

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"**





Legge Regionale 27 agosto 1982, n. 59
"Salubrità della fauna ittica
delle acque interne abruzzesi"

Studio
di un ecosistema fluviale
ad elevato rischio
ambientale
mediante un approccio
olistico basato sull'utilizzo
di bioindicatori
di diversi livelli
nello spettro biologico

Responsabile del progetto

Carla Giansante

Collaborazioni

Riccardo Caprioli

Anna Rita D'Angelo

Gianfranco Diletti

Giuseppe Gatti

Valeria Melai

Martina Nepa

Sandro Pelini

INDICE

1. INTRODUZIONE	5
2. L'ECOSISTEMA FLUVIALE	5
2.1 Zonazione dei corsi d'acqua	5
2.2 <i>River Continuum Concept</i>	6
2.3 Approccio multidisciplinare	8
2. LE COMUNITÀ DELLE ACQUE CORRENTI E LA LORO FUNZIONE ECOLOGICA	9
3.1 Le comunità di Macroinvertebrati	9
3.2 Le comunità ittiche	10
4. PERTURBAZIONI ALL'ECOSISTEMA ACQUATICO	12
4.1 Inquinamento	13
4.2 Direttiva quadro sulle acque: WFD	13
5. BIOCONCENTRAZIONE E BIOACCUMULO	14
5.1. Biodisponibilità	15
5.2. Effetti degli inquinanti sul biota	15
6. IL BIOMONITORAGGIO	18
6.1. Bioindicatori	18
6.1.1. Macroinvertebrati	20
6.1.2. Pesci	20
6.2 Biomarcatori	21
7. LA CONTAMINAZIONE DELL'AREA INDUSTRIALE DI BUSSI OFFICINE (PE) - CONSULENZA TECNICA PER LA PROCURA DELLA REPUBBLICA DEL TRIBUNALE DI PESCARA (Di Molfetta & Fracassi)	23
8. OBIETTIVI	27
9. MATERIALI E METODI	27
9.1 Area di studio	27
9.2 Indice di Funzionalità Fluviale (IFF)	28
9.3 Campionamento di fauna ittica	32
9.4 Campionamento di Macroinvertebrati	34
9.5 Test del Micronucleo (MN)	35
9.5.1 Preparazione degli strisci di sangue	36
9.5.2 Lettura dei vetrini ed elaborazione dei dati	37
9.6 Valutazione dello stato riproduttivo	38
9.6.1 Preparazione dei campioni	39
9.6.2 Istologia	39
9.7 Analisi chimiche	39
9.8 Analisi stastistiche	40

10. RISULTATI	40
10.1 Indice di Funzionalità Fluviale (IFF)	40
10.2 Campionamento di fauna Ittica	57
10.3 Test del Micronucleo	57
10.3.1 Correlazione taglia/presenza di micronuclei	58
10.3.2 Confronto Monte/Valle	60
10.3.3 Confronto Molina-Monte/Manoppello-Valle per specie CAVEDANO	61
10.3.4 Confronto Vittorito-(Monte)/Bussi-Manoppello (Valle) per specie TROTA	61
10.3.5 Confronto tra gli esemplari analizzati al momento del prelievo rispetto a quelli analizzati dopo un mese di stabulazione in vasca	62
10.3.6. Confronto tra SITI di campionamento	63
10.4 Valutazione dello stato riproduttivo	64
10.5 Analisi chimiche nel muscolo di pesce	65
10.5.1 Correlazione taglia/analisi chimiche	67
10.5.2 Contronto tra SITI di campionamento	70
10.5.3 Confronto tra i pesci (non depurati) di monte e di valle rispetto al sito SIN di Bussi Officine	72
10.5.4 Confronto tra i pesci depurati e non depurati di monte e di valle rispetto al sito SIN di Bussi Officine	73
10.5.5 Confronto tra tutti i pesci depurati e non depurate di monte e di valle rispetto al sito SIN di Bussi Officine	74
10.5.6 Confronto Monte/Valle per le specie: CAVEDANO e TROTA	76
10.6 Analisi chimiche nei Macroinvertebrati	79
11. DISCUSSIONE	83
11.1 Indice di Funzionalità Fluviale (IFF)	83
11.2 Aspetti faunistici e problematiche ambientali	84
11.3 Test del Micronucleo	87
11.4 Inquinamento chimico da metalli pesanti, diossine e PCB	88
12. CONCLUSIONI	91
BIBLIOGRAFIA	93

1. INTRODUZIONE

La qualità ambientale è strettamente connessa alla qualità della vita. Una migliore qualità della vita, secondo una visione non antropocentrica, ma ecosistemica e in funzione del mondo animale e vegetale, rende un paese civile. In questo contesto le risorse idriche e gli ecosistemi acquatici rivestono un ruolo chiave. L'acqua è l'elemento di maggior importanza all'interno di un ecosistema e rappresenta la risorsa indispensabile per la vita e per tutte le attività umane. Da qualche anno, le sempre più crescenti pressioni antropiche hanno posto l'accento sulla gravità del problema acqua, sulla estrema vulnerabilità e non sostenibilità dell'uso di tale risorsa, evidenziando, con sempre maggior intensità e frequenza, accentuati fenomeni di degrado quali-quantitativo (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). Conoscere gli effetti dell'inquinamento e le diverse forme di stress che le attività antropiche esercitano sugli ecosistemi naturali e seminaturali è un passo fondamentale per la corretta gestione del territorio e delle comunità naturali; tale conoscenza rappresenta non solo una grande ricchezza per il Paese, ma anche una barriera che permette di prevedere con anticipo ed efficacia ciò che potrebbe capitare al genere umano. (ISPRA, 2012)

2. L'ECOSISTEMA FLUVIALE

La superficie terrestre è ricoperta al 70% da acqua. La maggior parte di tale percentuale è rappresentata da acqua oceanica, mentre il restante 2,9% da acque dolci, che solo parzialmente sono utilizzabili dall'uomo: il 2,24% si trova allo stato solido, calotte polari e permafrost; lo 0,61% è costituito da acque sotterranee; lo 0,001% si trova nell'atmosfera. L'ecosistema fluviale comprende non solo il comparto "acqua", con le sue caratteristiche chimico-fisiche, ma anche le relazioni tra le componenti biotiche viventi al suo interno e le interazioni che esso instaura con l'atmosfera, con il substrato sopra il quale scorre, con la falda sottostante e con gli ambienti terrestri e di transizione che ne seguono il corso. Tutti questi elementi interagiscono influenzandosi a vicenda e l'alterazione di uno di essi ha spesso ripercussioni su tutti gli altri. Lo studio della salute di un ecosistema fluviale non può quindi prescindere da una visione olistica dell'ambiente, che prenda in considerazione le diverse componenti interagenti. Il fiume è un ecosistema complesso che matura e cambia dalla sorgente alla foce e fornisce un importante contributo agli equilibri omeostatici dell'intero bacino fluviale (Siligardi, 2009).

2.1 Zonazione dei corsi d'acqua

I fiumi, lungo il loro corso, presentano una discontinuità delle caratteristiche chimico-fisiche, idromorfologiche e biotiche, per tale motivo possono essere suddivisi in tratti più o meno omogenei con un processo che prende comunemente il nome di zonazione (Illies & Botosaneanu, 1963). A partire da tale concetto, ne è seguito negli anni '70-'80 un proficuo sviluppo di teorie interpretative dell'ecosistema fluviale, con il modello del *River continuum concept* (Vannote *et al.*, 1980) e con l'approccio *multidisciplinare* (Ward, 1989).

La zonazione dei corsi d'acqua nei climi temperati, secondo Illies & Botosaneanu (1963), è basata su fattori morfodinamici, sulle caratteristiche fisico-chimiche e sulle comunità di organismi invertebrati. Partendo dalla sorgente verso la foce, si possono così individuare tre zone principali: *crenal*, *rhithral* e *potamal*, le cui comunità sono chiamate rispettivamente *crenon*, *rhithron* e *potamon* (Angelier, 2003).

Il **crenal** corrisponde agli ambienti sorgivi e vi si possono distinguere le sorgenti vere e proprie (*eucrenal*) e i rivoli che vi si originano (*hypocreanal*). La temperatura di questi ambienti è in funzione dell'altitudine e della latitudine; può variare

da 7,8 a 9,8°C fino a 500 m e scendere fino a 4,5°C a quote intorno a 1400 m. La temperatura è relativamente stabile nell'*eucrenal*, mentre presenta fluttuazioni giornaliere nell'*hypocrenal*. La diversità in questi ambienti è ridotta a causa delle condizioni poco favorevoli.

Il *rhitral* inizia con i corsi d'acqua di ordine 2, i quali, seguendo la classificazione gerarchica dei fiumi secondo lo schema di Strahler (1964), si sono formati per confluenza di corsi d'acqua singoli in testa al bacino che non hanno affluenti, quindi nati dalla confluenza di rivoli dell'*hypocrenal*. La temperatura non supera 20°C in estate e l'ossigeno si mantiene su livelli di saturazione, facilitati dall'elevata turbolenza delle acque. Il substrato è costituito prevalentemente da roccia, massi, ciottoli e ghiaia che formano un mosaico di microhabitat che ospitano una comunità molto varia. Si tratta soprattutto di organismi stenotermi, con evidenti adattamenti alla corrente: forma del corpo appiattita o affusolata, organi di ancoraggio al substrato e tigmotassi positiva. Il substrato è colonizzato anche da Alghe e Briofite nei tratti più alti, che lasciano via via il posto ad un ricco *periphyton* e, successivamente, alle macrofite acquatiche.

Il *potamal* risulta dalla confluenza di corsi d'acqua montani e collinari e scorre nella piana alluvionale con pendenze ridotte, inferiori allo 0,15%. Il materiale depositato è prevalentemente caratterizzato da limi. Il letto fluviale è ampio e le acque sono a decorso lento e con moderata turbolenza. La temperatura può anche superare i 20-21°C in estate ed è caratterizzata da escursioni stagionali, tanto che la comunità subisce una successione da specie stenoterme fredde da autunno a primavera e di specie stenoterme calde d'estate. L'ecosistema è supportato dalle macrofite acquatiche, la cui attività fotosintetica condiziona in gran parte i livelli di ossigeno, che sono più alti durante il giorno, grazie alla fotosintesi, e più bassi durante la notte, a causa della respirazione. Nel potamal possiamo individuare zone di transizione (delta o estuario), dove le acque dei fiumi si uniscono al mare. Qui vi è un progressivo mescolamento e la presenza di gradienti di salinità e densità che possono provocare una progressiva stratificazione verticale delle acque. L'alta variabilità delle caratteristiche fisico-chimiche e morfologiche produce un ambiente ricco di diversità e di habitat che può ospitare biocenosi particolari e fungere anche da nursery per specie permanenti e migratorie.

2.2 River Continuum Concept

Un corso d'acqua è considerato una successione di ecosistemi che sfumano gradualmente l'uno nell'altro e sono interconnessi con gli ecosistemi terrestri circostanti: dalla sorgente alla foce variano infatti i parametri morfologici, idrodinamici, fisici e chimici e, in relazione ad essi, i popolamenti biologici.

