotrofi fino ai composti tossici).

Se la comunità biologica è ricca di specie, significa che tutti i fattori ecologici rientrano nell'ambito della normalità; se invece qualcuno di essi subisce delle variazioni importanti, che superino le escursioni medie stagionali, la comunità tende a perdere le sue componenti più sensibili aprendo così nuove disponibilità di risorse per quelle più tolleranti, le cui popolazioni aumentano perciò il numero dei loro effettivi.

All'inquinamento o a qualsiasi altra possibile alterazione della qualità dell'acqua, fa dunque seguito una semplificazione delle comunità biologiche fluviali (riduzione del numero di specie per scomparsa di quelle più esigenti).

La struttura della comunità fluviale è dunque un indicatore della cosiddetta qualità biologica delle sue acque.

In linea di massima, la tendenza attuale è di far riferimento a determinate variabili ambientali, fisiche, chimiche o biologiche a seconda degli obiettivi e del tipo di indicazioni che si vogliono ottenere, le quali, dall'uso e dai risultati ottenuti, sono riconosciute internazionalmente come validi indicatori ecologici, essendosi rivelate in stretta relazione (razionale od empirica) con un fenomeno o una caratteristica ambientale ed in grado di riassumerne gli aspetti più importanti. La rappresentazione funzionale od integrata di uno o più indicatori, viene detta indice ecologico.

Confronto tra analisi di tipo Fisico - Chimico e Biologico per la valutazione della Qualità Biologica delle Acque

La messa a confronto delle peculiarità dei due metodi consente di evidenziarne la complementarità:

- l'approccio chimico individua analiticamente le singole cause di alterazione delle acque e dei sedimenti (stima del rischio ambientale);
- lo studio biologico verifica gli effetti di insieme prodotti realmente dal complesso delle cause inquinanti.

Per le finalità della maggior parte delle analisi sui corsi d'acqua risultano però più importanti alcune caratteristiche del secondo tipo di approccio. Infatti, poiché gli inquinamenti sono spesso temporanei e saltuari, l'indagine chimica, non potendo, se non raramente, effettuarsi in continuo, solo per caso riesce a cogliere il momento in cui l'alterazione di uno o più parametri è significativa; i danni subiti dalla comunità, in termini di riduzione della complessità, sono invece permanenti o durano il tempo necessario per consentirne il rilevamento e la valutazione.

Perciò l'analisi biologica delle acque correnti dà spesso risultati più affidabili rispetto a quella chimica e non richiede sondaggi frequenti.

Varie metodiche di analisi biologica dell'ambiente negli ultimi tempi si vanno affermando nella comunità scientifica, e sempre più sono in uso in ogni paese (indicatori biologici, come licheni, lieviti e vari vegetali che accumulano al loro interno le sostanze tossiche, sono ormai adoperati nel rilevamento dell'inquinamento atmosferico). Nel campo dello studio dei corsi d'acqua sono state elaborate metodiche intese ad esprimere un indice di qualità biologica delle acque fluviali (indici biotici), molte delle quali si sono rivelate inadeguate o per difficoltà pratiche di impiego o perché di non generale applicabilità.

Tra le principali puo' essere citata :

- ◆ ·analisi delle comunità di macroinvertebrati bentonici, in modo da determinare i cosiddetti indici biotici estesi che, attraverso una scala di qualità, indicano la "salute" biologica dei corsi d'acqua; sono sicuramente le metodiche di analisi biologica più diffuse e sperimentate scientificamente, e, valutata la loro piena rispondenza al tipo e alle finalità dell'analisi

I Macroinvertebrati

Tra le varie componenti della comunità vivente di una zona umida ad acque correnti, quella che, attraverso l'analisi delle sue popolazioni, si presta maggiormente a fornire valutazioni sulla qualità biologica delle acque di quell'ambiente è rappresentata dagli organismi bentonici, cioè quei piccoli animali che vivono, fissi o comunque strettamente dipendenti dal substrato, in ogni corso d'acqua.

Essi sono tutti degli invertebrati, detti più precisamente "macroinvertebrati", di dimensioni superiori al millimetro quindi visibili ad occhio nudo o con lenti a basso ingrandimento, dal momento che nei campionamenti per ragioni tecniche vengono trascurati quelli di taglia inferiore (i "microinvertebrati", tra cui vi sono Protozoi, Rotiferi, Nematodi, etc.).

Vivono almeno una parte della loro vita, spesso solo le fasi larvali o pre-immaginali (che precedono la metamorfosi definitiva in adulto) sui diversi substrati disponibili nei corsi d'acqua, ed hanno sviluppato meccanismi di adattamento per resistere alla corrente; infatti alcuni vivono anche in quel sottilissimo strato di acqua a velocità pressoché nulla che, anche nei più impetuosi torrenti montani, si realizza a contatto con i ciottoli e i massi del fondale.

Le variazioni di molte caratteristiche di un ambiente fluviale (velocità della corrente, turbolenza e trasparenza dell'acqua, substrato, portata, temperatura, ossigenazione, nutrienti disciolti, etc.) causate da sbarramenti, cascatelle, immissioni di affluenti, arginature, diverse litologie del substrato, restringimenti dell'alveo, versamenti di scarichi inquinanti, etc., determinano l'esistenza, lungo il profilo longitudinale e la sezione trasversale del corso d'acqua, di diversi microhabitats; ognuno di questi è colonizzato da comunità di macroinvertebrati, variabili in struttura e composizione, per mezzo di diversi meccanismi morfologici, fisiologici e comportamentali.

I principali adattamenti sviluppati sono : un generale appiattimento del corpo ; la forma idrodinamica, spesso affusolata, con carenature e riduzione delle strutture sporgenti ; formazione di ventose, cuscinetti adesivi, uncini, unghie rinforzate, secrezioni filamentose e appiccicose, zavorre ; ricerca di ambienti protetti (sotto i sassi e tra i loro interstizi, fra la vegetazione, nel limo).

Questi macroinvertebrati acquatici, (vedi anche tab. 9-2), con funzioni di indicatori biologici appartengono principalmente ai seguenti gruppi sistematici :

Plecopteri : insetti acquatici negli stadi pre-immaginali e terrestri allo stadio adulto, pessimi volatori con esoscheletro poco consistente e di medie dimensioni (10-25 mm); le larve detritivore e/o erbivore, abbastanza simili agli adulti, sono assai sensibili all'inquinamento ed esigono acque fredde e ben ossigenate (ed infatti sono frequenti solo nei torrenti pedemontani e montani) .

Efemerotteri : detti volgarmente "effimere" in virtù della brevità della loro vita immaginale alata e terrestre (in genere di poche ore), presentano ninfe acquatiche prevalentemente predatrici che vivono anche svariati anni; hanno lunghe antenne, grandi occhi composti ed un corpo appiattito idrodinamico le specie deambulatorie, più adattato allo scavo quelle che si incuneano tra i detriti ed il limo. Prediligono acque veloci e poco inquinate.

Tricotteri : insetti con ciclo vitale in genere annuale, superano la stagione invernale allo stadio di pupe e larve, che sono acquatiche; perlopiù queste costruiscono degli astucci cilindrici in cui si rifugiano utilizzando una loro secrezione sericea adesiva che cementa granuli di sabbia, ghiaia o frammenti vegetali dispartiti a seconda dei materiali che sono a disposizione nell'ambiente. Protette dagli astucci, estroflettendo solamente il torace e la testa deambolano precariamente sul fondale dove si cibano di residui organici; le varie specie presentano differenti adattabilità ecologiche e resistenze all'inquinamento (da una elevata sensibilità a una buona resistenza) e sono perciò molto utili nella determinazione della qualità ambientale.

Eterotteri : Insetti che trascorrono tutto il ciclo vitale nell'ambiente acquatico, prediligendo acque debolmente correnti o ferme; la loro metamorfosi è graduale e le forme larvali sono assai simili agli adulti nella forma attera (cioè senza ali). Hanno regime alimentare carnivoro (perforano ed aspirano i materiali delle prede con il loro particolare apparato boccale) od onnivoro e, in base agli adattamenti morfo-fisiologici, vengono distinti in Gerromorfi, che vivono sulla superficie dell'acqua sfruttando la tensione superficiale, e Nepomorfi, che vivono sott'acqua utilizzando vari sistemi per respirare l'ossigeno atmosferico (lungi sifoni sporti in superficie, riserve d'aria immagazzinate in bolle trattenute sotto l'addome, etc.).

Odonati : gli adulti sono le conosciute libellule (eccellenti predatrici aeree), le larve sono sempre acquatiche, a volte con numerosissimi stadi di sviluppo; sono carnivore (grandi predatrici di altri insetti, piccoli crostacei, girini ed avannotti), dotate di robuste mandibole dentate e di un labbro inferiore modificato in efficiente organo raptatorio e cacciano con appostamenti. Perlopiù di discrete dimensioni (fino a 6-7 cm), prediligono acque non troppo veloci e scarsamente inquinate.

Ditteri : tutte le specie hanno fasi aeree degli adulti e parecchie presentano larve e pupe acquatiche, che colonizzano, grazie soprattutto a diversi adattamenti respiratori, una grande varietà di ambienti, a volte in numero enorme; alcune sono tra i più resistenti macroinvertebrati d'acqua dolce, rinvenibili anche nelle zone più inquinate, eutrofizzate ed anossiche. Data la loro ampiezza sistematica, coprono tutti i ruoli di detritivori, erbivori e carnivori e sono spesso presenti ovunque vi sia una piccola quantità d'acqua, anche minima.

Coleotteri : insetti con poche specie parzialmente o completamente acquatiche sia allo stadio larvale che a quello adulto, prediligono le acque poco profonde e a lento corso; alcuni (i Gyrinidae) vivono sulla superficie dell'acqua. Gli adulti, con sistema respiratorio tracheale, devono periodicamente rinnovare le proprie riserve d'aria immagazzinata con metodi diversi; hanno regimi alimentari ed esigenze ecologiche molto vari.

