

VALUTAZIONE INTEGRATA DELLO STATO DI SALUTE DEGLI ECOSISTEMI DEL BACINO IDROGRAFICO DEL FIUME VOLTURNO

di S. Cacioli^a, B. Gustavino^b, C. Puccinelli^c, S. Berasi^d, S. Marcheggiani^e,
F. Chiudioni^f, G. Damiani^g, L. Mancini^h.

^aDipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma - silvana.cacioli@iss.it

^bDipartimento di Biologia, Il Università degli Studi "Tor Vergata", Roma - gustavino@bio.uniroma2.it

^cDipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma - camilla.puccinelli@iss.it

^dDipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma - simona.berasi@iss.it

^eDipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma - stefania.marcheggiani@iss.it

^fDipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma - filippo.chiudioni@iss.it

^gARTA Abruzzo, Pescara - g.damiani@artaabruzzo.it

^hDipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma - laura.mancini@iss.it

Abstract - E' stata effettuata la valutazione dello stato di salute del Bacino idrografico del fiume Volturno integrando i dati ottenuti dalle analisi delle comunità macrobentoniche con quelli dei test ecotossicologici (*Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*), e genotossici (Test dei micronuclei-MN test). I tre set di indicatori utilizzati coprono intervalli diversi di informazioni e forniscono dati utili alla conoscenza dello stato ambientale dell'ecosistema in esame. I valori ottenuti dalla correlazione delle diverse componenti ambientali analizzate non mostrano linearità ma registrano situazioni ambientali compromesse a diversi livelli della catena trofica.

Keywords: Ecotossicità, mutagenesi, macrobenthos, approccio integrato.

Introduzione

La salute degli ecosistemi acquatici può essere valutata attraverso un approccio integrato che permette di ottenere una visione globale attraverso l'analisi di componenti biotiche e abiotiche del corpo idrico (Ciadamidaro *et al.*, 2012). In questo lavoro, è stata analizzata la comunità macrobentonica, determinate le principali caratteristiche chimico-fisiche ed eseguiti test di ecotossicità e mutagenesi, per valutare lo stato di salute del bacino idrografico del fiume Volturno (Mancini *et al.*, 2007). I macroinvertebrati, sono uno degli indicatori biologici richiesti dalla Direttiva Quadro 2000/60/CE, per la valutazione dello stato ecologico dei corsi d'acqua (Europa, 2000).

Il test con *Vibrio fischeri* si basa sulla misura dell'inibizione della bioluminescenza naturalmente emessa da una popolazione monospecifica di batteri, in seguito ad esposizione a campioni che potrebbero contenere sostanze tossiche, mentre il test che utilizza la *Daphnia magna*, crostaceo d'acqua dolce, si basa sulla misura della

percentuale di mortalità/immobilità degli individui [Ciceri *et al.*, 2001]. Il test dei micronuclei [Rizzoni *et al.*, 1995] è in grado di misurare gli effetti mutageni che risultano dall'interazione diretta o indiretta di agenti genotossici con il genoma delle cellule di organismi esposti. Il test è stato eseguito su un sistema vegetale (apici radicali di *Vicia faba*) dopo esposizione ai campioni di elutriato per valutare il potenziale mutageno dei possibili inquinanti in essi presenti.

Materiali e metodi

Lo studio è stato effettuato selezionando un totale di nove stazioni di campionamento: cinque sull'asta fluviale del Calore, due sul Sabato e due sull'Isclero, in direzione da monte a valle. I tre corsi d'acqua scorrono all'interno della regione Campania, tra le province di Benevento e Avellino (Figura 1).

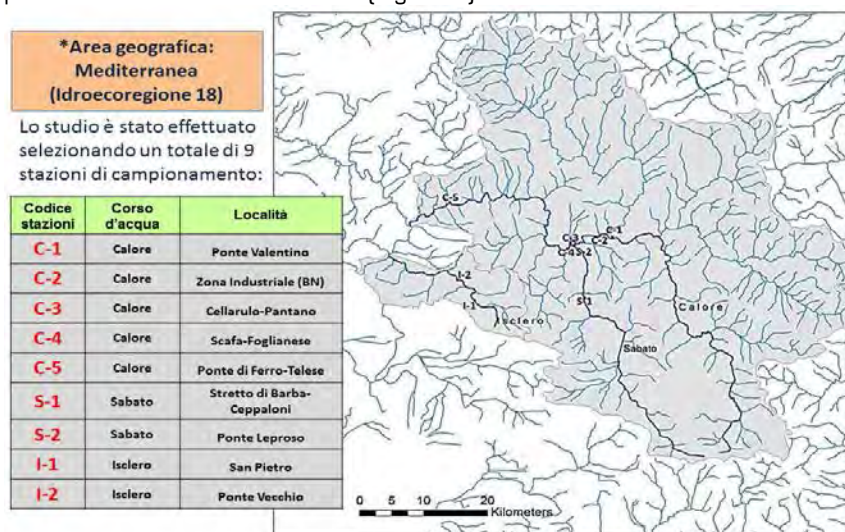


Figura 1. Reticolo idrografico dei corsi d'acqua in esame.