Il **River Continuum Concept** propone una visione unificante dell'ecologia fluviale che richiama l'attenzione sulla stretta dipendenza della struttura e delle funzioni delle comunità biologiche dalle condizioni geomorfologiche ed idrauliche medie del sistema fisico (Vannote *et al.* 1980; Tabella 2.1). In generale possiamo considerare le seguenti componenti:

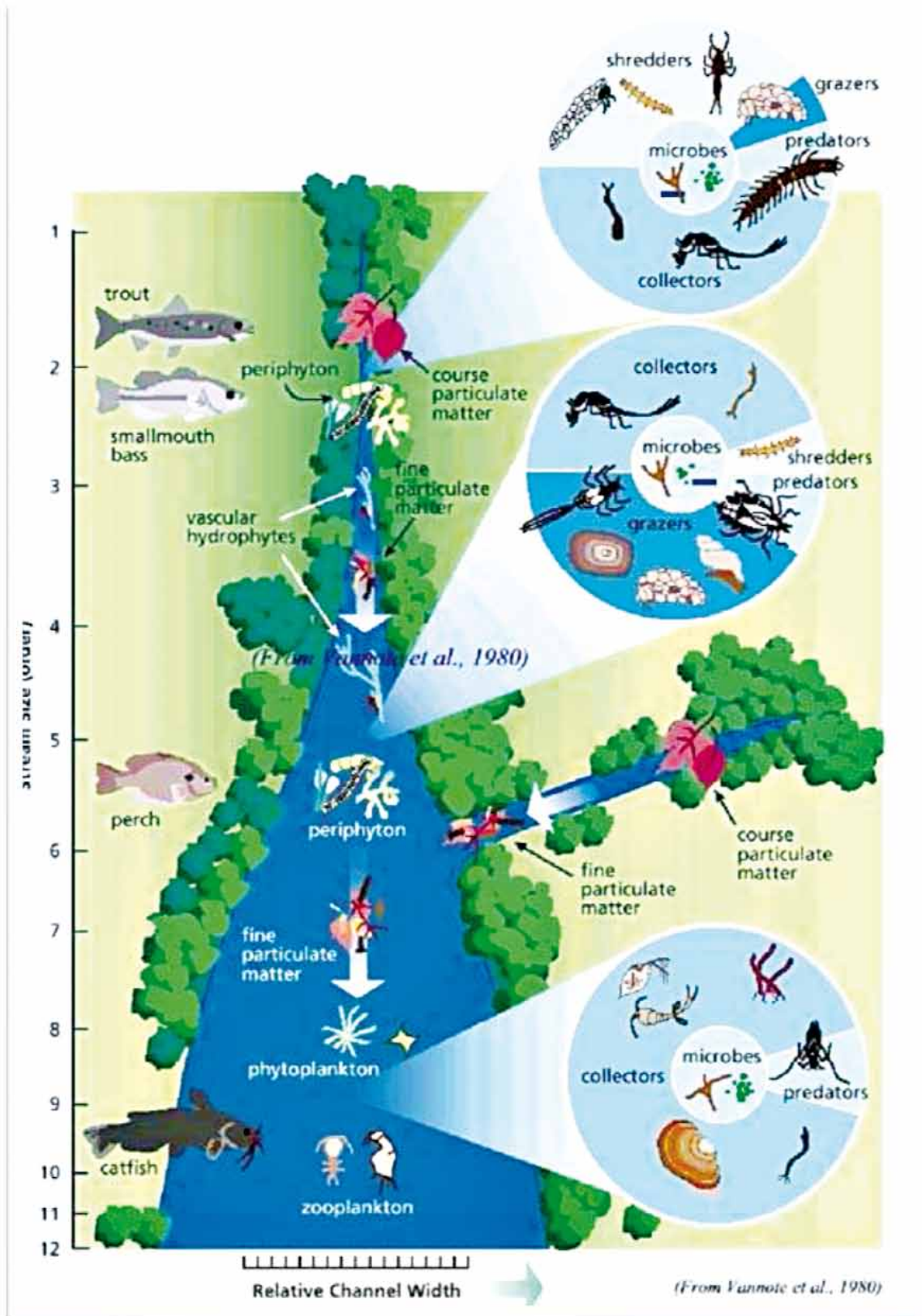
Tab. 2.1 Le componenti considerate dal River Continuum Concept

Struttura morfologica	Componente biotica	Componente ripariale
Diversità morfologica del fondo	Periphyton	Vegetazione ripariale arborea o arbustiva
Raschi pozze e meandri	Macrofite	
Naturalità della sezione	Macrobenthos	
Regime delle portate	Pesci	

La tendenza a mantenere costante il flusso di energia su base annua, nonostante le variazioni stagionali degli apporti dei principali substrati organici (caduta delle foglie, fotosintesi), è ottenuta accoppiando a esse una serie di accorgimenti regolativi: sequenza temporale sincronizzata nell'arco dell'anno di specie e di specializzazioni alimentari, variazioni temporali dei gruppi funzionali e dei processi di immagazzinamento (ritenzione fisica del detrito organico e produzione di nuova biomassa) e di perdita di energia (trasporto verso valle e respirazione). A differenza dei sistemi dotati di una struttura fisica poco variabile nel tempo, nei quali la stabilità può essere mantenuta anche con una bassa diversità biologica, negli ecosistemi fluviali - caratterizzati da marcate variazioni fisiche, soprattutto di portata - il mantenimento della stabilità richiede una elevata diversità biologica, condizionata dalla presenza di una elevata diversità ambientale. La concezione del *continuum* fluviale mette in evidenza come le comunità acquatiche e il metabolismo

fluviale siano condizionate non solo dalle condizioni locali, ma anche dai processi che si verificano nei tratti a monte (Figura 2.1).

Figura 2.1 Relazioni esistenti tra ordine del corso d'acqua, input di energia e funzione dell'ecosistema, secondo il River Continuum Concept [da Vannote et al., 1980, modificato]



Il *River Continuum Concept* include, quindi, una serie di previsioni dei mutamenti longitudinali lungo il continuum fluviale che concernono: la temperatura, la proporzione relativa tra i vari gruppi trofici, la diversità di specie, il rapporto tra produzione primaria interna (P) e respirazione (R) e tra materia organica particolata grossolana (CPOM) e materia organica particolata fine (FPOM).

2.3 Approccio multidisciplinare

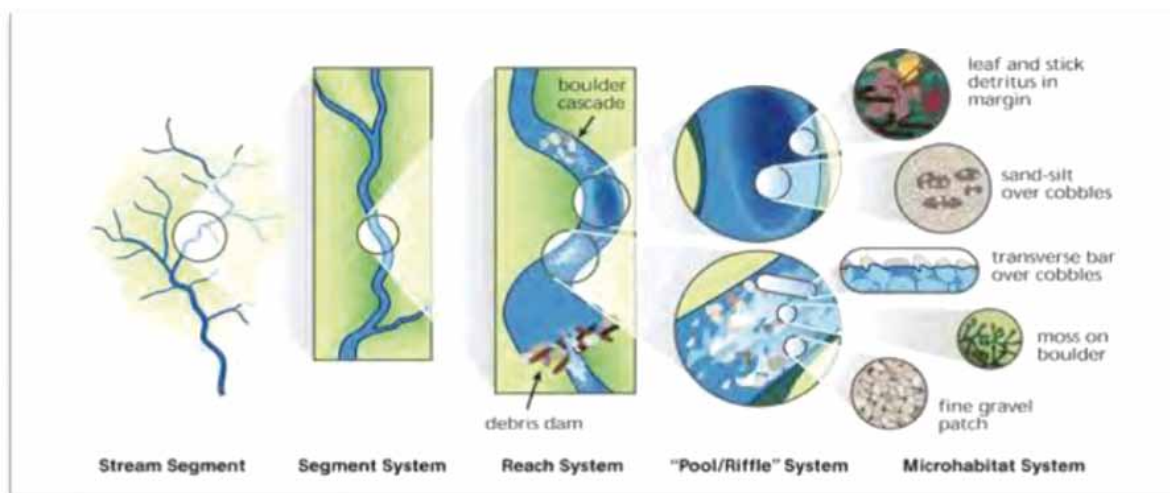
Si può pensare ad un fiume come ad un sistema che si sviluppa secondo quattro dimensioni: laterale (da sponda a sponda), verticale (dalla superficie dell'acqua al fondo), temporale e longitudinale (dalla sorgente alla foce) secondo il modello elaborato da Ward nel 1989.

Il *River Continuum Concept* esprime il senso di valutazione longitudinale. La dimensione laterale, invece, coinvolge le interazioni che avvengono tra l'alveo fluviale, la zona riparia e il territorio circostante, compreso l'ambiente iporreico. Questa dimensione ha un'enorme importanza per la presenza di zone filtro, costituite dalle fasce di vegetazione riparia e dai meandri fluviali, che hanno un'alta efficienza depurativa per il corso d'acqua.

La dimensione verticale, investe i rapporti tra l'acqua che scorre nell'alveo e la quota che s'infiltra tra gli interstizi del subalveo fino a raggiungere la falda. In questa dimensione entrano anche gli interscambi tra aria e acqua e la vita che si svolge sull'interfaccia. La comunità dell'ambiente iporreico è caratterizzata dalla presenza di batteri, funghi, e micrometazoi, che, insieme con i Macroinvertebrati epibentonici che vi si possono rifugiare, svolgono un'importantissima azione filtrante e autodepurante del corso d'acqua.

Le scale spazio-temporali (Figura 2.2) si estendono da quella di bacino o di tratto di fiume a quella di microhabitat; questa considerazione è importante perché molti processi ecologici significativi si svolgono e possono venire osservati o studiati su più livelli, e anche perché molte delle caratteristiche proprie di un certo livello del sistema fluviale vengono influenzate da quelle appartenenti a livelli più elevati. La sensibilità temporale del fiume ai cambiamenti, inoltre, tende a diminuire all'aumentare della scala spaziale considerata.

Figura 2.2 Scale spaziali di un ecosistema fluviale



All'interno di ogni tratto sono presenti microhabitat quali pozze, ondulazioni e dune, cascate o rapide, zone di ristagno. A questa scala di sotto-tratto divengono rilevanti la superficie del substrato e la fascia iporreica (al di sotto di questa superficie) così come tutti i processi di scambio da cui esse sono interessate. Le dune e le ondulazioni si presentano spesso in zone di acque poco profonde con un fondo costituito da ciottoli o ghiaie in cui la corrente presenta velocità più elevate e caratteristiche di turbolenza maggiormente accentuate che altrove. Esse sono solitamente alternate a pozze, zone di acque più lente, calme e profonde, con un fondo caratterizzato da sedimenti a granulometria più fine. L'alternanza di queste due zone è detta sequenza riffle-pool ed è frequente nei sistemi fluviali. La scelta della scala appropriata permette di studiare con le metodiche appropriate ogni componente intrinseca delle dinamiche fluviali e le interazioni che s'instaurano tra di esse.

3. LE COMUNITÀ DELLE ACQUE CORRENTI E LA LORO FUNZIONE ECOLOGICA

La vita nelle acque correnti è caratterizzata da una variazione continua delle condizioni ambientali, dalla sorgente alla foce dei fiumi. In prossimità della sorgente il corso d'acqua dipende dall'immissione di detrito proveniente dal terreno circostante. All'aumentare dell'ampiezza del corso d'acqua, le alghe e le macrofite diventano importanti fonti di energia per l'ecosistema acquatico e, di conseguenza, cambiano anche le comunità che lo popolano. In prossimità della foce, i fiumi dipendono dal particolato fine e dalla sostanza organica disciolta come fonte primaria di energia e nutrienti. Qui le specie dominanti sono invertebrati filtratori e pesci bentonici.

La componente planctonica assume importanza nei tratti potamali e comprende organismi produttori (fitoplancton) e organismi consumatori (zooplancton).

Il fattore di maggiore importanza per gli insediamenti biologici è la velocità di corrente e, quasi sempre in buona correlazione con essa, la natura del substrato, la temperatura e la quantità di ossigeno disciolto. Ne deriva che i principali componenti delle comunità animali dell'ambiente lotico sono le biocenosi bentoniche, le comunità di Macroinvertebrati e quelle dotate di un'attiva capacità di nuoto: le comunità ittiche.

3.1 Le comunità di Macroinvertebrati

I Macroinvertebrati bentonici di acque correnti sono organismi che hanno dimensioni generalmente superiori al millimetro, sono visibili a occhio nudo e vivono sui substrati disponibili nei corsi d'acqua, usando meccanismi di adattamento che li rendono capaci di resistere alla corrente. Essi appartengono principalmente ai seguenti gruppi: Insetti, Crostacei, Molluschi, Irudinei, Tricladi, Oligocheti.

I Macroinvertebrati bentonici occupano tutti i livelli dei consumatori nella struttura trofica degli ambienti di acque correnti, dove sono contemporaneamente presenti organismi erbivori, carnivori e detritivori, che adottano una vasta gamma di meccanismi di nutrizione, in modo da sfruttare al massimo le risorse alimentari disponibili (APAT, 2007).

I Macroinvertebrati, come tutti gli invertebrati bentonici, possono essere divisi in epibentonici e freaticoli: i primi vivono abitualmente sulla superficie del substrato o nei primi centimetri, i secondi vivono all'interno dei sedimenti. Questa distinzione non è sempre netta, infatti gli organismi epibentonici possono penetrare in profondità nei sedimenti. Un'altra suddivisione dei Macroinvertebrati delle acque correnti è in organismi reofili, che vivono in zone di forte corrente, e organismi limnofili, che preferiscono ambienti a corrente debole.

I diversi gruppi tassonomici dei Macroinvertebrati presentano adattamenti morfologici, fisiologici e comportamentali ai vari microhabitat del corso d'acqua. In particolare l'adattamento di tipo comportamentale alla corrente si esprime attraverso la ricerca di ambienti protetti sotto i sassi o tra la vegetazione, quello di tipo morfologico si manifesta, ad esempio con l'appiattimento del corpo, riduzioni di strutture sporgenti, aspetto fusiforme, presenza di ventose, uncini e unghie rinforzate per aggrapparsi meglio al substrato. La corrente è utilizzata per l'alimentazione, per allontanare gli escreti, per difesa.