Molluschi Gasteropodi : come tutti i molluschi sono prevalentemente acquatici, la maggior parte marini ma diversi anche dulciacquicoli, tra i quali si annoverano le famiglie che interessa determinare nei rilevamenti di qualità fluviale. Possiedono una sorta di polmone vascolarizzato, conchiglia asimmetrica avvolta a spirale, in genere di piccole dimensioni, e si rinvencono numerosi nei grossi corsi d'acqua a corrente lenta e scarso inquinamento; pochi generi invece frequentano torrenti bene ossigenati e con ridotte alterazioni ambientali (es. Ancylus).

Molluschi Bivalvi o Lamellibranchi : come indicano i nomi, possiedono una conchiglia formata da due parti o valve e delle branchie ad aspetto lamellare; alcuni si sono adattati ai corsi d'acqua corrente non inquinati e alcalini. Sono erbivori e detritivori, di piccole dimensioni e vivono perlopiù sui fondali sciolti con sedimenti a granulometria fine entro i quali possono affossarsi.

Crostacei : classe di organismi generalmente legati agli ambienti acquatici, alcuni a quelli fluviali nostrani. I principali sono : il genere Gammarus, dal corpo appiattito lateralmente, inarcato e privo di carapace, dimensioni 1-2 cm, di acque a bassa quota, nuotatori, detritivori, abbastanza resistenti all'inquinamento; la famiglia Asellidae, con corpo appiattito dorso-ventralmente di 1 cm circa ed esigenze ecologiche simili ai precedenti, sopportano discretamente le alterazioni inquinanti. Si cita inoltre, anche se di norma estraneo alle catture nei campionamenti per l'E.B.I., l'Austropotamobius pallipes, un crostaceo di dimensioni decisamente superiori (fino a 12-14 cm), che invece esige acque limpide, ben ossigenate ed è molto sensibile all'inquinamento e al disturbo antropico; unica specie italiana di gambero d'acqua dolce, è in progressiva diminuzione a causa dell'incalzante degrado degli ambienti fluviali.

Oligocheti : sono i classici vermi dal corpo segmentato, perlopiù detritivori, che vivono nei fondali a granulometria fine o limosa; tollerano elevati livelli di inquinamento, soprattutto organico, come la famiglia Tubificidae, per questo motivo importante indicatrice ambientale.

Tricladi : comunemente detti "planarie", sono organismi mobili e contrattili, dal corpo appiattito ed allungato, parassiti di altri invertebrati; strisciano sui fondali rifugiandosi tra i detriti nelle ore di luce e prediligono acque poco inquinate.

Irudinei : più conosciuti come "sanguisughe", parassitano molti altri invertebrati ed anche pesci, anfibi e vertebrati superiori; sono dotati di ventose, poste alle due estremità del corpo, con le quali si attaccano fortemente al substrato e si spostano, inarcando il corpo molle. Appartengono a varie famiglie, tutte con un'elevata resistenza all'inquinamento.

I macroinvertebrati presentano quindi nel complesso molte caratteristiche ecologiche che ne fanno degli ottimi bioindicatori :

- data la ricchezza di detrito (particelle di materiale organico non più vivo, di origine vegetale ed animale) che si accumula sul fondale dei corsi d'acqua, sono gli organismi con la maggiore varietà di forme e una buona diversificazione degli adattamenti alimentari (oltre ai detritivori e/o erbivori vi sono anche i carnivori che predano altri piccoli esseri viventi) ;
- avendo una scarsa mobilità subiscono più direttamente e senza possibilità di fuga gli effetti di un'eventuale alterazione dell'ambiente, a differenza, ad esempio, della maggior parte dei pesci, che, dotati di sensibilissimi recettori chimici, avvertita la presenza nell'acqua di dosi anche minime di inquinanti possono sottrarsi alla loro azione risalendo a monte della fonte di emissione di un inquinamento temporaneo e saltuario (per tale motivo quindi non possono essere considerati sicuri indicatori ecologici) ;
- occupano un ruolo fondamentale ai primi livelli trofici della catena alimentare fluviale, costituendo l'ingrediente base nella dieta di molti pesci (rivestono perciò anche un'importanza economica) ;
- presentano cicli vitali raramente più brevi di un anno, quindi la loro presenza nel corso d'acqua è stabile e continua (se non intervengono alterazioni ...) ;
- sono più facilmente campionabili di altri gruppi ;
- la maggior parte delle specie è di agevole riconoscimento e classificazione ;
- si conosce approfonditamente l'ecologia di numerose specie ;
- reagiscono con diversa sensibilità alle variazioni dei fattori ecologici ;
- numerose specie sono assai sensibili all'inquinamento e vi reagiscono prontamente, risultando quindi adatte a riflettere con immediatezza la qualità delle acque e del sedimento .

Il Metodo E.B.I.

Il metodo che esprime un indice di qualità biologica delle acque fluviali utilizzando come bioindicatori i macroinvertebrati e le loro caratteristiche sopra illustrate, è l' "Extended Biotic Index (E.B.I.)" cioè l'Indice Biotico Esteso, messo a punto in Inghilterra e successivamente verificato con successo in diversi paesi della CEE tra cui il nostro, dove è stato introdotto ed adeguato alla situazione italiana da Ghetti (GHETTI, 1981 e 1986). Tra tutti i metodi elaborati nel campo dell'idrobiologia si è rivelato di pratico impiego, di generale applicabilità, sintetico, relativamente veloce ed economico, ed è ritenuto il più adatto a valutare e rappresentare, con buona sensibilità, le variazioni e il degrado di un corpo d'acqua corrente indotti dall'inquinamento, in funzione di progetti di risanamento o verifiche della qualità.

In pratica lo studio della composizione dei popolamenti di macroinvertebrati bentonici di un torrente o di un fiume è un esperimento "in campo", dove la scomparsa di alcune specie, le più esigenti, e l'incremento di altre, più tolleranti, rappresenta un segnale delle mutate condizioni ambientali e può fornire valutazioni sulla qualità delle acque. Per la sua applicazione si richiede ai tecnici una buona esperienza nel campo delle analisi territoriali sugli ecosistemi fluviali e nella frequentazione dei corsi d'acqua, nonché conoscenze approfondite nel settore della sistematica degli invertebrati.

La metodologia di applicazione dell'E.B.I. prevede normalmente la programmazione delle campagne di analisi tenendo conto delle diverse condizioni stagionali ed individuando delle "stazioni di campionamento", cioè delle sezioni lungo il corso d'acqua che, in base ad accurate valutazioni preliminari, si ritiene siano significative nel fornire indicazioni sulla qualità del reticolo e del bacino idrografico che si vuole indagare.

Nei siti preventivamente individuati si cattura il maggior numero di macroinvertebrati utilizzando un retino immanicato, costituito da un telaio squadrato a cui è fissata una rete di forma conica, in monofilo di nylon a 21 maglie/centimetro, con al fondo un raccogliatore svitabile nel quale vengono raccolti gli organismi; un manico rigido permette di spostarlo agevolmente in profondità in più punti.

Disponendo l'imboccatura controcorrente con il lato inferiore del telaio ben aderente al fondale, con la mano e i piedi si sollevano le pietre e si rimasta il fondo sabbioso o limoso immediatamente a monte, in modo che gli organismi distaccati vengano trasportati dalla corrente nella rete.

Le pietre, prima di essere rimesse a posto, vanno esaminate attentamente in modo da rimuovere, sempre con le mani, gli organismi rimasti attaccati ed aggiungerli al campione. Questa procedura dovrebbe essere ripetuta in punti diversi del sito di campionamento in modo da raggiungere la ragionevole certezza di averne esplorato tutti i principali microhabitats (rive, parte centrale dell'alveo, ciottoli, sabbia, limo, etc.). Terminata la fase di raccolta, si svita il contenitore al fondo del retino, si setaccia il materiale lì depositatosi in modo da rimuovere il limo o i detriti e si separano gli organismi catturati; questi vengono quindi classificati secondo un livello di determinazione sistematica stabilito sperimentalmente (genere o famiglia, evitando così di dover arrivare all'individuazione della specie, spesso impossibile senza l'ausilio di esperti studiosi specialisti di questi gruppi animali) indicato come Unità Sistematica (U.S.) e rigorosamente definito per i vari gruppi

In base al numero delle Unità Sistematiche determinate alle quali appartengono i diversi macroinvertebrati raccolti, si procede alla determinazione dell'Indice Biotico Esteso utilizzando una tabella a doppia entrata appositamente predisposta che calcola i valori dell'E.B.I. traducendo numericamente due presupposti fondamentali sui quali si basa il metodo E.B.I., cioè che i macroinvertebrati, a seconda del gruppo di appartenenza, presentano una diversa sensibilità all'inquinamento e che la "qualità" di un corso d'acqua è direttamente proporzionale al numero di specie animali che vi vivono (quindi tanto più alta risulta la biodiversità tanto minori saranno le alterazioni recenti subite dall'ambiente esterno).

I taxa chiave, in ordine di sensibilità decrescente all'inquinamento, sono: Plecotteri, Efemerotteri, Tricotteri, Gammarus, Asellus e Tubificidi.

Le modalità di impiego della tabella E.B.I. prevedono una prima entrata che, in base al tipo e alla quantità di taxa (o Unità Sistematiche) più sensibili all'inquinamento presenti nella comunità della stazione in esame, determina la riga orizzontale alla quale bisogna poi incrociare la colonna verticale, individuata dalla seconda entrata, indicativa del numero totale di U.S. presenti nella stessa biocenosi; a questo punto il valore della casella all'incrocio delle due entrate corrisponderà automaticamente alla determinazione dell'Indice Biotico.

I valori così ottenuti appartengono ad una scala che va da un minimo di 0 (indicativo di un ambiente pessimo) a 15 (ottimo); i giudizi sono in questo modo ben differenziati per ogni tipo di situazione, anche se in modo forse ancora troppo tecnico.