I parametri chimico-fisici (pH, Temperatura, Ossigeno disciolto) sono stati determinati attraverso l'utilizzo di una sonda multiparametrica.

Il campionamento dei sedimenti superficiali, effettuato nella stagione estiva, è stato praticato con una benna Heckman, strumento meccanico ampiamente utilizzato per questa tipologia di prelievi. E' stato scelto di lavorare su campioni di sedimento poiché ritenuti in grado di registrare maggiormente le variazioni ambientali, sia di origine naturale che antropica [Castelli *et al.*, 2003] al contrario dell'acqua che, scorrendo nel suo flusso naturale, risulta essere un indicatore meno accurato e più transitorio.

I campioni di sedimento sono stati trattati al fine di ottenere l'elutriato, preparato secondo la procedura EPA 503/8-91/001 (US-EPA, 1991) e utilizzato per tutte le tipologie di test eseguite.

Il campionamento e le analisi della comunità macrobentonica sono stati effettuati seguendo le norme standard italiane (ISPRA, 2007). Lo stato ecologico è stato determinato attraverso il calcolo dell'indice multimetrico STAR_ICMi [Buffagni e Erba, 2007] con l'utilizzo del sistema MacrOper [Italia, 2010].

Test di ecotossicità e mutagenesi

-Test di tossicità acuta su *Vibrio fischeri*. Il saggio si basa sull'inibizione della

luminescenza dei batteri. La quantità di luce emessa viene misurata attraverso lo strumento Microtox, collegato al software di gestione. I risultati sono espressi come inibizione % della luminescenza o come concentrazione efficace tale da indurre un'inibizione della bioluminescenza del batterio [UNI EN ISO 11348-2, 2007].

-Test di tossicità acuta su *Daphnia magna*: il saggio si basa sulla misura della percentuale di mortalità/immobilizzazione degli individui, dopo un'esposizione ai campioni per 24 e 48 ore [ISO 6341, 2012].

-Test di mutagenesi su *Vicia.faba* è considerato uno dei metodi più idonei per identificare la risposta integrata all'esposizione a miscele complesse di matrici ambientali contaminante perché rappresenta un indice del danno genetico accumulato nel tempo dall'organismo esposto. La comparsa dei micronuclei è legata sia alla perdita di frammenti cromosomici, sia alla perdita di interi cromosomi [Gustavino *et al.*, 2013]. L'analisi microscopica delle frequenze dei micronuclei è stata eseguita in cellule proliferanti di apici radicali esposti alle matrici ambientali per 24 e 72 ore, esaminando 2.000 cellule per apice per un totale di 10 apici radicali per punto sperimentale.

Risultati e Discussioni

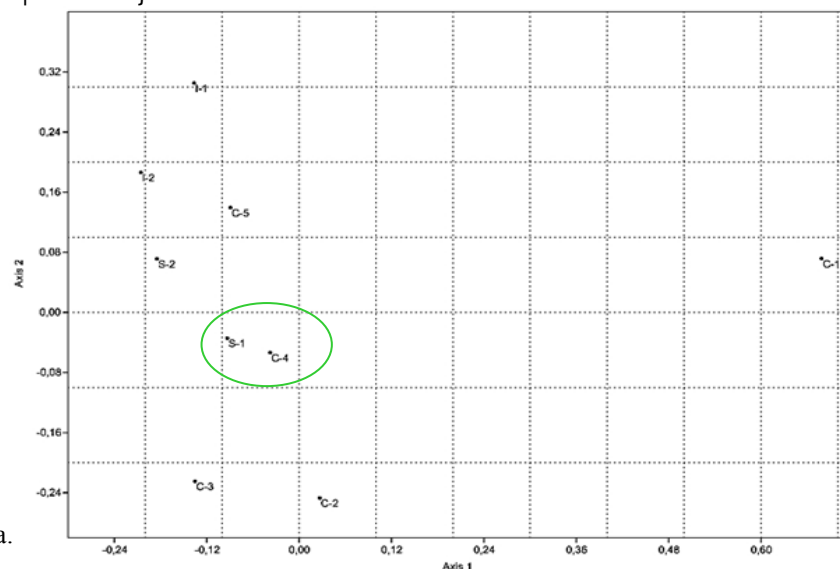
Per ogni stazione di campionamento è stato Calcolato l'indice STAR_ICMi, da cui sono

	Axis 1	Axis 2	Star_ICMi
--	--------	--------	-----------

state ricavate le classi di Qualità dello Stato Ecologico, dalle quali risulta evidente come queste siano lontane dall'obiettivo di qualità buono. Solo per

un corso d'acqua lo stato ecologico varia da Buono a Scarso mentre per gli altri la classe di Qualità è prevalentemente di livello Scarso e in un caso Cattivo.