Natura del substrato e velocità di corrente sono tra i principali fattori fisici determinanti la distribuzione dei Macroinvertebrati nelle acque correnti. Ad esempio, tra gli Efemerotteri, le larve litofile sono caratteristiche dei tratti montani dei corsi d'acqua, che presentano velocità di corrente medio-alta e substrati a massi e ciottoli, sui quali le larve si spostano. Le forme scavatrici vivono invece nelle zone planiziali con velocità di corrente non elevata, dove si spostano nuotando e possono scavare gallerie nei substrati argillosi, sabbiosi o ghiaiosi. Sui substrati prevalentemente limosi predominano gli Oligocheti, e in modo particolare i Tubificidi, che vivono parzialmente immersi nel fango, dal quale estraggono il loro alimento, principalmente costituito da detrito organico non recente. Frequenti sono anche i Chironomidi, che possono costruirsi piccoli tubi di fango e che sono pure parzialmente limofagi, ma che preferiscono generalmente il sedimento organico più recente, e quindi più superficiale. Sulla superficie del sedimento vivono altre larve e ninfe di Efemerotteri, Isopodi e Gasteropodi. Su un substrato più solido vivono gli Irudinei, i Gasteropodi, i Turbellari. Considerando la struttura trofica degli ambienti di acque correnti i Macroinvertebrati occupano tutti i livelli dei consumatori e sono stati classificati in quattro categorie principali:

- frammentatori: organismi detritivori che si nutrono di sostanza organica particulata grossolana (diametro delle par-

ticelle >2mm). Appartengono a questa categoria i Crostacei Gammaridi di acqua dolce (*Gammarus* spp.), gli Isopodi (*Asellus* spp.),

- collettori: organismi che si nutrono di sostanza organica particolata fine (diametro delle particelle < 2mm) e comprendono due sottocategorie: collettori-raccoglitori, collettori-filtratori; i primi sono organismi che si procurano il cibo dai detriti macroscopici e dai sedimenti sul letto del corpo idrico, i secondi, invece, si nutrono filtrando l'acqua;
- pascolatori-raschiatori: il cibo di questi organismi è costituito da alghe e sostanza organica morta adsorbita alla superficie del substrato che viene quindi raschiato;
- carnivori: organismi predatori tra cui, ad esempio, l'irudineo *Glossiphonia* che è considerato un predatore succhiatore in quanto presenta un apparato boccale specializzato per l'assorbimento di nutrimento liquido.

Nel processo di trasferimento e di elaborazione della materia organica presente in un corso d'acqua, gli invertebrati bentonici hanno il duplice ruolo di consumatori diretti (alimentazione e respirazione) e di frantumatori del particolato in sostanze più facilmente assimilabili dalla componente batterica. A loro volta i Macroinvertebrati costituiscono l'alimento preferenziale per numerose specie di Vertebrati.

Il complesso di attività trofiche che si svolge in un corso d'acqua ha la funzione di mantenere l'ambiente allo stato di efficienza metabolica caratteristico per quella tipologia fluviale e può essere sintetizzato col termine di potere depurante. Una comunità macrobentonica diversificata, essendo capace di sfruttare più efficacemente l'intera gamma di apporti alimentari e di adattarsi meglio alle loro variazioni temporali, è garanzia di una buona efficienza depurativa.

La composizione attesa o ottimale della comunità dei Macroinvertebrati corrisponde a quella che, in condizioni di buona efficienza dell'ecosistema, dovrebbe colonizzare quella determinata tipologia fluviale. Se questo non si verifica vuol dire che c'è stato qualche impatto negativo dovuto, in genere, alle attività umane. La struttura della comunità dei Macroinvertebrati, infatti, è influenzata, oltre che da fattori chimico-fisici naturali, dagli interventi sulla morfologia degli alvei, dalla dinamica idrologica, dalla qualità chimica e fisica delle acque e dei sedimenti.

Pertanto, i Macroinvertebrati bentonici sono considerati buoni indicatori dello stato di qualità delle acque poiché:

- presentano diversi ruoli trofici e differenti sensibilità all'inquinamento;
- sono difficilmente movibili;
- indicano con immediatezza le eventuali alterazioni dell'ambiente;
- hanno un ciclo vitale lungo che permette di rilevare impatti minimi protratti nel tempo;
- sono facilmente determinabili e campionabili.

3.2 Le comunità ittiche

I Pesci sono tra gli animali che maggiormente caratterizzano gli ecosistemi fluviali: trascorrono tutta la loro vita nell'acqua e molti di essi svolgono l'intero ciclo biologico nei fiumi (mentre altri prediligono i laghi e altri ancora migrano fra il mare e i corsi d'acqua). Molte specie rivestono una grande importanza per l'uomo essendo oggetto di pesca, per motivi sia professionali sia dilettantistici, e di acquacoltura. In vari luoghi della Terra i Pesci che vivono nei fiumi sono una parte fondamentale dell'alimentazione umana.

La fauna ittica d'acqua dolce si compone di due distinte classi di Vertebrati: i Ciclostomi (Cyclostomata) e i Pesci Ossei (Osteichthyes). Generalmente la variazione della composizione delle specie ittiche lungo tutta l'asta fluviale è definita dal principio di "zonazione ittica" attraverso la quale gli ambienti fluviali sono suddivisi in base alle caratteristiche ecologiche e morfodinamiche. Nella maggior parte dei corsi d'acqua italiani possono essere individuate 4 zone (Zerunian, 1982) caratterizzate dalla presenza di alcune specie con diverse esigenze bio-ecologiche, appartenenti alle Famiglie dei Salmonidi, dei Ciprinidi e dei Mugilidi (Figura 3.1). Ciascuna zona presenta proprie caratteristiche ambientali, che dipendono principalmente dalla pendenza del terreno su cui scorre il fiume, dalla sua portata e dalla vicinanza con il mare; in alcuni corsi d'acqua, in funzione di ripetuti cambiamenti nella pendenza del terreno, le zone dei tratti medio-alti possono alternarsi.

La zonazione ittica dei corsi d'acqua italiani è basata sulle seguenti zone:

ZONA DEI SALMONIDI (specie tipiche Trota fario e Trota macrostigma) caratterizzata da:

- acqua dolce, limpida e ben ossigenata;
- corrente molto veloce, con presenza di rapide;
- fondo a massi, ciottoli o ghiaia grossolana;
- scarsa o moderata presenza di piante acquatiche;
- temperatura fino a 16-17 °C, ma generalmente inferiore.

ZONA DEI CIPRINIDI A DEPOSIZIONE LITOFILA (dal greco lithos = "pietra"; specie tipiche Barbo, Barbo canino, Vairone) che depongono cioè uova e spermatozoi sulla ghiaia, caratterizzata da:

- acqua dolce e limpida, soggetta però a torbide di breve durata, discretamente ossigenata;
- corrente veloce, alternata a zone dove l'acqua rallenta e la profondità è maggiore;
- fondo con ghiaia fine e sabbia;
- moderata presenza di piante acquatiche; temperatura raramente superiore a 19-20 °C.

ZONA DEI CIPRINIDI A DEPOSIZIONE FITOFILA (dal greco *phyton* = "pianta"; specie tipiche Tinca, Scardola, Triotto) che depongono cioè uova e spermatozoi sulle piante acquatiche, caratterizzata da:

- acqua dolce frequentemente torbida e solo moderatamente ossigenata in alcuni periodi;
- bassa velocità della corrente;
- fondo fangoso;
- abbondanza di piante acquatiche; temperatura fino a 24-25 °C.

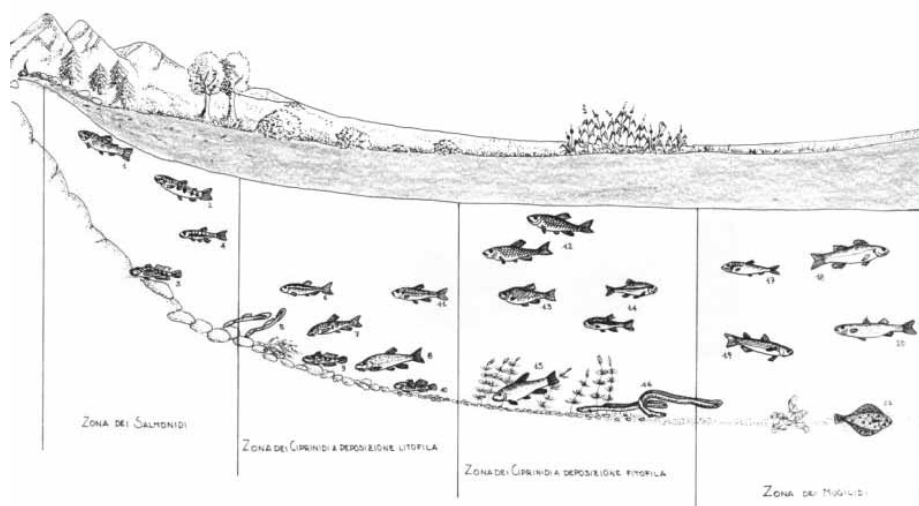
ZONA DEI MUGILIDI (specie tipiche Cefalo, Muggine calamita, Muggine labbrone) caratterizzata da:

- acqua salmastra in seguito al rimescolamento delle acque dolci fluviali con quelle salate marine;
- bassa velocità della corrente;
- fondo fangoso;
- moderata presenza di piante acquatiche;
- temperatura, concentrazione di ossigeno e torbidità molto variabili, anche in funzione delle maree.

La zonazione ittica di un corso d'acqua non va considerata in modo rigido, perché non esistono confini netti fra le varie zone e perché alcune specie, come ad esempio l'Anguilla e il Cavedano, possono essere presenti in uno stesso momento in più zone; bisogna poi considerare che in alcuni ambienti particolari, come le risorgive, possono convivere specie normalmente distribuite in zone diverse.

Figura 2.3 Zonazione dei corsi d'acqua.

Da sinistra verso destra : Zona dei Salmonidi, Zona dei Ciprinidi a deposizione litofila, Zona dei Ciprinidi a deposizione fitofila, zona dei Mugilidi.



Indubbiamente, a livello di microscala, la presenza delle specie è influenzata dalla varietà e dalla disponibilità di microhabitat ove le specie ittiche siano in grado di compiere l'intero ciclo vitale (riproduzione, primo accrescimento).

È pertanto comprensibile come in generale interventi di regimazione, presenze di captazioni e tagli della vegetazione riparia e acquatica influiscano in maniera pesante sulla disponibilità di nicchie ecologiche idonee, determinando una drastica riduzione della diversità ambientale (perdita di habitat) con conseguente decremento della diversità ittica.

La distribuzione delle specie è complicata da fattori di tipo biotico, quali ad esempio le interazioni tra specie (competizione, predazione), l'autoecologia delle stesse (preferenze per determinate condizioni idroqualitative e tipologia di microhabitat), le modalità comportamentali nei periodi critici del ciclo vitale (riproduzione, primo accrescimento). A ciò si aggiungono fattori di disturbo, di origine antropica, delle naturali interazioni fra specie, come introduzione di specie alloctone e interventi di ripopolamento.

I Pesci percepiscono in modo sensibile le variazioni ambientali e rispondono a questi stress (Tancioni *et al.*, 2006), quindi sono indicatori efficaci del sistema ambientale circostante per una moltitudine di fattori, tra cui: la loro lunga storia evolutiva, l'ampio spettro adattativo e quindi la capacità di colonizzare la maggior parte degli ambienti acquatici, la collocazione ai livelli più alti della catena trofica, i lunghi cicli vitali, la sistematica più semplice rispetto ad altri gruppi, i meccanismi biochimici e cellulari analoghi ai Vertebrati, fondamentali per prevedere gli eventuali rischi per la salute umana. L'utilizzo dei Pesci come bioindicatori sarà trattato nel dettaglio nel capitolo successivo.

4. PERTURBAZIONI ALL'ECOSISTEMA ACQUATICO

Il sistema ambientale è caratterizzato da un'estrema eterogeneità e frammentarietà e le diverse componenti che lo costituiscono interagiscono in vario modo tra loro in un continuo susseguirsi di stati di equilibrio differenti e temporanei in continua evoluzione. Tale dinamismo interno al sistema ambientale è provocato da cause sia naturali sia antropiche. (Bonora & Rocco, 2003).

Un corretto approccio di studio del sistema ambientale richiede quindi di rivolgere la massima attenzione ai suoi dinamismi, al continuo divenire del sistema stesso e alle interrelazioni che s'instaurano tra le sue componenti.

Ciò vale a maggior ragione per gli ecosistemi fluviali, caratterizzati naturalmente da perenni mutazioni del loro equilibrio idrologico-morfologico che si riverberano più in generale su quello ecologico.