Per una formulazione di più facile comprensione e di più semplice interpretazione pratica, i punteggi calcolati con il metodo E.B.I. sono direttamente traducibili in cinque classi che esprimono la qualità biologica delle acque, ciascuna a sua volta associata, per l'immediata visualizzazione sulle cartografie di sintesi, ad una colorazione convenzionale corrispondente; i valori intermedi fra due classi vanno rappresentati graficamente mediante tratti alternati o retinature dei due colori corrispondenti.

La scala cromatica rappresenta il progressivo allontanamento da una qualità accettabile dell'ambiente (azzurro) e il corrispondente avvicinamento alla condizione di massimo degrado (rosso).

Durante ciascun campionamento viene compilata una scheda sulla quale si annota una serie di dati utili alla caratterizzazione dell'ambiente circostante. Sul posto si effettua una prima determinazione degli organismi catturati e si stima un indice E.B.I. preliminare; in questo modo si può valutare la presenza eventuale di situazioni anomale che potrebbero richiedere un immediato supplemento di indagini. Successivamente, in laboratorio, si procede alla classificazione precisa (con l'ausilio di un microscopio a basso numero di ingrandimenti) ed alla redazione della scheda finale dove, oltre all'indice E.B.I., viene riportata anche la classe di qualità. Se si hanno delle serie sufficienti di dati si può inoltre realizzare una cartografia del reticolo idrografico che si è analizzato in cui, per mezzo delle colorazioni corrispondenti, si visualizza sinteticamente il risultato di tutte le analisi di qualità biologica delle acque.

CONCLUSIONE

In conclusione il controllo biologico della qualità delle acque correnti, basato sull'analisi dei popolamenti di macroinvertebrati, è in grado di rispondere alle seguenti esigenze :

- fornire un giudizio sulla qualità complessiva dell'ambiente, stimando l'impatto che le diverse cause d'alterazione determinano sulle comunità che colonizzano le diverse zone del corso d'acqua ;
- esprimere un giudizio complementare al controllo fisico e chimico, che individua analiticamente le singole cause e la dinamica del processo di alterazione delle acque e dei sedimenti (stima del rischio ambientale), valutando gli effetti d'insieme prodotti dal complesso delle cause inquinanti (analisi degli effetti reali) ;
- individuare e quantificare gli effetti prodotti da scarichi saltuari o accidentali, non rilevabili con altri metodi in periodi successivi ai rilasci ;
- suddividere le acque in classi di qualità, lungo il profilo longitudinale, in modo da ottenere un quadro d'insieme utile sia alla programmazione degli interventi risanatori, sia ad una corretta pianificazione del sistema di monitoraggio fisico, chimico e igienistico ;
- valutare la capacità autodepurativa in tratti soggetti a carichi inquinanti continui o temporanei.

Calcolo del valore di I.B.E. (Ghetti 1997).

Gruppi faunistici che determinano con la loro presenza l'ingresso orizzontale in tabella (primo ingresso)		Numero totale delle Unità Sistematiche costituenti la comunità (secondo ingresso)								
		0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-...
Plecotteri presenti (<i>Leuctra</i> ^o)	Più di una sola U.S.	-	-	8	9	10	11	12	13*	14*
	Una sola U.S.	-	-	7	8	9	10	11	12	13*
Efemerotteri presenti (tranne fam. Baetidae, Caenidae ^{oo})	Più di una sola U.S.	-	-	7	8	9	10	11	12	-
Tricotteri presenti (ed inoltre fam. Baetidae, Caenidae)	Una sola U.S.	-	-	6	7	8	9	10	11	-
	Più di una sola U.S.	-	5	6	7	8	9	10	11	-
Gammaridi, Atidi e Palemonidi presenti	Una sola U.S.	-	4	5	6	7	8	9	10	-
	Tutte le U.S. sopra assenti	-	4	5	6	7	8	9	10	-
Asellidi presenti	Tutte le U.S. sopra assenti	-	3	4	5	6	7	8	9	-
Oligocheti e Chironomidi	Tutte le U.S. sopra assenti	1	2	3	4	5	-	-	-	-
Tutti i taxa precedenti assenti	Possono esserci organismi a respirazione aerea	0	1	-	-	-	-	-	-	-

^o: nelle comunità in cui *Leuctra* è presente come unico taxon di plecoteri e sono contemporaneamente assenti gli efemerotteri (tranne BAETIDAE e CAENIDAE), *Leuctra* deve essere considerata a livello dei tricoteri al fine dell'entrata orizzontale in tabella;

^{oo}: nelle comunità in cui sono assenti i plecoteri (tranne eventualmente *Leuctra*) e fra gli efemerotteri sono presenti solo BAETIDAE e CAENIDAE l'ingresso orizzontale avviene a livello dei tricoteri;

-: giudizio dubbio per errore di campionamento, per presenza di organismi di drift, erroneamente considerati nel computo, per ambiente non colonizzato adeguatamente, per tipologie non valutabili con l'I.B.E. (se acque di scioglimento di nevai, acque ferme, zone deltizie, zone salmastre);

*: questi valori di indice vengono raggiunti raramente nelle acque correnti italiane. Si tratta in genere di ambienti ad elevata diversità ma occorre evitare la somma di biotipologie (incremento artificioso della ricchezza in taxa).

Limiti obbligati per la definizione delle Unità sistematiche (U.S.).

GRUPPI FAUNISTICI	LIVELLI DI DETERMINAZIONE TASSONOMICA PER LA DEFINIZIONE DELLE "UNITÀ SISTEMATICHE"
PLECOTTERI	Genere
TRICOTTERI	Famiglia
EFEMEROTTERI	Genere
COLEOTTERI	Famiglia
ODONATI	Genere
DITTERI	Famiglia
ETEROTTERI	Famiglia
CROSTACEI	Famiglia
GASTEROPODI	Famiglia
BIVALVI	Famiglia
TRICLADI	Genere
IRUDINEI	Genere
OLIGOCHETI	Famiglia
Altri gruppi più rari	
MEGALOTTERI	Famiglia
PLANIPENNI	Famiglia
NEMATOMORFI	Famiglia
NEMERTINI	Genere

Criteria di conversione dei valori di I.B.E. in classi di qualità.

Classi di qualità	Valore di I.B.E.	Giudizio	Colore di riferimento
Classe I	10-11-12	Ambiente non inquinato o non alterato in modo sensibile	AZZURRO
Classe II	8-9	Ambiente in cui sono evidenti alcuni effetti dell'inquinamento	VERDE
Classe III	6-7	Ambiente inquinato	GIALLO
Classe IV	4-5	Ambiente molto inquinato	ARANCIONE
Classe V	1-2-3	Ambiente fortemente inquinato	ROSSO

Indagine microbiologica

I parametri microbiologici ricercati nella nostra indagine sono l'*Escherichia coli* che corrisponde ad una specie tassonomicamente definita e a sua volta compresa nel più ampio gruppo dei coliformi.

La concentrazione nelle acque superficiali è in relazione al quantitativo di scarichi fognari riversati e alla capacità autodepurativa del corpo idrico; rappresenta un indubbio indice di contaminazione fecale diretto o indiretto di derivazione umana o animale.

Per la poca resistenza all'ambiente esterno, tende a scomparire rapidamente nelle acque, pertanto la sua presenza è indice di contaminazione recente.

La sua ricerca consente una diagnosi presuntiva però largamente sufficiente, in relazione ad altri parametri, per dare un quadro della qualità del corpo idrico.

I metodi ed i materiali utilizzati nella individuazione e valutazione quantitativa dei microrganismi ricercati sono quelli indicati nelle metodiche ufficiali.

Campionamento

I campioni sono stati prelevati direttamente dai corpi idrici mediante contenitori sterili da 500 ml; etichettati riportando la data e l'ora del prelievo nonché la stazione di campionamento.

I campioni raccolti sono stati mantenuti in idonee condizioni igieniche e di refrigerazione (da + 4 a +10° C) in appositi contenitori termoisolanti raffreddati, fino all'arrivo in laboratorio e quindi sottoposti subito all'analisi.

Analisi

La tecnica analitica utilizzata per la determinazione del parametro ricercato è quella delle membrane filtranti (MF).

Tale procedura consente di ottenere risultati in tempi brevi e di contare le Unità Formanti Colonia (UFC) dei batteri considerati direttamente sulla superficie della membrana in piastra Petri, contenente terreno di coltura selettivo agarizzato.

L'esame, per ciascun campione è condotto in triplo, effettuando pertanto la filtrazione di 3 aliquote diverse del campione. Il risultato finale è dato dalla media aritmetica del numero di colonie blu fluorescenti all'ultravioletto (tramite lampada di Wood) contate su ciascuna membrana, riportando il valore numerico ottenuto al volume di 100 ml (UFC/100 ml).

Si utilizza un terreno di coltura in forma disidratata, acquistato dalla ditta Biolife Italiana

Il terreno viene reidratato in condizioni di sterilità in laboratorio, seguendo le indicazioni dell'azienda produttrice. Successivamente, è versato in capsule Petri sterili ($\varnothing 60$ mm) ed ivi conservato in frigorifero fino all'utilizzo, per un periodo non superiore ai sette giorni.

Le membrane utilizzate per la filtrazione, in nitrato di cellulosa ($\varnothing 47$ mm - porosità $0,45 \mu\text{m}$), sono state acquistate presso la ditta Sartorius AG.

Indagine chimica e chimico fisica

I parametri di indagine rilevati nel corso dell'indagine sono riportati ed illustrati di seguito.

pH

La misura del pH rappresenta la valutazione dell'attività degli ioni idrogeno e quindi il grado di acidità all'interno di un ecosistema.

Nelle acque superficiali il pH è regolato dall'equilibrio tra i vari sistemi tampone presenti, fra cui il più importante è il tampone carbonatico

L'attività fotosintetica porta all'aumento del pH, mentre la presenza di sostanze riducenti ne provoca la diminuzione; scarichi industriali e forti attività microbiche sono fattori che influenzano decisamente il pH.

Gli organismi presenti nelle acque superficiali hanno un intervallo ottimale di pH per la vita diverso per le varie specie presenti, ma compreso comunque in un intervallo da 6.6 a 9 unità .