Dalle Analisi delle Corrispondenze e di correlazione, eseguite confrontando i dati di qualità ambientale ottenuti dallo studio della comunità macrobentonica con quelli ottenuti dai test ecotossicologici e di mutagenesi (Figura 2), è possibile affermare come non ci sia una evidente correlazione tra questi [0,31 correlazione di Spearmann].



Axis 1	-	0,552	0,776
Axis 2	0,217	-	0,312
Star_ICMi	- 0,1	- 0,383	-

b.

Figura 2 - a. *Analisi delle corrispondenze tra i dati ottenuti dai test ecotossicologici e di mutagenesi e i valori degli indici di qualità ambientale dei macroinvertebrati (STAR_ICMi); b. Tabella di correlazione (Correlazione di Spearman)*

Conclusioni

Dai risultati ottenuti si evidenzia come un approccio multidisciplinare e multilivello abbia permesso di ottenere valutazioni di tipo ambientale maggiormente significative. Esso fornisce informazioni utili alla conoscenza dello stato ambientale e rafforza la necessità di studi multidisciplinari e multilivello soprattutto nei siti in cui non si raggiungono gli obiettivi di qualità ambientale.

Il set di indicatori analizzati, infatti, copre intervalli diversi di informazione e ne rafforza l'utilità in condizioni di stress ambientale, per individuare il livello di compromissione dell'ecosistema e consentire di attuare sistemi di gestione e ripristino.

Riferimenti bibliografici:

- Buffagni A., Erba S. (2007). Macroinvertebrati acquatici e direttiva 2000/60/EC (WFD) , Notiziario dei Metodi Analitici, marzo 2007 (1): 94-100.
- Castelli A., Lardicci C., Tagliapietra D. (2003). Capitolo IV: Il macrobenthos di fondo molle. Biol. Mar. Medit.10 (Suppl.): 109-144.
- Ciadamidaro S., Puccinelli C., Mancini L. (2012). Studio dell' ecologia dei piccoli corsi d'acqua della Provincia di Roma. Roma: Istituto Superiore di Sanità; Rapporti ISTISAN 12/33.
- Ciceri G., Fontana P., Meloni M.L. (2001). Linea guida per il campionamento e la preparazione dei campioni per la caratterizzazione di siti contaminati e risultati delle prove di laboratorio di qualificazione di alcuni prodotti coadiuvanti di bonifica. Rapporto CESI A1/039094.
- Gustavino B., Cacioli S., Mancini L. (Ed). Linea guida del test dei micronuclei in *Vicia faba* per la valutazione di effetti mutageni in acque dolci e sedimenti. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2013. (Rapporti ISTISAN 13/27).
- Italia. Decreto Ministeriale 8 novembre 2010, n. 260. Regolamento recante «Criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali - Modifica norme tecniche Dlgs 152/2006. Gazzetta Ufficiale n.30 del 7-02-2011 - Supplemento Ordinario n. 31
- ISO 6341, 2012. Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test.
- ISPRA 2007. Andreani P., Battezzatore M., Belfiore C., Bernabei S., Buffagni A., Casino N., Ciadamidaro S., Damiani G., Erba S., Floris B., Le Focche M., Mancini L., Martone C., Morisi A., Pace G., Pagnotta R., Siligardi M. (2008). Protocollo di campionamento dei macroinvertebrati bentonici dei corsi d'acqua guadabili. "Manuale Metodi biologici per le acque-Parte I".
- Mancini L., Fidente R.M. (Ed.). (2007). La Direttiva Quadro 2000/60/EU sulle

acque: stato dell'arte della normativa europea. Roma: Istituto Superiore di Sanità; Rapporti ISTISAN 07/36.

-Rizzoni M., Gustavino B., Ferrari C., Gatti L.G., Fano E.A. (1995). An integrated approach to the assessment of the environmental quality of the Tiber river in the urban area of Rome: A mutagenesis assay (micronucleus test) and an analysis of macrobenthic community structure. *Sci Total Environ* 1995; 162:127-37.

-UNI EN ISO 11348-2, 2007. Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) Method using liquid-dried bacteria.

-USEPA, 1991. Evaluation of Dredged Material Proposed for Ocean Disposal, n. 503/8-91/001.