La reimmissione degli affluenti, la divagazione degli alvei con le continue erosioni o accrescimento delle sponde, le piene annuali o con ricorrenze temporali lunghe, l'abbandono dell'alveo con la creazione di nuovi letti, sono tutte mutazioni naturali degli ecosistemi fluviali che influenzano in modo più o meno marcato anche gli equilibri consolidati della flora e della fauna instaurate lungo le sponde e nelle aree limitrofe.

Il regime idrico dei corsi d'acqua e la loro conformazione geomorfologica hanno subito inoltre nel tempo numerosi interventi antropici, alcuni di entità rilevante, quali le arginature e le derivazioni d'acqua a uso potabile, irriguo e idroelettrico, con la conseguente alterazione dell'ambiente fluviale naturale.

Tra le principali attività che hanno indotto la trasformazione - e in alcuni casi il degrado - dell'ecosistema fluviale, figurano:

- l'edificazione all'interno delle aree di espansione dei corsi d'acqua;
- la riduzione progressiva della vegetazione ripariale, per convertire i terreni a un'agricoltura più intensiva;
- l'estrazione di inerti (ghiaia e sabbia) dall'alveo;
- la derivazione di quantitativi significativi di acqua;
- la costruzione di dighe e altre opere idrauliche.

Tali modificazioni trovano un immediato riscontro nelle mutazioni paesaggistiche dei luoghi, la cui percezione non è fissa e immutabile, ma varia nel tempo secondo i modelli culturali adottati in quel momento.

Maggiormente pericolose per la vita sono le modificazioni introdotte nelle caratteristiche qualitative degli elementi dell'ecosistema fluviale, in termini non solo di qualità delle acque, ma anche di mantenimento di equilibrati flussi di nutrienti e di sedimenti.

Un corso d'acqua in buone condizioni può ospitare una ricca varietà di organismi animali e vegetali in grado di utilizzare le risorse a disposizione, in un assetto di equilibrio.

La vegetazione ripariale, oltre a costituire ambienti di rilevante valore naturalistico, condiziona i corsi d'acqua regolando i nutrienti e la struttura dei sistemi acquatici, compresa la luce necessaria alla produzione primaria nelle acque. Le foglie che cadono in acqua o che vi sono trasportate dal vento condizionano le catene di detritivori (organismi che si nutrono, distruggendoli, di rifiuti). Inoltre la presenza di radici e l'accumulo di tronchi condizionano in vario modo il deflusso delle acque.

Le specie che compongono i popolamenti animali e vegetali sono diversamente sensibili alla variazione dei fattori ambientali: i cambiamenti possono essere di tipo stagionale, quando sono legati a fattori climatici ricorrenti, oppure strutturali, quando sono legati a un processo di inquinamento in atto o di trasformazione rilevante del territorio.

Quando l'ecosistema fluviale è perturbato, si assiste, infatti, alla riduzione o alla scomparsa delle specie sensibili e alla dominanza di quelle più resistenti agli inquinanti, con una conseguente diminuzione di complessità dell'ecosistema, cioè una perdita di biodiversità, diretta conseguenza della perdita di autodepurazione e stabilità del sistema fluviale.

4.1 Inquinamento

Il Decreto Legislativo n. 152/2006 "Norme in materia ambientale", definisce l'inquinamento idrico come l'effetto dello "scarico effettuato direttamente o indirettamente dall'uomo nell'ambiente idrico di sostanze o di energia le cui conseguenze siano tali da mettere in pericolo la salute umana, nuocere alle risorse viventi e al sistema ecologico idrico, compromettere le attrattive o ostacolare altri usi legittimi delle acque".

L'inquinamento è definito anche come l'immissione o il prelievo nell'ambiente di materia e/o energia tali da provocare un'alterazione persistente e a volte irreversibile delle caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche dell'ecosistema (Della Croce *et al.*, 1997). Questo processo può essere anche di origine naturale (es. eruzioni vulcaniche, alluvioni, ecc.), ma è generalmente causato dalle attività antropiche che rappresentano una minaccia sempre più grande per gli ambienti acquatici e le rispettive componenti biotiche.

Le fonti principali di inquinamento sono costituite dall'immissione nelle acque superficiali o sotterranee di reflui urbani, agricoli e industriali. Le sostanze chimiche riversate in questi ambienti possono essere di natura organica (es. solventi, idrocarburi, pesticidi) e inorganica (es. metalli pesanti) e possono produrre effetti più o meno gravi in funzione della loro concentrazione, attività chimica e capacità d'interazione con le funzioni biologiche degli organismi.

Altre gravi forme di alterazione di un ecosistema acquatico sono l'inquinamento termico, causato dagli scarichi a temperature elevate delle centrali termoelettriche, e l'inquinamento legato alle precipitazioni atmosferiche che talvolta possono arrecare danni molto gravi all'intero ecosistema acquatico (es. acidificazione dei laghi del Nord Europa).

Già negli anni '80, la World Conservation Strategy (IUCN/UNEP/WWF, 1980), identifica l'inquinamento come una delle principali minacce per la conservazione della biodiversità e dei processi ecologici essenziali: è la prima volta che un documento internazionale indica in modo esplicito il concetto di "sviluppo sostenibile". In particolare, nel Capitolo V si raccomanda che "lo scarico di sostanze inquinanti e l'uso di pesticidi e di altre sostanze tossiche deve essere controllato". Si deve prestare attenzione per evitare la contaminazione degli habitat di specie uniche minacciate o economicamente importanti. Dal momento che gli effetti sugli ecosistemi e le specie delle migliaia di sostanze chimiche che entrano nell'ambiente sono in gran parte sconosciuti, dovrebbe essere intrapresa una generale sorveglianza dell'ambiente."

Nonostante questo e altri successivi allarmi del mondo scientifico non si è assistito a una diminuzione delle immissioni nocive per la salute umana e per l'ambiente, anche se negli ultimi decenni si è cercato di approfondire le conoscenze sul destino dei contaminanti ambientali e la loro identificazione, in particolar modo per mezzo della risposta biologica.

4.2 Direttiva quadro sulle acque: WFD

La Direttiva Europea 2000/60/CE, nota come "WFD", Water Framework Directive, rappresenta il più importante e recente atto legislativo comunitario sulla tutela degli ambienti acquatici, istituendo un quadro per la protezione delle acque superficiali e sotterranee con lo scopo di mantenere e migliorare l'ambiente acquatico all'interno della Comunità Europea.

Recepita a livello nazionale con vari decreti emanati dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (MATTM) e dal Decreto Legislativo n. 152/2006 "Norme in materia ambientale", mette ulteriormente in luce il ruolo chiave degli elementi biologici nella caratterizzazione dello stato di qualità dei corpi idrici.

Gli obiettivi della Direttiva sono: prevenire l'ulteriore deterioramento, proteggere e migliorare lo stato degli ecosistemi acquatici e delle zone umide associate, promuovere un utilizzo sostenibile dell'acqua basato sulla protezione a lungo termine delle risorse idriche disponibili, assicurare la progressiva riduzione dell'inquinamento delle acque sotterranee e prevenire il loro ulteriore inquinamento, contribuire a mitigare gli effetti delle inondazioni e della siccità.

La valutazione dello stato ambientale è incentrata sull'analisi delle comunità biologiche nell'ecosistema acquatico. Gli elementi biologici richiesti rappresentano i differenti livelli trofici dell'ecosistema: i produttori primari (fitobenthos e macrofite) e i diversi livelli di consumatori (Macroinvertebrati e Pesci); a supporto delle analisi di queste comunità sono studiati gli elementi chimico-fisici e idromorfologici.

La Direttiva 2000/60/CE, quindi, traccia le linee guida per la tutela degli ambienti fluviali, dando la priorità all'identificazione e classificazione dei corpi idrici e alla definizione delle condizioni di riferimento.

L'identificazione e la classificazione dei corpi idrici hanno come obiettivo quello di distinguere, all'interno del territorio di ogni Stato membro, le differenti tipologie fluviali al fine di permettere delle analisi comparative tra corsi d'acqua dello stesso tipo (valutazioni tipo-specifiche).

Per ciascuna tipologia fluviale sono poi definite delle condizioni di riferimento, per risalire allo stato di qualità ecologica o stato ecologico, cioè allo stato delle varie componenti dell'ecosistema fluviale e principalmente dei suoi elementi biotici.

L'identificazione delle condizioni di riferimento (che rappresentano il top di una determinata situazione), è richiesta per fornire un modello rispetto al quale misurare gli effetti delle attività umane passate e presenti su ogni corpo d'acqua (analisi delle pressioni) e per distinguere questi effetti dalle naturali variazioni ambientali.

La WFD fornisce una descrizione generale di 5 classi di stato ecologico per ogni categoria di acque superficiali: elevato, buono, sufficiente, scarso e cattivo.

Ogni classe rappresenta un diverso grado di disturbo antropico sugli elementi dell'ecosistema acquatico. La componente biotica è il punto focale per una valutazione pertinente dello stato di qualità dell'ecosistema, quindi è lo strumento più efficace per una corretta pianificazione.

La nuova rete di monitoraggio prevista dalla direttiva si articola in più fasi riassumibili nei seguenti punti: caratterizzazione delle acque superficiali, determinazione delle condizioni di riferimento tipo specifiche, individuazione delle pressioni e valutazione dello stato ecologico.

5. BIOCONCENTRAZIONE E BIOACCUMULO

Le modalità di ripartizione degli inquinanti nelle matrici ambientali si ripercuotono sulla loro diffusione nelle acque superficiali, sulle caratteristiche di biodisponibilità e bioaccumulo e quindi sulla loro capacità di interazione con il biota, infine sulla loro capacità di migrazione attraverso lo strato insaturo per raggiungere le falde. Conoscere la ripartizione degli inquinanti nelle varie matrici è di fondamentale importanza per indagare sul loro destino e sulle modalità di esposizione dei vari organismi.

L'accumulo può essere espresso da vari indicatori. La bioconcentrazione rappresenta l'accumulo netto nell'organismo di un elemento/sostanza, come risultato dell'esposizione all'elemento/sostanza presente nell'acqua; il bioaccumulo è invece l'accumulo netto di un elemento/sostanza nell'organismo come risultato dell'esposizione a tutte le possibili sorgenti (acqua, cibo) in cui si trova l'elemento/sostanza.

La biomagnificazione infine rappresenta l'incremento della concentrazione di un elemento/sostanza negli organismi dei livelli trofici più elevati come conseguenza dell'ingestione di organismi di livelli trofici inferiori (US EPA, 2004).

Il bioaccumulo di una sostanza fa sì che essa, anche se presente nell'ambiente a basse dosi, possa raggiungere la concentrazione critica negli organi bersaglio. Alcune sostanze tendono ad accumularsi in particolari siti/tessuti all'interno

dell'organismo creando veri e propri depositi. Nel caso di sostanze lipofile, la ripartizione tra acqua e grasso del biota è riconosciuto come principale meccanismo di accumulo nel tessuto adiposo, come è noto per i bifenili policlorurati (PCB) e i pesticidi organoclorurati (per esempio il DDT). Altro esempio di sostanza accumulabile è il piombo che va a sostituire il calcio nelle ossa. Attraverso il processo di accumulo il piombo è in parte sottratto alla distribuzione nel corpo, diminuendo la concentrazione al sito/organo bersaglio e quindi i potenziali effetti tossici, ma allo stesso tempo è sottratto anche ai processi di eliminazione. Ne risulta una lunga permanenza di alte concentrazioni nell'organismo che a distanza di tempo possono essere lentamente rilasciate dai siti di deposito. Il rischio rappresentato dalle sostanze accumulabili è pertanto che l'organismo continua ad essere esposto dall'interno, anche dopo che l'esposizione esterna è cessata. (National Research Council, 2003).

Sia il bioaccumulo sia la bioconcentrazione sono fenomeni complessi che dipendono dal tipo di specie, dal suo metabolismo, oltre che dalle specifiche caratteristiche chimiche dell'inquinante stesso. Il grado in cui un agente inquinante si concentra negli organismi è espresso come fattore di bioconcentrazione (BCF) che è definito come la concentrazione di un prodotto chimico nei tessuti dell'organismo diviso la concentrazione di esposizione.

Per esprimere quantitativamente il bioaccumulo si utilizzano dei fattori di accumulo come il BAF (fattore di bioaccumulo) che equivale al rapporto fra la concentrazione dell'inquinante nel biota (CB) e concentrazione totale dell'inquinante in acqua (CWT).

$$\text{BAF} = \text{CB}/\text{CWT}$$

Il fenomeno del bioaccumulo può essere rappresentato come una combinazione della bioconcentrazione (assorbimento di composti chimici inquinanti solo dall'acqua attraverso le superfici respiratorie e/o la pelle) e dell'assorbimento di inquinanti attraverso gli alimenti.