Valori più alti o più bassi provocano serie ripercussioni a tutti i livelli della vita acquatica. Mentre i valori limite di emissione in acque superficiali e in fognatura secondo il D. Lgs. 152/1999 devono essere compresi nell'intervallo 5,5 - 9,5.

Un elevato abbassamento del pH innesca un meccanismo indiretto che porta ad un aumento della tossicità nell'ambiente fluviale, dovuto alla solubilizzazione dei metalli pesanti, alla riduzione delle basi deboli e allo spostamento degli equilibri presenti verso la formazioni di acidi.

Conducibilità

La conducibilità elettrica o elettrolitica (o conduttanza) fornisce una misura globale della concentrazione di tutte le specie ioniche presenti in un corso d'acqua (compresi grado salino e durezza).

Costituisce un buon indicatore del grado di mineralizzazione di un'acqua, in genere il suo valore cresce progressivamente da monte verso valle.

La conducibilità elettrica specifica si definisce come l'inverso della resistenza (in ohm) misurata tra le facce opposte di un cubo della soluzione acquosa in esame, avente il lato di 1 cm.

Questa misura, per compensazione diretta dello strumento di misura, è normalizzata alla temperatura standard di 20 °C ed espressa in $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Ossigeno disciolto e ossigeno in saturazione

L'Ossigeno è il fattore essenziale per la vita di un corso d'acqua e per eventuali usi potabili che ne potrebbero derivare.

Una concentrazione insufficiente provoca condizioni di anossia con ambiente molto riducente, e quindi processi di decomposizione anaerobica delle sostanze organiche, sviluppo di gas maleodoranti, moria di pesci, sconvolgimento di tutto l'ambiente fluviale con l'instaurazione di condizioni igieniche pericolose.

La quantità di ossigeno disciolto presente nell'acqua è il risultato dell'equilibrio fra ossigeno fotosintetico prodotto e ossigeno consumato dalla fauna e dalla flora acquatica per la vita.

La concentrazione di questo è regolata inoltre dagli equilibri di diffusione fra aria e acqua, influenzati dalla pressione atmosferica, dalla profondità del corso d'acqua e dalla sua turbolenza, dagli apporti degli affluenti e degli scarichi, dall'altitudine e dalla salinità.

Inoltre la diffusione di ossigeno dall'aria, diminuisce con l'aumentare della temperatura.

Il D.Lgs. 152/99 - Allegato 2 - esprime come valori minimi imperativi:

9 mg/l per le acque salmonicole

7 mg/l per le acque ciprinicole.

La percentuale di ossigeno a saturazione esprime il tenore di ossigeno come percentuale della sua solubilità massima (o saturazione) nelle condizioni (di temperatura) registrate al momento della misura; quindi come rapporto percentuale tra la concentrazione dell'ossigeno disciolto determinata e la concentrazione di saturazione a quella specifica temperatura e pressione costante di 760 mm Hg. Per pressioni atmosferiche diverse, la concentrazione di saturazione varia.

Temperatura acqua - aria

Ogni organismo ha un suo range di tolleranza termica all'interno del quale avvengono tutti i processi per la vita. I corpi idrici possono essere soggetti ad inquinamento termico derivante dagli scarichi di particolari industrie o dalle acque di raffreddamento di centrali termiche.

La variazione di temperatura all'interno di un corpo idrico, come conseguenza dell'inquinamento termico, soprattutto se in tempi brevi, provoca una minore resistenza nei vari organismi con diminuzione della capacità di sopravvivenza e di riproduzione.

L'aumento di temperatura diminuisce la solubilità nell'acqua dell'ossigeno e potenzia gli effetti di eventuali sostanze tossiche presenti.

Durezza totale

Per durezza di un'acqua s'intende la quantità di cationi multivalenti in essa contenuti; poiché i cationi multivalenti presenti in quantità rilevante sono generalmente ioni Ca^{++} e Mg^{++} , la durezza totale può essere espressa come somma delle concentrazioni calciche e magnesiache e varia in genere da 1 a 150 gradi francesi ($^{\circ}\text{F}$).

Il tenore di sali di calcio e magnesio dipende molto dalla natura dei terreni e dalla composizione delle rocce (calcaree o sedimentarie) attraversati dal corso d'acqua.

Un aumento della presenza di acidi deboli come conseguenza dell'ossidazione di materiale organico, nell'equilibrio carbonato/bicarbonato, aumenta la solubilità del carbonato nell'acqua e quindi il valore della durezza totale.

La durezza totale è espressa come mg/l di CaCO_3 oppure in gradi francesi $^{\circ}\text{F}$

$$1^{\circ}\text{F} = 10 \text{ mg/l } \text{CaCO}_3 .$$

Solidi sospesi totali

Con questo termine s'intendono tutte le sostanze che non sono disciolte ma sospese e disperse dalla turbolenza dell'acqua, che possono essere trattenute da una membrana filtrante di 0.45 m di porosità.

L'origine di queste particelle solide è in genere di natura inorganica sia naturale che antropica; l'eccessiva presenza, influenza negativamente la vita acquatica, e riduce le possibilità d'uso della risorsa idrica.

Il valore indicativo di solidi sospesi totali in un corso d'acqua non dovrebbe superare i 25 mg/l .

I valori limite definiti dal D.Lgs. 152/99 - Allegato 2 - sono:

60 mg/l per le acque salmonicole

80 mg/l per le acque ciprinicole.

I valori limite definiti dal D.Lgs. 152/99 - Allegato 5 per :

l'emissione in acque superficiali è di 80 mg/l.

Sostanze azotate: azoto ammoniacale, azoto nitrico, azoto nitroso

L'azoto insieme al carbonio è un costituente fondamentale della biomassa degli organismi animali e vegetali. Costituisce circa l'80% nella composizione dell'aria: entra nel ciclo terrestre attraverso l'azotofissazione e ritorna nel ciclo atmosferico attraverso i processi di denitrificazione.

Le sostanze azotate insieme con il fosforo costituiscono, all'interno di un corso d'acqua, i nutrienti delle alghe, che sono alla base di tutta la catena alimentare; un'eccessiva concentrazione di queste sostanze, in concomitanza con altri fattori, è responsabile dei fenomeni di eutrofizzazione.

In genere le sostanze azotate derivano dai residui vegetali e animali, dai concimi ed i fertilizzanti, dagli scarichi industriali e soprattutto dai civili.

L'azoto nelle acque può presentarsi in 4 forme principali:

Azoto totale

Costituente delle sostanze organiche delle molecole degli esseri viventi, l'azoto organico ossidandosi libera l'azoto che successivamente, per azione dei batteri e dell'ossigeno, sarà degradato ad azoto molecolare attraverso il passaggio in tre diversi stadi ossidativi. Questi stadi danno luogo a tre diverse forme di azoto, già comprese nella determinazione dell'azoto totale, che all'interno di un corso d'acqua saranno soggette ad equilibri dipendenti da: pH, temperatura, potenziale redox.

Il valore guida fissato dal D.Lgs. 152/99 -Allegato 2 - per l'Azoto Totale è pari a 2 mg/l;

mentre per le acque di scarico lo stesso D.Lgs. 152/99 -Allegato 5- indica una concentrazione massima accettabile in emissione di 15 mg/l di Azoto totale .

Azoto Ammoniacale (N-NH₃) e sali di ammonio

La presenza di azoto ammoniacale è minima negli ambienti acquatici con basso carico inquinante e ben ossigenati. In queste condizioni, infatti, avviene la totale ossidazione della forma ammoniacale , con la trasformazione in azoto nitrico.

Nelle acque con un elevato carico organico in decomposizione, o nelle vicinanze di uno scarico in genere si noterà un aumento della concentrazione di questo ione, dovuto ad un eccessivo consumo dell'ossigeno presente.

La presenza di azoto ammoniacale $[N-NH_3 (mg/l) = \text{ammoniaca totale} (NH_4^+) * 0.78]$ ben rappresenta la minor efficienza di ossigenazione dell'ambiente, oltre ad essere il segno evidente degli effetti prodotti da scarichi di origine prettamente metabolica; quindi un'elevata concentrazione di azoto ammoniacale è indice di un inquinamento recente.

Nell'acqua l'ammoniaca totale (NH₄⁺) può essere considerata come lo ione idrogeno derivante dalla dissociazione di un acido debole, quindi in equilibrio con la sua forma indissociata: quest'ultima è la forma ionica prevalente, ed è anche quella facilmente

assimilabile da alghe e piante acquatiche, mentre la forma dissociata è tossica per tutti gli organismi acquatici.

In un corso d'acqua la temperatura ed il pH influenzano la percentuale di ammoniaca dissociata, risulta importante pertanto, correlare questi tre parametri per meglio valutarne la gravità dell'inquinamento.

Il limite imperativo fissato dal D.Lgs. 152/99 -Allegato 2 - per l'ammoniaca totale (NH_4) è :
di 1 mg/l (corrispondente a 0.78 mg/l come N-NH_3), sia per le acque salmonicole che ciprinicole;

mentre per le acque di scarico lo stesso D.Lgs. 152/99 -Allegato 5- indica una concentrazione massima accettabile come emissione in acque superficiali di 15 mg/l di Ammoniaca totale (NH_4).

Azoto Nitrico (N- NO_3)

La forma nitrica dell'azoto (azoto organico ossidato) esprime la sua massima tossicità quando si riduce nella forma nitrosa.

Una sensibile presenza di nitrati (NO_3^-) nelle acque ($\text{NO}_3^- = 4.43 \cdot \text{N-NO}_3$), potrebbe indicare un inquinamento organico di vecchia data.

Il limite di concentrazione secondo il D.Lgs. 152/99 -Allegato 5- dell'azoto nitrico presente negli scarichi recapitanti in acque superficiali è di 20 mg/l.

Azoto nitroso (N- NO_2)

La forma nitrosa dell'azoto in un corso d'acqua è molto instabile e quindi la sua presenza deve essere valutata con cautela.