La biomagnificazione è un caso speciale di bioaccumulo in cui la concentrazione chimica della sostanza inquinante nell'organismo è maggiore rispetto alla concentrazione della stessa sostanza nell'organismo che costituisce la sua dieta. Il fattore di biomagnificazione (BMF) è il rapporto fra le concentrazioni della sostanza nell'organismo (CB) e nell'organismo dieta (CA):

$$\text{BMF} = \text{CB}/\text{CA}$$

La biomagnificazione avviene quando questo rapporto è maggiore di uno ($\text{CB}/\text{CA} > 1$). (Martini, 2010).

5.1. Biodisponibilità

La biodisponibilità è definita come la quantità di contaminante libera di essere assimilata ed è il fattore fondamentale affinché si manifesti un effetto tossico dell'inquinante sul biota. Generalmente la frazione di sostanza tossica considerata biodisponibile è per lo più quella disciolta nella fase acquosa (acqua della colonna o acqua interstiziale del sedimento), mentre quella legata al particolato è generalmente considerata non-disponibile.

Le sostanze tossiche possono essere trasformate attraverso processi abiotici e biotici e trasportate all'interno del suolo, oppure possono lasciare il suolo entrando nell'atmosfera (volatilizzazione /evaporazione) o nell'acquifero (lisciviazione).

5.2. Effetti degli inquinanti sul biota

La prima risposta di un organismo alla contaminazione consiste nell'attivazione di un meccanismo protettivo. Nella maggior parte dei casi questi meccanismi provvedono alla disintossicazione dalla sostanza inquinante, ma in alcuni casi producono sostanze attive che possono arrecare danno all'organismo. Un tipo di risposta consiste nella riduzione della sostanze inquinanti attraverso la formazione di un legame con un'altra molecola, che può provvedere all'espulsione o all'immagazzinamento (isolamento).

Insieme con i meccanismi protettivi, un organismo può anche essere in grado di riparare i danni causati dalle sostanze inquinanti.

Le sostanze inquinanti presenti nell'acqua possono avere molti effetti diversi sugli organismi: di seguito si riportano gli effetti generali che può avere una sostanza inquinante sul biota.

Genotossicità Molti composti che entrano nel corpo di un organismo sono noti per la capacità di danneggiare il DNA, e quindi i geni da questo espressi, e pertanto sono chiamate genotossine. Solitamente quando gli inquinanti danneggiano il DNA, entra in gioco un sistema di riparazione naturale dell'organismo che ripristina lo stato usuale, ma quando questo sistema non funziona per qualche motivo, le cellule con DNA danneggiato possono dividersi. Le cellule mutanti prodotte provocando dei difetti che possono essere trasmessi alla prole.

Cancerogenicità Molte sostanze inquinanti sono cancerogene, il che significa che possono indurre il cancro negli esseri umani e negli animali, agendo in una o più fasi dello sviluppo. Le sostanze inquinanti, infatti, possono funzionare da induttori, cioè possono introdurre proprietà per la formazione del cancro nelle cellule di un organismo, da promotori, cioè possono promuovere lo sviluppo di cellule dotate di proprietà di formazione del cancro, e da progressori, cioè possono stimolare la divisione e la diffusione illimitata delle cellule cancerogene. Quando questi tipi di sostanze sono assenti il cancro non può essere indotto.

Neurotossicità Il sistema nervoso degli organismi è molto sensibile agli effetti tossici dei prodotti chimici, sia naturali sia artificiali. I prodotti chimici che causano effetti neurologici sono detti neurotossine. Tutte le neurotossine disturbano in qualche modo la normale trasmissione degli impulsi lungo le fibre nervose o attraverso le sinapsi. Le conseguenze della neurotossicità sono svariate e possono manifestarsi con tremori e convulsioni muscolari non coordinate, con disfunzione dei nervi e delle trasmissioni, con annebbiamento e depressione o persino totale disfunzione di parti del corpo. La neurotossicità può essere così seria da ostruire le sinapsi. Il blocco sinaptico può causare la morte a seguito della paralisi dei muscoli del diaframma e conseguente difficoltà respiratoria.

Disturbo nel trasferimento energetico La trasformazione energetica negli organismi avviene attraverso il sistema mitocondriale nelle cellule tramite la produzione di ATP (Adenosintrifostato). Quando la produzione di ATP viene disturbata, il trasferimento energetico cessa, influenzando le capacità vitali di un organismo.

Incapacità riproduttiva Un gruppo eterogeneo di composti naturali e di sintesi, definito come "distruttori endocrini", costituiti ad esempio da alchilfenoli, DDT ed i suoi derivati o metaboliti, nonilfenolo, bisfenolo A e PCBs, pesticidi, possono interferire o distruggere, attraverso diversi meccanismi, il sistema endocrino di specie selvatiche causando effetti avversi sulla salute del singolo organismo, oppure sulla sua progenie o sull'intera popolazione. La maggior parte degli studi mostrano che gli effetti sulla riproduzione dei Pesci dovuti all'esposizione di queste sostanze sono:

- Alterata struttura delle gonadi (declino dell'indice gonadosomatico, GSI)
- Ritardato sviluppo delle gonadi
- Riduzione dei livelli plasmatici degli ormoni sessuali
- Femminizzazione (comparsa di intersex)
- Presenza di vitellogenina nel plasma dei maschi e dei giovanili
- Anomalie della fecondazione
- Mascolinizzazione delle femmine
- Ipermascolinizzazione dei maschi e comportamento aggressivo

Nei Pesci gli ormoni giocano un ruolo essenziale nello sviluppo delle gonadi e nei processi riproduttivi. Nelle aree temperate, generalmente, i Pesci hanno una riproduzione di tipo stagionale, controllata da parametri ambientali come il fotoperiodo, la temperatura, i cicli lunari e tidali (Munro *et al.*, 1990). Il ciclo riproduttivo può essere suddiviso in due principali fasi. La proliferazione, la crescita e la differenziazione dei gameti costituiscono la prima fase (vitellogenesi e spermatogenesi), mentre la maturazione finale degli oociti (FOM) e degli spermatozoi, con lo stadio di preparazione al loro rilascio (spermiazione), costituisce la seconda fase. Inoltre, è possibile riconoscere tre differenti tipologie di sviluppo dell'ovario: sincrono, sincrono a gruppi e asincrono (Wallace & Selman, 1981; Tyler & Sumpter, 1996). Nello sviluppo sincrono gli oociti arrivano a maturazione tutti contemporaneamente ed è caratteristico delle specie semelpare come il salmone del pacifico (*Oncorhynchus spp.*) e l'anguilla che si riproducono una sola volta nella vita. Nei Pesci

con sviluppo sincrono a gruppi si osservano due o più distinti gruppi di oociti a differente stadio di sviluppo nell'ovario. Infine, le specie con sviluppo dell'ovario asincrono hanno un gruppo di oociti primari e un gruppo eterogeneo di oociti in vitellogenesi; da questo ultimo, alcuni lotti sono reclutati man mano per raggiungere la maturazione finale durante la stagione riproduttiva, ad intervalli regolari o semiregolari. La distinzione tra ovario asincrono e sincrono a gruppi in grado di rilasciare più lotti è molto sottile, specialmente in quei pesci che hanno una bassa frequenza di deposizione (3-5 volte).

Effetti comportamentali Tutti i comportamenti possono subire alterazioni se l'organismo è contaminato da sostanze inquinanti, ad esempio una riduzione della vigilanza o la perdita di appetito possono aumentare la vulnerabilità ai predatori diminuendo la probabilità di sopravvivenza.

Sinergia Le sostanze inquinanti possono interagire tra loro riducendo il loro effetto chimico generale o aumentandolo, in quest'ultimo caso rendendo una sostanza inquinante ancor più pericolosa. Prendendo in considerazione i macro e i microinquinanti descritti nel precedente paragrafo, vengono riportati alcuni esempi di risposte biologiche alle diverse esposizioni.

Sostanze inorganiche. Questi composti non possono essere scissi in componenti meno nocivi poiché non sono biodegradabili. Il rischio di tossicità da metalli o metalloidi si presenta solo ad elevati valori di biodisponibilità e dopo un periodo di esposizione sufficientemente lungo (l'esposizione di *Daphnia magna* per 32 giorni ad una concentrazione di 10 ppb di cromo esavalente, ne riduce la sopravvivenza e la fecondità, US EPA, 1980). L'esposizione di *Oncorhynchus mykiss* ad elevate concentrazioni di cromo causa deformità nelle branchie, nei reni e nei tessuti stomacali a pH 7,5, mentre influisce solo sulle branchie a pH 6,5 (Van der Putte *et al.*, 1981). L'esposizione cronica determina in ogni caso effetti nocivi: i Pesci continuamente esposti a concentrazioni tossiche di piombo mostrano le problematiche tipiche dell'avvelenamento da questo metallo quali curvatura della spina dorsale, lordosi, anemia, distruzione dei neuroni spinali e dell'epitelio respiratorio, atrofia muscolare, paralisi.

Il mercurio invece esplica i suoi effetti dannosi a livello del sistema nervoso centrale e dell'apparato riproduttore. La sua tossicità è causata dalla sua affinità per i composti organici contenenti zolfo (es. proteine), con i quali forma legami covalenti che gli consentono di migrare facilmente attraverso le membrane (US EPA, 1997).

Sostanze organiche. A differenza dei composti inorganici, quelli organici, con le loro proprietà fisico-chimiche e la loro capacità di persistere nell'ambiente, possono migrare attraverso le membrane biologiche più facilmente e bioaccumulare nei tessuti lipidici dando luogo, nella maggior parte dei casi, al fenomeno della biomagnificazione. Secondo Gray (2002) il processo di biomagnificazione dei PCB è principalmente imputabile proprio al tenore lipidico degli organismi, ma soprattutto alla posizione trofica che questi hanno nella catena alimentare. Spesso esiste una conlinearità tra questi due parametri, ma è difficile rilevarne l'importanza relativa nel processo di bioaccumolo delle sostanze organiche (Kiriluk *et al.*, 1995; Kidd *et al.*, 2001; Kucklick & Baker 1998). Nel lavoro di Walters *et al.* (2008), a parità di esposizione, i Pesci hanno accumulato una quantità di PCB tra le 3 e le 5 volte maggiore di quella accumulata dai Macroinvertebrati. Moore *et al.* (1999) hanno dimostrato come specie piscivore siano esposte alla contaminazione di PCB attraverso la dieta, rilevando una riduzione del 50% della fertilità. I PCB sono inseriti da IARC (International Agency for Research on Cancer) nel gruppo dei cancerogeni probabili, cioè dei composti con evidenza di cancerogenicità limitata per l'uomo e sufficiente evidenza di cancerogenicità per l'animale. Nei Pesci bentonici è stata rilevata un'incidenza di tumori associati all'esposizione di inquinanti come IPA, PCB, DDT (APAT, 2005).

Gli effetti biologici di un'esposizione, dal livello molecolare a quello ecosistemico, sono difficilmente riconducibili all'agente inducente, a causa delle modalità di esposizione, spesso multiple e ricorrenti, dell'induzione di risposte metaboliche comuni da parte di sostanze differenti e dalla complessità dell'organizzazione biologica. (APAT, 2005).

Nella tabella seguente (Tabella 5.1) sono riportati gli effetti indotti da composti tossici e genotossici ai vari livelli dell'organizzazione biologica, descritti da Bolognesi & Venier (2003).

Tab. 5.1 Effetti biologici dati dall'esposizione a composti tossici e genotossici ai vari livelli dell'organizzazione biologica.

Livello organizzativo	Risposte biologiche indotte	Tempo di latenza	Biomarcatori
Cellula	Segnali immediati di allarme Assorbimento, distribuzione e metabolismo Alterazioni di macromolevole biologiche (DNA e proteine) e di funzioni cellulari	Secondi/minuti Ore Ore/giorni	Reazioni comportamentali Determinazione dei contaminanti e dei loro metaboliti nei liquidi biologici Danno al DNA Attività enzimatica di fase I e II
Tessuto/organo	Interferenza con i processi di detossificazione, regolazione e alterazioni funzionali	Giorni/settimane	Lesioni preneoplastiche Alterazioni riproduttive
Organismo	Alterazioni di sviluppo, crescita, riproduzione, comportamento, tempo di vita	Mesi/anni	Difetti funzionali Riduzione della vitalità Riduzione della fertilità Malformazioni Tumori e altre patologie
Popolazione	Modificazioni delle caratteristiche nella struttura (abbondanza, distribuzione) e nella sua funzionalità (adattabilità, resistenza, ...)	Anni	Dimensione e composizione Dominanza di varianti
Ecosistema	Cambiamenti strutturali e funzionali (biomassa, produttività, relazioni trofiche, ...)	Anni	Varietà e abbondanza delle specie rappresentate nella comunità biologica

6. IL BIOMONITORAGGIO

La valutazione della presenza di eventuali composti inquinanti e la conoscenza completa della condizione ecologica di un ecosistema sono condizioni assolutamente necessarie per una corretta gestione e prevenzione dei rischi legati alla salute umana e per la tutela ambientale. Le analisi chimiche effettuate sui diversi comparti abiotici (aria, acqua, sedimento) presentano lo svantaggio di fornire soltanto un dato puntiforme, sia spaziale sia temporale, alcune volte non rappresentativo dell'evoluzione della contaminazione e soggetto a notevole errore in caso di condizioni ambientali particolari. Il dato ricavato non fornisce, inoltre, alcuna indicazione sulla reale frazione di contaminazione biodisponibile, valore che può variare a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche del composto. Alcune classi di contaminanti, come i metalli pesanti ed i composti organici persistenti, sono presenti nell'ambiente spesso a concentrazioni al di sotto della soglia analitica. Mediante il cosiddetto "biomonitoraggio", che è definito come l'utilizzo di organismi per la valutazione di cambiamenti di qualità dell'acqua o dell'aria (Cairns & van der Shalie, 1980), si può invece evidenziare la frazione biodisponibile del composto ed il suo destino lungo la rete trofica. Il biomonitoraggio può essere effettuato sia con i Bioindicatori sia con i Biomarcatori (Van Gestel & Van Breummelen, 1996).

6.1. Bioindicatori

Per definizione gli indicatori sintetizzano gli attributi fisici, chimici o biologici che caratterizzano le condizioni ecologiche di un determinato ambiente.

Si possono distinguere in: indicatori fisici e chimici (es. concentrazioni di nutrienti), indicatori biologici (o bioindicatori), che riflettono la presenza, le condizioni e il numero di specie d'organismi animali e vegetali che popolano l'ecosistema considerato, e indicatori ecologici, cioè la combinazione dei precedenti due tipi di indicatori (misura o serie di misure o modelli che caratterizzano un ecosistema o una delle sue componenti critiche).

Per sintetizzare i diversi tipi d'informazione è spesso necessario ricorrere all'aggregazione (razionale o empirica) di uno o più indicatori, espressa in forma numerica da specifici "indici". Tra questi, i più noti sono (ISPRA, 2012):

- indici di diversità: riflettono in forma quantitativa la diversità delle comunità;
- indici qualitativi: basati sulla presenza/assenza di specifiche unità tassonomiche, indicative di determinate condizioni ambientali;
- indici biotici: combinano la valutazione della biodiversità con l'informazione di opportuni *taxa* guida.

Un bioindicatore per essere ritenuto efficiente deve essere:

- rilevabile;
- facilmente misurabile;
- scientificamente valido;
- sensibile a piccole variazioni di stress ambientale;
- applicabile in aree geografiche ampie e nel numero più ampio possibile di comunità e di ambienti ecologici;
- quantificabile;
- economico.

È da sottolineare che i requisiti di un buon bioindicatore variano con la natura dello stesso, con il tipo di risposta che è in grado di esprimere, con il tipo e la durata dell'alterazione ambientale che si intende rilevare.

A questo proposito, può essere utile seguire le indicazioni di USEPA: Evaluation Guidelines For Ecological Indicators (EPA, 2003) che descrivono un processo di valutazione tecnica degli indicatori ecologici composta da 4 fasi.

Ogni indicatore proposto deve infatti poter rispondere alle seguenti domande:

Fase 1 – rilevanza concettuale: l'indicatore è rilevante per la richiesta gestionale e la risorsa o funzione ecologica a rischio?

Fase 2 – fattibilità dell'applicazione: i metodi di campionamento e misura delle variabili ambientali sono tecnicamente fattibili, appropriati ed efficienti per un loro uso nell'ambito di un programma di monitoraggio?

Fase 3 – variabilità della risposta: gli errori umani di misura della variabilità naturale spaziale e temporale sono sufficientemente compresi e documentati?

Fase 4 – interpretazione ed utilizzazione: l'indicatore fornirà informazioni sulle condizioni ecologiche significative per le decisioni gestionali?

Chiaramente questo processo non intende stabilire l'accettabilità o l'efficacia di un indicatore in assoluto, ma semplicemente permette di verificare se un particolare indicatore è adatto in relazione a specifici obiettivi. Inoltre, va ricordato che l'uso dei bioindicatori, sebbene costituisca uno strumento di fondamentale importanza nel rilevare una possibile compromissione di un ambiente, nella maggior parte dei casi non è in grado di identificare precisamente ed univocamente le cause della compromissione, poiché l'ambiente solitamente è interessato da stressori multipli. Alla fase di monitoraggio, deve quindi necessariamente seguire una fase di identificazione degli stressori.

I tipi di bioindicatori, le modalità diversificate di risposta e le condizioni ambientali da rilevare permettono una vasta scelta di uso. I bioindicatori preferiti sono organismi di scarsa o nulla mobilità, selezionati in modo da avere un patrimonio genetico il più possibile uniforme per dare risposte omogenee agli stimoli ambientali. I bioindicatori nati in natura danno invece informazioni di massima che devono essere rilevate da un operatore adeguatamente addestrato, in quanto il segno di risposta potrebbe essere mascherato, esaltato o depresso dalla concomitante eventuale presenza di altre azioni più o meno occulte di stress ambientale non direttamente collegate con quella che si intende rilevare.

Ai sensi della Direttiva 2000/60/CE, la valutazione dello stato ecologico delle acque correnti deve avvenire tramite bioindicatori (microalghe, macrofite acquatiche, Macroinvertebrati bentonici, comunità ittiche).

6.1.1. Macroinvertebrati

L'uso di Macroinvertebrati per valutare la qualità delle acque dolci correnti ha avuto notevole successo e larga applicazione anche nella normativa vigente.

I Macroinvertebrati bentonici hanno una diversa sensibilità nei confronti dell'inquinamento e le variazioni nella costituzione e abbondanza delle comunità rappresentano un preciso segnale di cambiamento delle caratteristiche ambientali.

L'uso dei Macroinvertebrati come indicatori è favorito da una serie di caratteristiche che li rendono adatti a questo scopo:

- elevata sensibilità all'inquinamento e capacità di reagire tempestivamente ai suoi effetti;
- buona conoscenza degli adattamenti morfologici e fisiologici di numerose specie rispetto all'ambiente in cui vivono;
- presenza di lunghi cicli vitali in numerosi taxa che consente di vincolarli alla continuità delle condizioni ambientali, di conseguenza la loro scomparsa è facilmente imputabile a condizioni di stress;
- sufficiente stabilità di molti taxa, sui substrati in cui essi vivono, e quindi capacità di riflettere con immediatezza le condizioni di qualità delle acque e dei sedimenti;
- facilità di raccolta rispetto ad altri gruppi e identificazione accessibile anche a occhio nudo;
- come cibo preferenziale per i Pesci, costituiscono una componente fondamentale della catena alimentare dei fiumi e degli ambienti ad essi limitrofi, nelle varie forme del ciclo biologico.

Il metodo di monitoraggio biologico fino ad oggi più utilizzato in Italia è stato l'Indice Biotico Esteso (IBE), che è stato adottato verso la fine degli anni '70, nella sua versione originale elaborata da Woodwiss (1978) e adattata alla realtà italiana da Ghetti & Bonazzi (1981). A partire da tale periodo, si sono moltiplicate le esperienze di applicazione del metodo, che hanno consentito di affinarlo e adattarlo sempre più alla realtà italiana, fino ad essere universalmente riconosciuto con l'attuale acronimo (Ghetti, 1997). Nell'ambito della sperimentazione dei nuovi criteri definiti dalla WDF, nasce la proposta di un nuovo metodo di monitoraggio delle acque correnti in Italia (Buffagni & Erba, 2007), con l'intenzione di rispondere alle esigenze dettate dalla normativa europea, sia in merito alla registrazione delle abbondanze degli individui raccolti, sia in merito alla "standardizzazione" della procedura. Il metodo proposto da Buffagni, denominato MacrOper, si basa sull'uso dell'indice Star_ICMi e sulla procedura di campionamento multihabitat originariamente proposta negli Stati Uniti per il "Rapid Bioassessment Protocol" (Barbour *et al.*, 1999).

6.1.2. Pesci

Lo studio delle comunità ittiche, come per le macrofite e le alghe, solo di recente è stato utilizzato ai fini della valutazione dello stato ecologico dei corpi idrici fluviali: tradizionalmente era orientato a scopi gestionali, con monitoraggi finalizzati a valutare la distribuzione e la consistenza delle specie di interesse alienico ai fini della pianificazione dei prelievi e ripopolamenti, soprattutto mediante la redazione di Carte Ittiche. Solo nell'ultimo decennio sono stati proposti indici formalizzati finalizzati alla valutazione dello stato della comunità, quali l'Indice Ittico (Forneris *et al.*, 2007), l'EFI+ (EFI+ Consortium, 2009), anche attraverso approcci basati sull'uso di reti neurali FIDESS (Scardi *et al.*, 2007).

L'Indice di Stato Ecologico per la Comunità Ittica (ISECI), nella sua ultima versione (Zerunian *et al.*, 2009) è stato adattato alle richieste della WFD ed è stato individuato dalla normativa italiana come metodo ufficiale per la fauna ittica fluviale (DECRETO MATTM 260/2010). E' nato come un indice di tipo naturalistico, mirato a valutare la comunità ittica non solo per le funzioni ecosistemiche da essa svolte, ma anche dal punto di vista della naturalità e della coerenza ecologica.

I Pesci possono rappresentare un "sistema di allarme precoce" di danni ambientali per diverse ragioni:

- integrano gli effetti di un'ampia varietà di disturbi ambientali, con risposte a diversi livelli dell'organizzazione biologica, da quello molecolare a quello di comunità;
- evidenziano relazioni tra le risposte individuali di organismi esposti ad inquinanti e gli effetti a livello di popolazione;
- costituiscono un sistema di biondificazione di potenziali rischi per la salute umana e un sistema di verifica dell'efficienza d'interventi di riqualificazione degli ambienti acquatici.

Le popolazioni e comunità ittiche sono indicatori nella valutazione del degrado ambientale anche perché integrano gli effetti di fattori di alterazione ambientale sulle altre componenti dell'ecosistema acquatico, in virtù della loro dipendenza da queste per la sopravvivenza, la crescita o la riproduzione. (Tancioni *et al.*, 2006).

Inoltre, poiché molte specie hanno una vita relativamente lunga, lo studio a livello di popolazioni e comunità può costituire una documentazione a lungo termine dello stress ambientale. Gli studi delle popolazioni e delle comunità ittiche di un fiume ricoprono quindi un ruolo fondamentale per la valutazione dello stato di integrità ecologica dei sistemi lotici, in quanto rappresentano delle componenti biotiche sensibili sia all'inquinamento delle acque sia al degrado delle caratteristiche morfologiche, idrauliche ed idrodinamiche.

Le caratteristiche ecologiche-evolutive che ne rappresentano i punti di forza per il proprio utilizzo nelle valutazioni ambientali sono:

- lunga storia evolutiva;
- ampio spettro adattativo;
- colonizzazione di tutti gli ambienti acquatici
- tra i Pesci, i Teleostei rappresentano i più moderni abitanti dei sistemi acquatici continentali.

6.2 Biomarcatori

Un biomarcatore permette di misurare una variazione indotta da un composto tossico o da altro fattore di stress in componenti o processi biochimici, cellulari, strutturali o funzionali, valutabile in un sistema biologico e rilevante per il problema studiato" (Bolognesi & Venier, 2003).

I biomarcatori consentono di analizzare nel tempo ed in modo quantitativo l'effetto dell'inquinante sugli organismi esposti, di effettuare indagini comparative in habitat differenti fornendo, a seconda del tipo prescelto, preziose indicazioni sul livello di esposizione, sulla associazione fra l'esposizione e la risposta biologica o su un futuro effetto e sulla suscettibilità a breve e a lungo termine. Da un punto di vista sia etico sia di efficienza è molto importante ricercare, caratterizzare, validare e utilizzare biomarcatori non distruttivi quali la misurazione di specifiche attività enzimatiche o il dosaggio di molecole rilevabili in sangue, feci, biopsie e prelievi muco-cutanei per raccogliere informazioni ripetute nel tempo, senza sacrificare gli organismi bioindicatori (Ministero Ambiente, 2010).