L'azoto nitroso si presenta in ambienti scarsamente ossidati ed è indice di uno stato critico di inquinamento organico: questo ione risulta essere molto tossico anche in piccole concentrazioni poiché esso ha la capacità di legarsi all'emoglobina riducendo la capacità di questa, di trasportare l'ossigeno nei tessuti dei vertebrati.

La tossicità dei nitriti (NO_2^-) aumenta in acque dure ed in presenza di cloruri ($\text{NO}_2^- = 3.29 \cdot \text{N-NO}_2^-$).

Il D.Lgs. 152/99 - Allegato 2 - stabilisce come valore massimo: 0.88 mg/l per le acque salmonicole, e 1.77 mg/l per le acque ciprinicole.

Il limite stabilito, per le acque di scarico recapitanti in acque superficiali, dallo stesso D.Lgs. 152/99 -Allegato 5 - è di 0.6 mg/l di N-NO_2 .

Fosforo totale

Per lo studio dell'eutrofizzazione dei corpi idrici, è importante ricercare oltre che i composti azotati i composti fosforati.

Il ciclo del fosforo è tipicamente sedimentario (nel terreno); il fosforo ha una origine inorganica derivante dalla solubilizzazione delle apatiti, e un'origine organica derivante dalla decomposizione della materia organica. A questo si aggiunge il fosforo derivante dai fertilizzanti chimici dilavati dai suoli coltivati per effetto delle piogge, dagli scarichi civili (di origine metabolica e dai detersivi), dagli scarichi industriali.

La tossicità del fosforo nelle acque, è data dalla sua presenza nella forma elementare. Il D.Lgs. 152/99 - Allegato 2 - per il fosforo totale (P.Tot.) definisce il suo massimo in 0.07 mg/l per le acque salmonicole, e 0.14 mg/l per le acque ciprinicole.

Negli scarichi diretti in acque superficiali, secondo lo stesso D.Lgs. 152/99 - Allegato 5 - la sua concentrazione non deve essere superiore a 10 mg/l.

Materiali e metodi

I metodi ed i materiali utilizzati per il campionamento, la conservazione e l'analisi dei parametri chimico - fisici ricercati sono conformi a quelli indicati nelle metodiche ufficiali APAT IRSA CNR alle quali si rimanda per tutti i dettagli tecnici e metodologici.

Classificazione dello Stato Ecologico (SECA)

In base a quanto riportato nell'allegato 1 al D.Lgs. N. 152/1999, lo stato di qualità ambientale dei corpi idrici superficiali è definito sulla base dello stato ecologico e dello stato chimico del corpo idrico.

Lo stato ecologico dei corpi idrici superficiali è l'espressione della complessità degli ecosistemi acquatici, e della natura fisica e chimica delle acque e dei sedimenti, delle caratteristiche del flusso idrico e della struttura fisica del corpo idrico, considerando comunque prioritario lo stato degli elementi biotici dell'ecosistema.

Per la definizione dello stato ecologico, a sua volta necessario per caratterizzare lo stato di qualità ambientale di un corpo idrico, la normativa prende in considerazione i parametri chimici e fisici di base relativi al bilancio dell'ossigeno ed allo stato trofico, e l'utilizzo dell'indice biotico esteso (I.B.E.).

La combinazione di diversi indicatori di stato, parametri chimico-fisici e microbiologici, e composizione della comunità macrobentonica delle acque correnti, consente di calcolare indici sintetici come il Livello di Inquinamento dei Macrodescrittori (LIM) e indice biotico esteso (I.B.E.) dal cui raffronto si esprime il giudizio di qualità sotto forma di Classe dello Stato Ecologico.

Calcolo del Livello di Inquinamento dei Macrodescrittori (LIM)

Il livello di qualità relativa ai Macrodescrittori viene attribuito utilizzando la tabella 7 (Tabella 1.8) e le relative linee guida dell'Allegato 1 al D.lgs. N. 152/99, si procede poi come sotto riportato:

- sull'insieme dei risultati ottenuti dalla fase analitica bisogna calcolare, per ciascuno dei parametri riportati in tabella, il 75° percentile della serie annua;
- si individua la colonna in cui ricade il risultato ottenuto e si determina così il punteggio da attribuire a ciascun parametro;
- si ripete tale operazione di calcolo per ciascun parametro della tabella e si sommano tutti i punteggi ottenuti;
- si individua il Livello di Inquinamento espresso dei Macrodescrittori (LIM) in base all'intervallo in cui ricade il valore della somma dei punteggi ottenuti dai diversi parametri, come indicato nell'ultima riga della Tabella 7.

La procedura sopra descritta è quella prevista dalla norma, sono poi stati introdotti degli accorgimenti per agevolare l'ottenimento di un corretto risultato finale:

- per il parametro OD, è stato calcolato il valore assoluto della differenza (100-O₂) per ogni misura disponibile nel periodo considerato, solo dopo questa fase è stato calcolato il 75° percentile;
- è stato utilizzato convenzionalmente, dove le misure ottenute risultassero minori al limite di rilevabilità, la metà del limite stesso.

Livello di inquinamento dei macrodescrittori ovvero tabella 7 dell'Allegato 1 al D.Lgs. 152/99.

PARAMETRO	Livello 1	Livello 2	Livello 3	Livello 4	Livello 5
100-O2 (100-OD) (%sat)	≤ 10 (**)	≤ 20	≤ 30	≤ 50	> 50
B.O.D. ₅ (O ₂ mg/l)	< 2,5	≤ 4	≤ 8	≤ 15	< 15
C.O.D. (O ₂ mg/l)	< 5	≤ 10	≤ 15	≤ 25	< 25
Azoto ammoniacale(N mg/l)	< 0,3	≤ 0,1	≤ 0,5	≤ 1,5	> 1,5
Azoto nitrico (N mg/l)	< 0,3	≤ 1,5	≤ 5,0	≤ 10	> 10
Fosforo totale (P mg/l)	< 0,07	≤ 0,15	≤ 0,3	≤ 0,6	> 0,6
Escherichia coli (UFC/1000ml)	< 100	≤ 1.000	≤ 5.000	≤ 20.000	> 20.000
Punteggio da attribuire per ogni parametro analizzato (75° percentile del periodo di rilevamento)	80	40	20	10	5
Livello di Inquinamento dei Macrodescrittori	480-560	240-475	120-235	60-115	<60

Calcolo dello Stato Ecologico (SECA)

La classificazione dello Stato Ecologico (SECA) viene effettuata incrociando il dato risultante dai macrodescrittori con il risultato dell'I.B.E., attribuendo alla stazione in esame il risultato peggiore tra quelli derivati dalle valutazioni relative ad I.B.E. e macrodescrittori.

	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	Classe 5
I.B.E.	≥ 10	8 - 9	6 - 7	4 - 5	1, 2, 3
Livello di inquinamento dei macrodescrittori	480 - 560	240 - 475	120 - 235	60 - 115	< 60

Stato ecologico dei corsi d'acqua ovvero tabella 8 dell'Allegato 1 al D.Lgs. 152/99 (si consideri il risultato peggiore tra I.B.E. e macrodescrittori).

Stato Ambientale dei corsi d'acqua (SACA)

La definizione dello Stato Ambientale dei corsi d'acqua è stata eseguita secondo la metodologia di classificazione indicata dal D.Lgs. 152/99 modificato ed integrato dal D.Lgs 258/00, bisogna incrociare il risultato dello Stato Ecologico e lo Stato Chimico determinato dalla presenza di sostanze chimiche pericolose.

La selezione dei parametri da esaminare è effettuata dall'autorità competente caso per caso, in relazione alle criticità conseguenti agli usi del territorio.

Le analisi dei parametri addizionali sono state eseguite in tutte le 22 stazioni monitorate.

Attribuzione dello Stato di qualità ambientale

Per la definizione dello Stato Ambientale dei corsi d'acqua, oltre alle risultanze dello Stato Ecologico deve essere valutato lo Stato Chimico determinato dalla presenza di sostanze chimiche pericolose, come indicato nella tabella seguente (Tabella 1.7).

Concentrazione inquinanti di cui alla Tab.1 Allegato 1 Dlgs 152/99 ↓	Stato Ecologico →	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	Classe 5
≤ Valore Soglia		elevato	buono	sufficiente	scadente	pessimo
> Valore Soglia		scadente	scadente	scadente	scadente	pessimo

Determinazione dello stato ambientale dei corsi d'acqua come previsto in Allegato 1 al D.Lgs. 152/99

I principali inquinanti chimici di più ampio significato ambientale da ricercare nella matrice acquosa sono riportati in tabella 1 Allegato 1 al D.Lgs. 152/99 (Tabella 1.8).

INORGANICI (disciolti) ⁽¹⁾

Cadmio
Cromo totale
Mercurio
Nichel
Piombo
Rame
Zinco

ORGANICI (sul tal quale)

aldrin
dieltrin
endrin
isodrin
DDT
esaclorobenzene
esaclorocicloesano
esaclorobutadiene
1,2 dicloroetano
tricloroetilene
triclorobenzene
cloroformio
tetracloruro di carbonio
percloroetilene
pentaclorofenolo

Principali inquinanti chimici da controllare nelle acque dolci superficiali.

⁽¹⁾ se è accertata l'origine naturale di sostanze inorganiche, la loro presenza non compromette l'attribuzione di una classe di qualità definita dagli altri parametri come previsto in Allegato 1 al D.Lgs. 152/99.

TEST ECOTOSSICOLOGICI

INTRODUZIONE

DEFINIZIONI E TERMINOLOGIA

TOSSICITA'

La tossicità di una sostanza è una caratteristica sia qualitativa, in quanto l'azione tossica dipende dall'interazione della struttura molecolare con le molecole biologiche, che quantitativa, in quanto l'azione tossica si manifesta solo quando si superano determinati livelli di concentrazione nell'ambiente o in alcuni organi dell'organismo

Due parametri fondamentali sono l'esposizione, cioè la quantità di sostanza disponibile ad entrare nell'organismo, e la dose, cioè la quantità di sostanza che effettivamente entra nell'organismo

Si parla di TOSSICITA' ACUTA per risposte che si manifestano in tempi relativamente brevi e di TOSSICITA' CRONICA per risposte che si rendono palesi dopo tempi prolungati

TOSSICOLOGIA AMBIENTALE

Identificazione e quantificazione dei danni sui sistemi biologici a diverso livello di organizzazione, prodotto dall'esposizione ai contaminanti ambientali

ECOTOSSICOLOGIA

Studio del destino e degli effetti dei contaminanti nell'ambiente. Letteralmente, la Tossicologia è "la scienza dei

Veleni": l'Ecotossicologia è dunque la scienza per l'ambiente

Attualmente lo studio dei veleni ambientali viene utilizzato per:

- la previsione dei possibili effetti indesiderati sull'ambiente dovuti all'immissione di una singola sostanza o di una miscela di sostanze, almeno in parte potenzialmente tossiche (effluenti)
- la verifica degli effetti indesiderati che sono avvenuti o avvengono nell'ambiente a causa dell'immissione di una singola sostanza o di una miscela di sostanze, almeno in parte potenzialmente tossiche, tenendo conto delle interazioni fisiche, chimiche e biologiche con le diverse componenti biotiche ed abiotiche, dell'ambiente stesso.

Il primo settore è essenzialmente basato sulla stima della tossicità, mentre il secondo ricorre ampiamente al monitoraggio

MISURARE LA TOSSICITA'

Trovare la massa minima che produce un effetto dannoso a carico di un sistema biologico

CONCENTRAZIONE /DOSE

La quantificazione del potenziale tossico di un inquinante per l'ambiente e per i sistemi acquatici in particolare e' un'operazione essenziale nel processo di valutazione del rischio conseguente alla sua immissione. L'obiettivo a cui si tende nel misurare la tossicita' di una sostanza e' l'individuazione della concentrazione (quantita' biodisponibile) o della dose (quantita' che penetra nell'organismo), alle quali il composto tossico e' capace di produrre uno o piu' effetti su organismi tenuti in condizioni controllate (concentrazione del composto tossico e durata dell'esposizione). Con questo criterio si puo' ricavare la LC_{50} che corrisponde alla concentrazione che provoca la morte del 50 % degli organismi utilizzati in prova dopo periodi di tempo specifici

GRUPPO DEI TRATTATI

Serie di organismi della stessa specie che vengono esposti all'azione della sostanza da testare

EFFETTO

Di varia natura: morte, immobilizzazione, variazione di peso (di tutto l'organismo o di una sua parte)

Il tipo di effetto dipende non solo dall'esposizione, ma anche dal tipo di esposizione: questa puo' essere singola (quando l'organismo e' esposto una sola volta alla sostanza potenzialmente tossica), ripetuta (piu' esposizioni in tempi successivi), o cronica (l'organismo e' costantemente sottoposto alla sostanza)

Gli effetti di una sostanza possono anche non essere immediati, ma ritardati, reversibili (l'effetto non si manifesta piu' quando cessa l'esposizione) od irreversibili (l'effetto dell'esposizione causa danni permanenti anche quando l'esposizione e' cessata).

GRADO DI TOSSICITA' DI UNA SOSTANZA

Aumento con la diminuzione della sua massa

TOSSICITA', PERICOLOSITA'

Non sono sinonimi.

Una sostanza puo' essere molto tossica, perche' una piccola massa e' in grado di danneggiare un sistema biologico, ma puo' essere poco pericolosa perche' la probabilita' che i due (tossico – sistema biologico) vengano in contatto e' trascurabile. Una sostanza puo' essere poco tossica, ma molto pericolosa dal momento che puo' alterare tutto l'ecosistema (es. il ruolo dei nutrienti nei processi di eutrofizzazione)

QUANTIFICAZIONE DEL POTENZIALE TOSSICO

Trovare la relazione tra il livello di esposizione, risposta biologica, tempo di trattamento

RELAZIONE RISPOSTA-CONCENTRAZIONE O DOSE-DURATA

Si suppone che la sostanza impiegata nel test sia la causa dell'effetto osservato. Nel corso del test deve essere verificato se a carico di tale sostanza si verificano trasformazioni chimiche

Si suppone che la risposta osservata e la sua intensita' siano in funzione della concentrazione della sostanza in esame nell'acqua in cui vengono posti gli organismi-test

Livelli di esposizione non efficaci a breve termine possono produrre danni con tempo di trattamento piu' lunghi.

CONCENTRAZIONE EFFICACE

Produrre uno o piu' effetti sugli organismi tenuti in condizioni controllate

AZIONI

Esperimenti con piu' repliche:

- Variazione della concentrazione della sostanza in esame
- Scelta dei tempi
- Lettura dei danni prodotti allo scadere dei tempi prefissati
- Curva di tossicita'
- EC_{50} (concentrazione efficace mediana)
- Quando l'effetto e' la morte allora $EC_{50} = LC_{50}$ (concentrazione letale mediana)
- Mediana indica che la risposta biologica e' pari al 50 % ; alla EC_{50} ci si aspetta la morte del 50 % dei trattati

TEMPI IN FUNZIONE DELL'ESPOSIZIONE

Esperimenti con piu' repliche:

- Gli effetti sono valutati sempre in funzione della morte degli organismi
- Si varia la concentrazione del mezzo
- La sopravvivenza si allunga con la diminuzione della concentrazione del tossico nel mezzo
- Curva di tossicita' (tempi-concentrazione)
- LT50 (Tempo di sopravvivenza mediano – complementare al tempo di letalita' mediano-)

DATI QUANTITATIVI O DI MISURA

Variano in modo continuo (es. lunghezza,peso,concentrazione)

DATI QUANTALI

Derivano da classificazioni per categoria (es. vivi e morti, maschi e femmine) variano per salti discreti e quindi in modo discontinuo

CURVE RISPOSTA/CONCENTRAZIONE A DURATA COSTANTE

- Tossicita' acuta : scelta di tempi brevi (24-96 h)
 - Tossicita' cronica : scelta di tempi lunghi (settimane,mesi)
- Gli effetti vengono valutati in termini di dati percentuali e quindi richiedono una trasformazione di tipo quantale ("tutto o nulla ")

SOGLIA DI TOSSICITA'

Dose o concentrazione alla quale o al di sotto della quale non si manifesta un danno misurabile dopo un determinato tempo prestabilito

PREMESSA

In questi ultimi anni abbiamo assistito allo sviluppo dei metodi biologici rivolti alla valutazione del rischio chimico nelle acque e ad un incremento del loro utilizzo, grazie al riconoscimento da parte della comunità scientifica che l'adozione dei criteri di qualità per le singole sostanze non è più applicabile a matrici di crescente complessività.

Il vantaggio più significativo dei metodi biologici è quello di dare una valutazione globale, e per lo più rapida, dello stato di salute di un corpo idrico nel suo complesso, tenendo conto di contaminanti non considerati nelle tabelle di legge, di quelli di difficile determinazione analitica, delle interazioni non additive tra i tossici e di quelle tra i tossici e la matrice acquosa.

I metodi biologici per la valutazione di altre tipologie di inquinamento sono entrati in uso già a partire dagli anni 60 con l'applicazione, per esempio, dei parametri microbiologici e del BOD per la valutazione dell'inquinamento civile.

Per quanto riguarda invece i microinquinanti, cioè i composti di sintesi in grado di esercitare effetti tossici sugli organismi acquatici anche a concentrazioni molto basse, non sono disponibili degli indici sintetici di contaminazione. Inizialmente il rischio legato a questi composti veniva valutato per ognuno di essi singolarmente, mediante la loro identificazione e quantificazione analitica e successivo confronto con i relativi criteri di qualità, definiti in base ai dati tossicologici disponibili, eventualmente corretti

MONITORAGGIO DI CORPI IDRICI SUPERFICIALI MEDIANTE TEST ECOTOSSICOLOGICI MULTISPECIE SU ACQUE, SEDIMENTI E MISCELA DI ENTRAMBI

In questo studio la caratterizzazione dei corsi d'acqua superficiali è stata condotta mediante saggi tossicologici sull'acqua, sui sedimenti e sulla miscela di entrambi.

Il monitoraggio di un inquinante consiste nella determinazione quali-quantitativa della sua presenza e della sua distribuzione spazio-temporale nell'ambiente.

Per il raggiungimento di tale scopo si può operare su base chimica o chimico-fisica e mediante la misura degli effetti, rappresentati dalle risposte manifestate da particolari organismi viventi sensibili alle variazioni ambientali.

I vegetali, alcuni organismi inferiori possono essere utilizzati per scopi diversi, a seconda delle loro caratteristiche, per la scoperta e l'identificazione degli effetti degli inquinanti.

In tal senso si distinguono in bioindicatori, in bioaccumulatori e in indicatori di presenza.

Tutti i campioni di acqua, sedimenti prelevati sono stati sottoposti a valutazioni tossicologiche basate su saggi di tossicità che impiegano organismi appartenenti a diversi livelli trofici: infatti, poiché generalmente sono sconosciute sia la miscela delle

sostanze tossiche presenti, che la loro tossicità, la valutazione tossicologica ha previsto una serie di saggi basati sia su specie animali che vegetali, in modo tale da aumentare la rappresentatività delle informazioni ottenute.

È dimostrato, infatti, che non esiste una specie universalmente sensibile, ma che le risposte agli inquinanti sono assai variabili tra una specie e l'altra.

Anche per i saggi biologici effettuati si è tenuto conto di quanto la cooperazione internazionale ha fatto nel campo della normalizzazione tra i metodi, per tali motivi sono state utilizzate le linee guida della Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) poiché sono le più ampiamente riconosciute in campo internazionale.

I saggi tossicologici da noi impiegati sono stati :

sulla matrice acqua:

- Test di tossicità acuta con *Vibrio fischeri* (5' -15'-30') *Daphnia magna* (24 h) m (72 h)

sulla matrice sedimenti in toto:

- Test di fitotossicità con *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus* e *Lepidium sativum* i

sulla matrice miscela di sedimenti ed acqua:

- Test di tossicità cronica con *Ceriodaphnia dubia*

I saggi utilizzati rappresentano un utile strumento per la caratterizzazione delle acque e dei sedimenti ,in linea con quanto previsto dal D.L. 152/99.