La rilevazione precoce di una contaminazione può aiutare ad evitare che l'eventuale danno possa estendersi anche a livelli superiori dell'organizzazione biologica (Munkittrick e McCarthy, 1995). Nel caso di uno screening ambientale, i biomarker dovrebbero servire per compiere un'indagine preliminare (sistemi di "early warning") volta a mettere in evidenza la presenza di una sostanza xenobiotica e poter prevedere l'impatto che questa potrebbe avere sull'ambiente, utilizzandone eventualmente una "batteria" nel caso non si conosca esattamente il tipo di contaminazione (Paynem *et al.*, 1987).

Per la valutazione degli effetti biologici di agenti genotossici in organismi acquatici è utilizzato un approccio di biomonitoraggio simile a quello impiegato per le popolazioni umane e che consiste nella individuazione di biomarcatori di esposizione, di effetto e di suscettibilità (APAT, 2005):

- i biomarcatori di esposizione indicano un'esposizione dell'organismo a dei composti chimici, senza fornire informazioni in merito all'intensità dell'effetto prodotto;
- i biomarcatori di effetto, chiamati anche biomarcatori di risposta, sono invece la conseguenza dell'esposizione e possono spaziare da alterazioni a livello di un bersaglio critico fino a cambiamenti tardivi, progressivi ed effetti patologici importanti;
- i biomarcatori di suscettibilità sono impiegati per identificare organismi con maggior probabilità di un effetto avverso a causa della variabilità individuale.

Inoltre l'utilizzo dei biomarcatori è diverso a seconda se l'analisi sia di tipo distruttivo, cioè preveda il sacrificio degli animali, o non distruttivo se sono utilizzati sangue, penne, feci, pelle. Solo in questo secondo caso si ha il vantaggio di poter ripetere le determinazioni sullo stesso organismo a distanza di tempo.

Tra i biomarker finora utilizzati in campo ambientale copre una posizione di rilievo la misura dell'inibizione dell'attività

dell'acetilcolinesterasi (AChE), un enzima presente nel tessuto nervoso di tutti i gruppi animali che catalizza l'idrolisi del neurotrasmettitore acetilcolina. E' noto che alcuni pesticidi come gli organofosforati ed i carbammati, utilizzati su larga scala, hanno un'azione inibitoria nei confronti dell'acetilcolinesterasi. I composti organofosforati sono stati utilizzati in diversi campi come pesticidi, lubrificanti, additivi nei carburanti ed anche come agenti chimici impiegati in diversi conflitti (Ehrich, 1998), mentre i carbammati sono usati principalmente come insetticidi (Fukuto, 1987). Un altro metodo impiegato in molti programmi di monitoraggio ambientale consiste nella valutazione dell'induzione dell'attività delle monossigenasi epatiche a funzione mista (MFO), sensibile alla presenza di composti xenobiotici nell'ambiente. In particolare, è utilizzata la famiglia di enzimi appartenenti al citocromo P450, probabilmente diffusa in tutto il regno animale, inclusi gli invertebrati (Snyder, 2000). Il citocromo P450 ha un ruolo importante nel metabolizzare i composti inquinanti come gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) ed altri composti quali alcuni congeneri di PCB, diossine ed furani (Bosveld & Berg, 2002). Tali composti, legandosi al recettore Ah, stimolano la sintesi delle proteine appartenenti alla superfamiglia CYP1A, responsabili dei processi di detossificazione (Hestermann *et al.*, 2000).

Metodi di valutazione in fase di sperimentazione prevedono l'utilizzo di organismi più complessi, come i Pesci, che presentano dinamiche biochimiche e cellulari molto più simili a quelle umane e che possono essere utilizzati, sia in situ sia ex situ (Tancioni *et al.*, 2005; Tancioni *et al.*, 2015). Inoltre, questi organismi possono consentire una lettura integrata delle risposte a stress ambientali a diversi livelli dell'organizzazione biologica, come per esempio attraverso l'analisi dei tessuti gonadici per valutare l'impatto sul biota e sulla salute umana generato dalla presenza nell'ambiente di determinate sostanze come i cosiddetti distruttori endocrini (*Endocrine Disruptors*), gli alchifenoli, i DDT ed i suoi derivati o metaboliti, i PCBs, i pesticidi (Brunner *et al.*, 1985).

Lo studio e la ricerca di test genotossici e di biomarcatori capaci di fornire risposte precoci e dirette per i danni causati da composti xenobiotici ai diversi organismi sono diventati prioritari. In quest'ottica assume un ruolo chiave la messa a punto di metodi standardizzati come nel caso del Test del Micronucleo (MN). Questo test è facilmente applicabile, non implica l'allestimento di colture cellulari, è indipendente dal numero di cromosomi della specie, non presenta eccessive difficoltà di riconoscimento al microscopio ed è di facile e rapida esecuzione (Lemos *et al.*, 2007). Il primo tentativo di conteggio dei micronuclei è stato sviluppato da Evans nel 1959 per misurare il danno indotto dai neutroni veloci e dai raggi gamma sugli apici radicali di *Vicia faba*. Lemos rilevò che le rotture cromatidiche e cromosomiche, come anche gli scambi simmetrici e asimmetrici, potevano dare origine a frammenti acentrici e che quest'ultimi in alcuni casi erano espulsi dai nuclei delle cellule figlie, comparando nel citoplasma come micronuclei nella successiva interfase. Tra il 1973 e il 1975 è stato sviluppato il metodo definito appunto "*Micronucleus Test*" consistente nel conteggio dei micronuclei in eritroblasti policromatici estratti dal midollo osseo dei mammiferi. Nei Pesci sono stati impiegati anche tessuti differenti, quali branchie, reni e fegato (Al-Sabti & Metcalfe, 1995; Arkhipchuk & Garanko, 2005). Numerosi studi hanno dimostrato che gli eritrociti del sangue periferico dei Pesci presentano un'elevata incidenza di MN dopo esposizione a molti inquinanti ambientali, sia per esposizione diretta (immersione) ad agenti mutageni (Rodriguez-Cea *et al.*, 2003; Kamlesh & Sunil, 2009, rispettivamente in relazione al cadmio e al mercurio) sia per indagini in situ (è stata dimostrata l'incidenza dell'aumento nella frequenza di MN in acque influenzate da scarichi di industrie petrolchimiche, fabbriche di armamenti, concerie e contaminazioni da mercurio (Lemos *et al.*, 2007; Ayllón *et al.*, 2000; Nagpure *et al.*, 2015, Porto *et al.*, 2005). Alcuni autori, come Rodriguez-Cea *et al.* (2003) hanno valutato la sensibilità delle diverse specie d'acqua dolce al test per la stima del danno genotossico, al fine di valutarne l'applicabilità negli studi sul campo. In letteratura è emersa un'evidente variabilità intra e interspecifica nella frequenza di MN, in particolare della frequenza basale, presumibilmente causata anche dalla mancanza di criteri uniformi di analisi nella lettura (Bolognesi *et al.*, 2006).

Un estensivo utilizzo dei biomarcatori potrebbe apportare vantaggi notevoli per la salvaguardia dell'ambiente e della salute umana.

7. LA CONTAMINAZIONE DELL'AREA INDUSTRIALE DI BUSSI OFFICINE (PE) - CONSULENZA TECNICA PER LA PROCURA DELLA REPUBBLICA DEL TRIBUNALE DI PESCARA (Di Molfetta & Fracassi)

Il polo industriale di Bussi Officine si trova a valle dell'abitato di Bussi sul Tirino, lungo le sponde del fiume omonimo, poco a monte della sua confluenza con il fiume Pescara.

Prescindendo dai danni creati dagli insediamenti industriali, il sito avrebbe una vocazione ambientale di particolare pregio, essendo collocato al confine tra il Parco Nazionale del Gran Sasso e Monti della Laga a Nord e il Parco Nazionale della Maiella a Sud (Figura 7.1.)

Figura 7.1. Inquadramento geografico dell'area



La zona è ricca d'acqua per la presenza di numerose sorgenti, oltre che dei due corsi d'acqua citati. Poco più di 2 km a valle del sito industriale, nelle Gole di Popoli, è ubicato il campo pozzi di Colle S. Angelo che contribuisce all'approvvigionamento idropotabile dei comuni della Val Pescara, compreso l'omonimo capoluogo.

Furono proprio l'abbondanza di acqua e la disponibilità di energia elettrica, oltre alla vicinanza della ferrovia, che favorirono agli inizi del '900 la nascita del primo insediamento industriale con l'impianto di elettrolisi del cloruro di sodio, primo in Italia, per la produzione di soda caustica, ipoclorito di sodio e acido cloridrico.

Nel sito si svilupparono una serie di aziende che vennero progressivamente acquisite dalla Montecatini nel periodo che va dal 1928 al 1931.

Durante la seconda guerra mondiale gli stabilimenti di Bussi vennero militarizzati e resi organizzativamente dipendenti dal Ministero della Difesa, che potenziò tutte le produzioni funzionali alla realizzazione di esplosivi e di altri prodotti bellici, tra cui la famigerata yprite.

Il periodo post-bellico, caratterizzato dall'avvento della Petrolchimica a danno della Carbochimica, rappresenta un periodo di stasi nello sviluppo del polo industriale, che poi riprende agli inizi degli anni '60 con il "miracolo economico" italiano e l'avvio dell'impianto clorometani (brevetto Montecatini), utile per smaltire il cloro derivante dalla elettrolisi del cloruro di sodio.

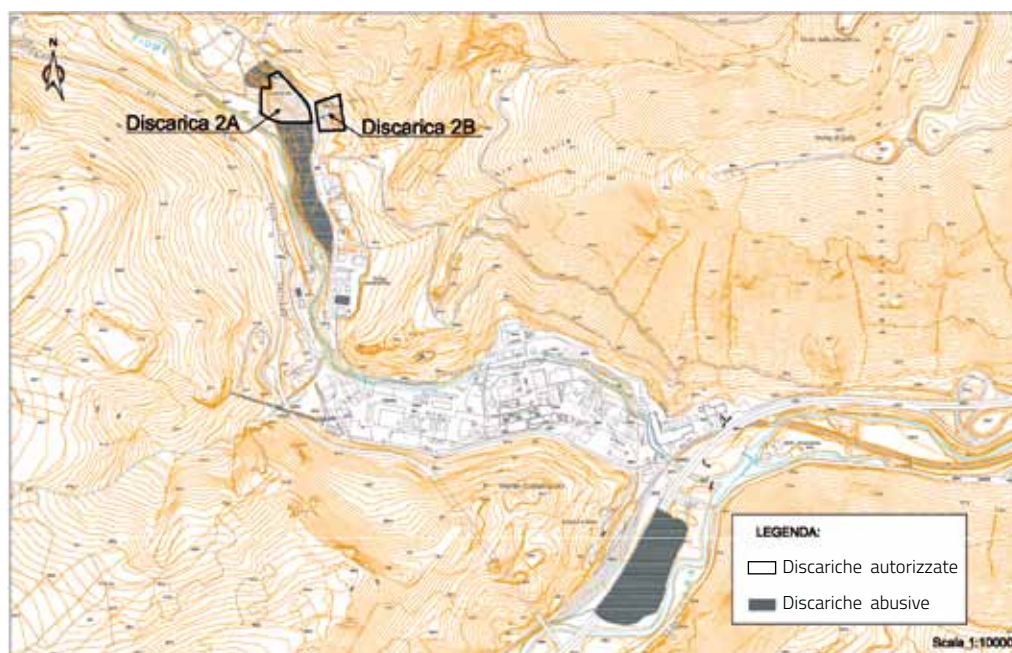
Nel marzo 1966 lo stabilimento di Bussi entra a far parte della Montecatini-Edison, poi Montedison. Nel 1968 viene avviato l'impianto di produzione dell'acqua ossigenata, che si svilupperà nel tempo passando dalle 3.000 t del 1968

alle 39.000 t del 1990. Gli anni '80 sono contrassegnati da una sostanziale continuità con lievi continui incrementi dei quantitativi delle produzioni storiche: Soda Caustica, Ipoclorito, Acqua Ossigenata, Clorometani, Acido Cloridrico, Perborato di Sodio, Cloruro Ammonico, mentre una decisa crescita conosce l'impianto degli antidetonanti per le benzine. Nel periodo 1985-90 la Montedison è interessata da un pesante conflitto per il suo controllo, è riorganizzata dando vita a diverse società di settore: Montedipe, Montefibre, Himont, Ausimont, che controlla la MonteFluos, società che, nel panorama chimico della Capogruppo, è attiva e tende al ruolo di leader nella chimica del Fluoro, curando anche la chimica dei Perossidi Inorganici. A seguito di varie disavventure gestionali, a fine 2001, SOLVAY sollecita la prelazione per l'acquisto dell'intera Ausimont, acquisto che viene perfezionato l'1 maggio 2002 con il passaggio nel gruppo Solvay della fabbrica di Bussi, ad esclusione degli impianti acqua ossigenata e persali, unitamente alle fabbriche di Spinetta Marengo e Porto Marghera. Dall'1 gennaio 2003 Solvay si trasforma in Solvay Solexis. Nel gennaio 2005 è fondata Solvay Chimica Bussi S.p.A., spin off della Solvay Solexis. Lo società di spin off è proprietaria degli impianti e dell'attività produttiva mentre la proprietà del sito resta in capo a Solvay Solexis. Attualmente, presso il polo di Bussi, sul sito di proprietà di Solvay Solexis, in aggiunta a SOLVAY Chimica Bussi, sono insediate le seguenti aziende:

- DEGUSSA MEDAVOX, che produce acqua ossigenata e percarbonato sodico. In precedenza al posto del percarbonato produceva perborato ($\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).
- SILISIAMONT, che produce biossido di silicio.
- NEW ISAGRO PLANT, che produce il tetraclorazone, un principio attivo per prodotti in agricoltura. In precedenza su quest'area vi era la SIAC (sempre del gruppo Ausimont) dedita alla produzione di antidetonanti per le benzine (piombo tetraetile e piombo tetrametile). SIAC ha cessato l'attività nel 1990 ed è stata demolita dal 1995 al 1997.