Le analisi delle caratteristiche chimico fisiche dell'acqua permettono di identificare e quantificare gli inquinanti più diffusi; tuttavia per predire il destino di un inquinante nell'ambiente occorre conoscere anche come agisce sull'ecosistema .

Indicazioni necessarie ad un'appropriata caratterizzazione della qualità ambientale, non possono prescindere dallo studio degli effetti diretti, delle interazioni e della biodisponibilità dei tossici nell'ambiente acquatico.

Poiché generalmente sono sconosciute sia la miscela delle sostanze tossiche presenti, che la loro tossicità, la valutazione del rischio per la vita acquatica deve prevedere una serie di test basati su specie sia animali, che vegetali in modo tale da aumentare la rappresentatività delle informazioni ottenute. Infatti, se estrapolazioni tra specie appartenenti alla stessa famiglia sono ragionevolmente sicure, estrapolazioni tra classi ed ordini sono molto approssimative.

E' inoltre dimostrato che non esiste una specie universalmente sensibile, ma che le risposte agli inquinanti sono quanto mai variabili tra una specie e l'altra .

Queste valutazioni suggeriscono una caratterizzazione ecotossicologica basata su saggi di tossicità che impiegano organismi appartenenti a diversi livelli trofici .

Le specie più comunemente impiegate allo scopo sono rappresentate da alghe, batteri, crostacei e pesci.

Tradizionalmente si rilevano solo gli effetti acuti, tuttavia tale valutazione non esclude che possano verificarsi effetti sub-cronici e cronici conseguenti ad una esposizione a lungo termine.

In molte situazioni infatti, la diluizione o la limitata biodisponibilità degli inquinanti ne fanno fonti di stress che perdurano nel tempo ma che raramente originano effetti di tipo acuto.

La caratterizzazione della qualità di ciascun corpo idrico è stata condotta mediante saggi tossicologici sull'acqua, sui sedimenti e sulla miscela di entrambi.

Attraverso le informazioni ricavate dall'insieme dei comparti che costituiscono gli ambienti indagati si è cercato di ottenere un quadro il più possibile completo, utile alla quantificazione della qualità ambientale.

Sulle acque, campione rappresentativo per una valutazione puntiforme atta a cogliere preva-lentemente **effetti immediati**, sono stati condotti **test di tossicità acuta con *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna***

Sui sedimenti, comparto in cui convergono i processi di concentrazione degli inquinanti organici ed inorganici, si è scelto di condurre **saggi di fitotossicità (germinazione ed allungamento radicale)con *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus* e *Lepidium sativum*.**

Nei sedimenti gli inquinanti, associati al particolato o in soluzione nell'acqua interstiziale, possono raggiungere concentrazioni superiori a quelle della colonna d'acqua sovrastante; tutto ciò evidenzia la necessità di non trascurare questo comparto

Infine sono stati condotti saggi anche **sulla miscela dei due comparti**, al fine lavorare in condizioni che cercano di riprodurre quelle naturali.

In quest'ultimo caso, esclusi preventivamente effetti di tipo acuto, si è proceduto all'esecuzione di un **saggio di tipo cronico con *Ceriodaphnia dubia*.**

MATERIALI E METODI

Raccolta campioni

I campioni costituiti dalle acque superficiali e dai sedimenti sono stati raccolti e conservati a 4°C al buio per tutto il periodo dell'utilizzo.

SAGGI BIOLOGICI UTILIZZATI

❖ Test di tossicità acuta a 24 h con *Daphnia magna*

Il test è stato condotto a 20°C su campioni di acqua tal quale con fotoperiodo di 16 ore di luce e 8 ore di buio .

Sono stati utilizzati organismi di età inferiore alle 24 h.

Alla fine della prova è stata valutata la mortalità delle dafnie espressa come percentuale di organismi immobili.

La *Daphnia magna* è un crostaceo cladocero d'acqua dolce di piccole dimensioni (non supera i 5 mm di lunghezza) con forma ovale, compressa lateralmente.

Esso è caratterizzato da una struttura bivalve saldata dorsalmente (carapace) che racchiude l'intero organismo ad eccezione del capo. Quest'ultimo presenta un singolo occhio composto, fortemente pigmentato, un ocello di minori dimensioni e due paia di antenne di cui le seconde, biramose e molto sviluppate, hanno funzione natatoria.

Gli obiettivi del metodo consentono di valutare:

- a) l'idoneità di un effluente ai fini della sua immissione in acque superficiali
- b) la EC50 e cioè la concentrazione di un prodotto o la diluizione di una soluzione che provocano in un tempo dato l'immobilizzazione del 50% degli organismi usati per il saggio, rappresentati da crostacei della specie *Daphnia magna* Strauss.

Il valore limite relativo al parametro n.51 riportato nella tabella 3 del D.L. n. 258/00 recita quanto segue: "il campione non è accettabile quando dopo 24 h il numero degli organismi immobili è uguale o maggiore del 50% del totale".

Per l'esecuzione di questo test è stato utilizzato un kit, distribuito commercialmente dalla Ecotox (Milano), il **DAPHTOXKIT F™ magna** che dà la possibilità di valutare direttamente l'effetto tossico sui neonati di *D. magna* ottenuti dalla schiusa di ephippia, strutture chitinee di resistenza entro cui sono conservate le uova.

Il kit utilizza una metodica messa a punto dal Dr Persoone e colleghi del L.A.B.R.A.P. (Laboratorio per la Ricerca Biologica Sull'Inquinamento Idrico) di Ghent (Belgio); la procedura operativa seguita è in linea con i metodi previsti dai maggiori Organismi Normativi Internazionali

L'effetto si osserva su daphnidi esposti ad ogni campione o a sua diluizione in condizioni ottimali di temperatura (20°), dopo 24 ore, confrontando il numero di organismi immobilizzati nel campione e nel controllo.

Il test di screening prevede l'allestimento di due diluizioni del campione (100% e 50%), il test definitivo viene allestito in base al risultato dello screening, con diluizioni mirate al calcolo del valore dell'EC50 che può essere determinato mediante l'analisi del probits (programma per personal computer che partendo dai risultati sperimentali, fornisce la EC50 con i relativi limiti fiduciali più una serie di informazioni sulla retta di regressione probit e sull'analisi statistica effettuata).

❖ Test di tossicità acuta a 15' con *Vibrio fischeri*

La bioluminescenza emessa da una popolazione monospecifica di batteri appartenenti alla specie *Vibrio fischeri* è stata utilizzata per un saggio a 5-15-30 minuti per la determinazione della percentuale di effetto rispetto al controllo (**Sistema Microtox: comparison test**).

I batteri marini appartenenti al genere *Vibrio fischeri*, Gram negativi, anaerobi facoltativi, hanno la proprietà di emettere luce di colore blu-verde in una ristretta banda dello spettro con un massimo a 490 nm (fenomeno di bioluminescenza).

In condizioni ambientali favorevoli tali batteri emettono luce in continuo; la luminescenza decresce invece spontaneamente in modo istantaneo o graduale nel tempo, in proporzione al tipo di sostanza con cui sono messi a contatto e alla sua tossicità.

Lo strumento MICROTOX è un fotometro, corredato di un tubo fotomoltiplicatore in grado di rilevare l'intensità luminosa emessa dai batteri. Il range di dati viene raccolto e rielaborato statisticamente dal computer a cui è collegato lo strumento al fine di determinare il valore della EC50.

Quest'ultima viene espressa come la concentrazione di campione capace di provocare una riduzione del 50% dell'intensità di luce emessa rispetto a quella fatta registrare dai batteri sospesi in una soluzione di controllo esente da tossicità.

Nel saggio con i batteri si utilizza un pool di organismi di 106 cellule, largamente rappresentativo della popolazione naturale dei batteri.

L'impiego di una popolazione, anziché di un numero limitato di organismi come avviene per il saggio con i pesci o con i crostacei, permette di ottenere una risposta più precisa, affidabile e riproducibile, superando le difficoltà legate alla elevata variabilità associata ai saggi biologici.

Il sistema si basa sulla misura della bioluminescenza del batterio della specie *Vibrio fischeri*, ceppo NRRL-B-11177, che in presenza di agenti tossici si riduce: maggiore è tale riduzione, maggiore risulta la contaminazione delle acque da sostanze tossiche.

tegumenti limitano il rifornimento di ossigeno, inizia la sintesi di proteine ed altre reazioni metaboliche, fino alla protrusione della radichetta, determinata dalla espansione cellulare, che può essere o meno accompagnata da proliferazione cellulare (mitosi) e la respirazione riprende per poi cessare quando i cotiledoni si disintegrano (dopo aver esaurito i materiali di riserva); l'ATP viene sintetizzato nelle prime 4 ore (e viene utilizzato per la sintesi proteica), poi la concentrazione si stabilizza fino all'emergenza della radichetta.

I test di germinazione ed allungamento radicale apparentemente sono stati finora sottovalutati, nonostante siano stati impiegati fin dal 1952 e già nel 1983 una intercalibrazione tra sette laboratori, utilizzando 10 diversi tossici, avesse dimostrato che questo metodo produce risultati molto riproducibili. Eppure, come per altri organismi, è noto che proprio gli stadi iniziali dello sviluppo sono i più sensibili alle alterazioni ambientali.

Infatti, i semi delle piante possono sopportare periodi prolungati di essiccamento ma, quando reidratati, vanno incontro a rapidi cambiamenti; in questa fase, diventano altamente sensibili a stress ambientali che possono influenzare i primi stadi di sviluppo.

Poiché possono essere facilmente valutati end point quali sopravvivenza, germinazione, velocità di crescita alla luce ed al buio negli stadi precoci e modalità di accrescimento in quelli successivi l'utilizzo di test di fitotossicità permette di accertare la presenza di sostanze nocive nel mezzo di coltura.

La crescita radicale, in particolare, è stata spesso utilizzata per valutare la tolleranza delle piante ai metalli ma può essere ugualmente impiegata per testare la tossicità di soluzioni contenenti composti organici o miscele complesse in effluenti.

Il saggio (IRSA,1983) è stato condotto per 72 ore al buio ed a 25 °C.

Alla fine della prova sono stati registrati il numero dei semi germinati e la lunghezza radicale; i due valori sono stati combinati in Indice di Germinazione.

❖ Test di tossicità cronica a 7 giorni con *Ceriodaphnia dubia*

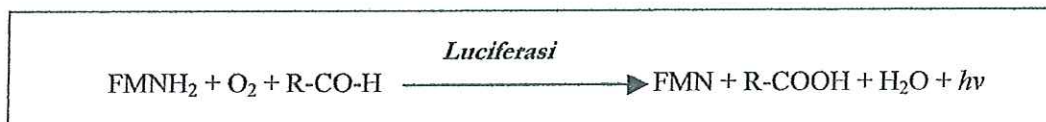
Giovani individui di *Ceriodaphnia dubia* sono stati esposti per 7 giorni ai campioni costituiti da una miscela di acqua superficiale e sedimento (1:1) alle condizioni standardizzate del metodo IRSA

Sono stati considerati tre end point:

- mortalità a lungo termine,
- accrescimento (lunghezza corporea dell'adulto a fine saggio)
- fertilità (numero di piccoli prodotto da ciascuna femmina nelle tre schiuse).

La diminuzione della bioluminescenza viene misurata attraverso l'impiego di un luminometro ed è proporzionale alla tossicità del campione.

L'enzima responsabile della naturale bioluminescenza del batterio è la luciferasi che catalizza la seguente reazione di respirazione:



L'energia per tale reazione è fornita dal consumo di ATP e NADH.

In presenza di sostanze tossiche il metabolismo del batterio è parzialmente o totalmente inibito per cui i processi di respirazione della cellula che producono ATP e NADH sono interrotti e la produzione di luciferasi è bloccata. Il batterio perde la sua naturale bioluminescenza.

Il sistema MICROTOX utilizza il batterio *Vibrio fischeri*, come reagente.

Lo strumento di lettura è un luminometro : esso è basato sulla riduzione della bioluminescenza naturale del batterio *Vibrio fischeri* in presenza di contaminanti, come indicazione di tossicità acuta.

La curva dose-risposta consente l'individuazione della EC50 (o di qualunque altra EC compresa tra 1 e 99), ossia della concentrazione del campione a cui corrisponde una riduzione della bioluminescenza pari al 50%.

❖ Test di fitotossicità a 72 h con *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus* e *Lepidium sativum*.

Il test di fitotossicità (germinazione ed allungamento radicale) è stato effettuato con tre semi, lattuga, cetriolo e crescione sui sedimenti.

I campioni sono stati utilizzati "in toto" al fine di ridurre al minimo la manipolazione.

Ogni seme deriva da un ovulo fertilizzato, dove i tegumenti dell'ovulo racchiudono un endosperma (strato monocellulare o formato da poche cellule) e l'embrione.

L'embrione è formato da una radichetta che si continua in un corto fusto (ipocotile) e in un germoglio con uno o più cotiledoni (1 nelle monocotiledoni, 2 nelle dicotiledoni, fino a circa 10 nell'gimnosperme), tra i quali c'è una piccola gemma.

Il seme è infine completato da tegumenti con funzione protettiva.

Il seme non è fotosintetizzante e quindi deve contenere prodotti di riserva.

Durante lo sviluppo, il seme generalmente si disidrata fino a contenere solo il 5-15% in peso di acqua e l'embrione entra in uno stato di dormienza.

Quando il seme viene inumidito, entro due ore completa l'assorbimento di acqua; la respirazione aumenta nelle prime 10 ore, poi segue una fase di sospensione (tra 10 e 24 ore) perché i

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

L'immobilizzazione di *Daphnia magna* a 24 ore, la riduzione della bioluminescenza di *Vibrio fischeri* a 15' e la mortalità di *Ceriodaphnia dubia* nel test cronico a 7 giorni vengono espressi come percentuale di effetto rispetto al controllo.

In base a quanto definito dalle metodiche di riferimento ed alla variabilità dei controlli (che si attesta intorno al 20%), valori che si discostano dal controllo più del 20% sono stati considerati differenti da quest'ultimo.

Per i test di fitotossicità, i due end-point valutati, germinazione ed allungamento radicale, vengono combinati in un Indice di Germinazione % :

$$IG \% = 100 (GsLs)/(GcLc)$$

Gs=germinazione campione

Gc=germinazione controllo

Ls=lunghezza campione

Lc=lunghezza controllo

Dato che la variabilità dei controlli si attesta intorno al 20%, i dati vengono suddivisi nei seguenti intervalli cui corrispondono altrettanti colori:

- >120 stimolazione (colore azzurro)
- 80-120 nessun effetto (colore verde)
- 40-80 inibizione (colore giallo)
- < 40 marcata inibizione (colore rosso)

Per l'analisi delle differenze rispetto al controllo degli end-point (accrescimento e fertilità) misurati nel test cronico a 7 giorni con *Ceriodaphnia dubia*, viene impiegato il test di Wilcoxon per dati non appaiati per $p < 0.05$.

RISULTATI

I risultati vengono presentati separatamente a seconda della matrice sulla quale sono stati eseguiti i test.

Per i dati dei saggi di tossicità acuta a 24h con *Daphnia magna* e con *Vibrio fischeri*. su tutte le stazioni controllate

Non è stata riscontrata tossicità acuta su nessuno dei due organismi test.

Per quanto riguarda i batteri bioluminescenti, si osserva sempre stimolazione che in alcuni casi supera il limite convenzionale del 20% di effetto.

Indici di germinazione ed allungamento radicale relativi alle prove di fitotossicità a 72 h con lattuga, cetriolo e crescione :

Tali indici, inseriti nelle 4 fasce convenzionalmente introdotte per rappresentare gli effetti, evidenziano parecchi casi di stimolazione per i tre semi utilizzati ed alcuni casi di inibizione .

Quasi tutti i corsi d'acqua stimolano i tre semi. Nessuno e' risultato tossico

Il seme più sensibile alla stimolazione risulta essere il cetriolo; il seme meno sensibile sia alla stimolazione, sia all'inibizione, è la lattuga.

End-point rilevati con il test di tossicità cronica a 7 giorni con *Ceriodaphnia dubia*:

Sono stati esclusi effetti di tipo acuto dal momento che gli organismi erano tutti in vita dopo 24 h di esposizione.

Per il parametro accrescimento, tutti i campioni mostrano una fertilità significativamente inferiore al controllo (Test di Wilcoxon $p < 0.05$).

DISCUSSIONE

Dall'analisi dei dati si possono fare alcune considerazioni:

Si conferma quanto già noto relativamente alle acque superficiali che, se non in casi particolari e con scarichi tossici in atto, non provocano tossicità acuta.

Nel caso delle acque qui saggiate infatti, si assiste unicamente a fenomeni di biostimolazione a carico dei batteri bioluminescenti.

Questo fenomeno si rileva sui corsi d'acqua, per problemi di variabilità di portata, si assiste ad una massiccia riduzione di acqua ed alla conseguente concentrazione di nutrienti apportati dagli scarichi civili più o meno depurati.

CONCLUSIONE

Il D.L. 152/99 individua una batteria di test di tossicità acuta e cronica con diversi organismi, da applicare a campioni acquosi e/o sedimenti per la classificazione dello stato di qualità dei corpi idrici. Questa valutazione tossicologica è in linea con quanto previsto dal decreto.

L'indagine è stata condotta volutamente a maglie molto larghe.

I risultati raccolti vanno a sostegno dell'approccio impiegato, che è stato dettato dalla volontà di unire l'utilizzo di organismi diversi con la praticità ed il basso costo di allestimento delle prove, nell'ottica di un loro impiego routinario per il controllo sistematico dei corsi d'acqua.

Infine l'impiego delle diverse matrici ha permesso di individuare che i sedimenti rappresentano il comparto più significativo per una valutazione della qualità ambientale.

Un riscontro più diversificato ed interessante si ha dall'analisi tossicologica dei sedimenti, concentratori naturali delle sostanze organiche ed inorganiche disciolte nell'acqua.

Gli Indici di Germinazione ottenuti dai tre semi impiegati mostrano un quadro differenziato di risposte tossicologiche.

Si osserva in alcuni casi biostimolazione, in altri nessuna differenza rispetto al controllo con risposte variabili a seconda dei semi e del campione in esame.

Il crescere risulta il seme più frequentemente stimolato, il cetriolo è il seme in genere meno sensibile.

Anche in questo caso la biostimolazione si può ascrivere ad eccesso di nutrienti presenti nei sedimenti, e pertanto viene considerata un indicatore di perturbazione del sistema.

Considerando i tre end point di tossicità cronica, con *Ceriodaphnia dubia*, valutata sulla miscela di acqua e sedimento, si osserva che quasi tutti gli ambienti idrici appaiono globalmente stressati.

La stimolazione che si registra in certi campioni è ascrivibile presumibilmente alla combinazione di una bassa biodisponibilità dei tossici ed aumentata disponibilità di cibo.

Questo risulta nelle situazioni in cui l'apporto di carbonio organico è generalmente di origine naturale.

E' apparsa preponderante la biostimolazione.

Questo fenomeno, che internazionalmente è noto come **Ormesi**, recentemente ha destato parecchio interesse ed il dibattito è tutt'ora aperto.

E' noto infatti come attività deboli di uno stressore possano determinare un incremento del livello metabolico).

Questo fenomeno, di per sé innocuo, è considerato da alcuni autori un segnale di incipiente tossicità.

In questo lavoro la biostimolazione non è stata valutata in maniera univoca, ma le risposte degli organismi sono state interpretate e discusse sulla base del confronto con le esperienze reperite in bibliografia.