All'interno del sito industriale, idrogeologicamente a monte dello stabilimento Solvay, sono ubicate due discariche autorizzate di tipo 2A e 2B (Figura 7.2). Nel corso delle indagini a cura del Corpo Forestale dello Stato, è emerso che anche aree limitrofe alla discarica 2A (per soli materiali inerti) si presentavano contaminate da rifiuti non inerti e contenenti prevalentemente piombo e mercurio. Inoltre in località "Tre Monti", nei pressi della stazione ferroviaria di Bussi, è stata individuata un'altra area contaminata ed interessata dall'abbandono di rifiuti organici clorurati.

Figura 7.2. Discariche autorizzate e non autorizzate



Nel 2004 la Regione Abruzzo ha affidato ad ARTA un programma di monitoraggio delle acque sotterranee durante il quale furono rilevate concentrazioni di inquinanti organici clorurati superiori ai limiti massimi previsti per i siti inquinati dal D.M. 471/99. In un caso vi era anche il superamento dei valori di tetracloroetilene dell'allegato I al D. Lgs 31/01,

relativo alle acque potabili. I prelievi erano riferiti agli 8 pozzi del cosiddetto "Campo Sant'Angelo" situato nei comuni di Castiglione a Casauria e Tocco da Casauria, le cui acque erano miscelate con quelle provenienti dall'Acquedotto "Giardino" e distribuite per uso potabile in vari comuni della valle del Pescara dalla Azienda Comprensoriale Acquedottistica (ACA).

A seguito dei risultati delle analisi, anche su invito del Corpo Forestale di Pescara, sono stati effettuati altri accertamenti da ARTA, da ACA, dal WWF, da alcuni cittadini e dal Sindaco di Torre de' Passeri ed è iniziata una lunga diatriba sulla possibilità che acque inquinate, ma conformi ai parametri previsti ai fini della potabilità, potessero essere destinate al consumo umano. Le indagini e le attività di accertamento svolte sia dagli inquirenti (Pubblico Ministero e Corpo Forestale dello Stato), sia dagli enti pubblici e privati interessati alla vicenda (ARTA, ACA, ATO n. 4, Commissario Straordinario per l'emergenza, Solvay-Solexis, etc.) si svilupparono quindi su due filoni paralleli: l'accertamento e lo studio della contaminazione delle matrici ambientali e la possibilità di immettere nell'acquedotto pubblico acqua inquinata in miscela con altra acqua non contaminata. In effetti, nonostante le sostanze inquinanti presenti fossero pericolosissime per l'uomo, ACA ha continuato a destinare al consumo umano le acque dei pozzi in quanto i successivi accertamenti di ARTA (ripetuti in data 28/12/04, 19/1/05), evidenziavano solo il superamento dei limiti di cui al D. Lgs 152/06 (o D.M. 471/99) e non del D. Lgs 31/01.

La classificazione tossicologica dei composti per i quali sono stati verificati dei superi dei limiti di legge imposti dal D.Lgs 152/06 (o dalle integrazioni introdotte dall'Istituto Superiore della Sanità) in una delle matrici ambientali analizzate è riportata nella Tabella 7.1. In particolare, la tabella citata contiene la classificazione della sostanza così come riportato nella Direttiva 92/32/CEE e la classificazione dell'eventuale cancerogenicità secondo l'Environmental Protection Agency (EPA).

Tabella 7.1. Classificazione tossicologica dei parametri che superano i limiti del D.Lgs 152/06 (o i valori limite proposti dall'Istituto Superiore della Sanità) nei terreni e/o nelle acque di falda.

* Valore limite proposto dall'ISS (2000-2001) (1) Idrogeno arseniato di piombo Cat. 1 / Altri composti del piombo Cat. 3 (2) Classificazione riportata nell'allegato I della Direttiva 92/32/CEE e s.m.i. (3) numero indice

Composti inorganici	Limite D.Lgs 152/06 e integrazioni per siti ad uso industriale [mg/kg]	Classificazione europea della sostanza (2)	Cancerogenità della sostanza Classe EPA
Cromo totale	800	Cancerogeno Cat. 2 Pericoloso per l'ambiente	-
Vanadio	250	-	-
Mercurio	5	Tossico Pericoloso per l'ambiente	D
Piombo Totale	1000	Cancerogeno Cat. 1/3(1)	B2
Rame	600	-	D
Aromatici policiclici			
Fenantrene	* 50	Cancerogeno Cat. 2	D
Fluorantene	* 50	-	D
Pirene	50	-	D
Benzo (a) Antracene	10	Cancerogeno Cat. 2 Pericoloso per l'ambiente	B2
Crisene	50	Cancerogeno Cat. 2 Mutageno Cat. 3 Pericoloso per l'ambiente	B2 B2
Benzo (a) Pirene	10	Cancerogeno Cat. 2 Mutageno Cat. 2 Tossico per il ciclo Riproduttivo Cat. 2 Pericoloso per l'ambiente	B2
Benzo (k) fluorantene	10	Cancerogeno Cat. 2 Pericoloso per l'ambiente	B2
Indeno (1,2,3-c,d) Pirene	5	-	B2
Benzo (a,h) Antracene		Cancerogeno Cat. 2 Pericoloso per l'ambiente	B2

Composti inorganici	Limite D.Lgs 152/06 e integrazioni per siti ad uso industriale [mg/kg]	Classificazione europea della sostanza (2)	Cancerogenicità della sostanza Classe EPA
Benzo (g,h,i) Perilene	10	-	D
Dibenzo (a,l) Pirene	10	-	-
Alifatici clorurati cancerogeni			
Diclorometano	5	Cancerogeno Cat. 3	B2
Tetracloroetilene	20	Cancerogeno Cat. 3 Pericoloso per l'ambiente	B2
Tricloroetilene	10	Cancerogeno Cat. 2 Mutageno Cat. 3 Irritante	B2
Triclorometano (cloroformio)	5	Nocivo Irritante Cancerogeno Cat. 3	B2
Cloruro di vinile	0,1	Altamente infiammabile Cancerogeno Cat. 1	A
Alifatici clorurati non cancerogeni			
1,1,2,2 Tetracloroetano	10	Molto Tossico Pericoloso per l'ambiente	C
Esaclorobutadiene	* 10	-	C
Alifatici alogenati cancerogeni			
Tetraclorometano	* 5	Cancerogeno Cat. 3 Tossico Pericoloso per l'ambiente	
Esacloroetano	* 10	-	C
Piombo Tetraetile	* 0,068	-	-

Dopo aver visionato tutti risultati delle analisi, anche di quelle ripetute, sulle acque superficiali, sulle acque di falda e sul terreno, le principali conclusioni della consulenza tecnica sulla contaminazione possono essere schematicamente riassunte come di seguito riportato:

- l'intero sito industriale e l'area individuata in prossimità della stazione ferroviaria di Bussi (zona Tre Monti) sono pesantemente contaminate da composti organici clorurati, mercurio, piombo ed idrocarburi policiclici aromatici;
- le sostanze organiche clorurate sono prevalenti nell'area in zona Tre Monti, mentre piombo e mercurio sono stati rinvenuti in maniera ubiquitaria in tutte le aree esaminate;
- la contaminazione, in modo particolare nella zona Tre Monti e nella discarica 2A, è dovuta all'irregolare smaltimento di rifiuti pericolosi;
- nella discarica 2A, che dovrebbe contenere solo rifiuti inerti, sono invece stati smaltiti anche rifiuti pericolosi contenenti composti organoalogenati, mercurio e piombo;
- sia la falda superficiale sia la falda profonda sino a 100 m dal p.c. risultano contaminate da sostanze organiche clorurate all'interno ed a valle del sito industriale. A monte dello stesso, invece, l'acqua risulta non contaminata. La falda sottostante il campo pozzi di Colle Sant'Angelo risulta contaminata da sostanze organiche clorurate della stessa natura di quelle che contaminano suolo-sottosuolo e acque sotterranee all'interno ed all'esterno del sito industriale di Bussi. Fortunatamente, l'entità della contaminazione è minore per gli ovvi fenomeni di attenuazione naturale (diluizione, dispersione, adsorbimento e degradazione);
- i contaminanti più pericolosi presenti nelle acque e nei suoli sono classificabili come:
 - sostanze note per gli effetti cancerogeni sull'uomo (cloruro di vinile);
 - sostanze che dovrebbero considerarsi cancerogene per l'uomo (tricloroetilene, alcuni IPA);
 - sostanze da considerare con sospetto per i possibili effetti cancerogeni sull'uomo (tetracloroetilene, tricloroetano, tetraclorometano, piombo, etc.);
 - sostanze tossiche, pericolose per l'ambiente (mercurio).
- la barriera idraulica realizzata per la messa in sicurezza d'emergenza della falda superficiale non è risultata efficace in quanto non impedisce la diffusione degli inquinanti;

- nessun intervento (messa in sicurezza d'emergenza o misure di prevenzione) è stato attuato sull'acquifero profondo, che fino all'ottobre 2007 non era stato neppure caratterizzato;
- a valle della confluenza dei fiumi Tirino-Pescara anche le acque superficiali risultano contaminate da composti organici clorurati;
- anche per ammissione della stessa Ausimont, non vi è alcun dubbio che i principali contaminanti rivenuti nelle varie matrici ambientali (sostanze organiche clorate, mercurio e piombo) siano connessi con le varie attività produttive, attuali e passate, del sito industriale;
- l'acqua dei pozzi di campo Colle Sant'Angelo è stata ed è destinata ad uso potabile (immessa nell'acquedotto pubblico in miscela con acqua di altra provenienza) nonostante contaminata da sostanze organiche clorate oltre i limiti per i siti inquinati di cui al D.Lgs 152/06 o D.M. 471/99 e soprattutto a volte oltre i limiti massimi previsti dal D.Lgs 31/01;
- nella documentazione esaminata non sono stati riscontrati referti analitici ufficiali (ARTA) in cui i limiti del D.Lgs 31/01 siano stati superati per campioni prelevati ai punti di utilizzo dell'acqua potabile. Sono spesso presenti contaminanti non derivanti dalle operazioni di disinfezione e non contemplati dal D.Lgs 31/01, ma chiaramente riconducibili a quelli che contaminano la falda sottostante il campo Colle Sant'Angelo.

8. OBIETTIVI

Questo studio ha lo scopo di sviluppare un sistema di analisi integrata per la valutazione dello stato di salute di un'ecosistema fluviale, mediante l'utilizzo dei Pesci come bioindicatori e biomarkers.

Lo studio si basa su un approccio olistico che consideri diversi livelli dell'organizzazione biologica, al fine di identificare un sistema integrato di "allarme precoce" per la valutazione del rischio sulla salute umana e sull'ambiente.

La sperimentazione è stata effettuata su un tratto del fiume Aterno-Pescara, da Molina Stazione (AQ) a Manoppello (PE), che attraversa il Sito di Interesse Nazionale (SIN) di Bussi Officine, Piano d'Orta e Alanno (PE).

L'approccio olistico ha utilizzato la comunità ittica come principale modello di riferimento.

Le attività svolte sono state le seguenti:

- Determinazione dell'Indice di Funzionalità Fluviale (IFF)
- Analisi della comunità macrobentonica
- Caratterizzazione ecologica del corso d'acqua mediante i popolamenti ittici
- Test di genotossicità del Micronucleo sugli eritrociti dei Pesci
- Valutazione dello stato riproduttivo dei Pesci
- Analisi dei contaminanti ambientali nei Macroinvertebrati
- Analisi dei contaminanti ambientali in tessuti dei Pesci.

9. MATERIALI E METODI

9.1 Area di studio

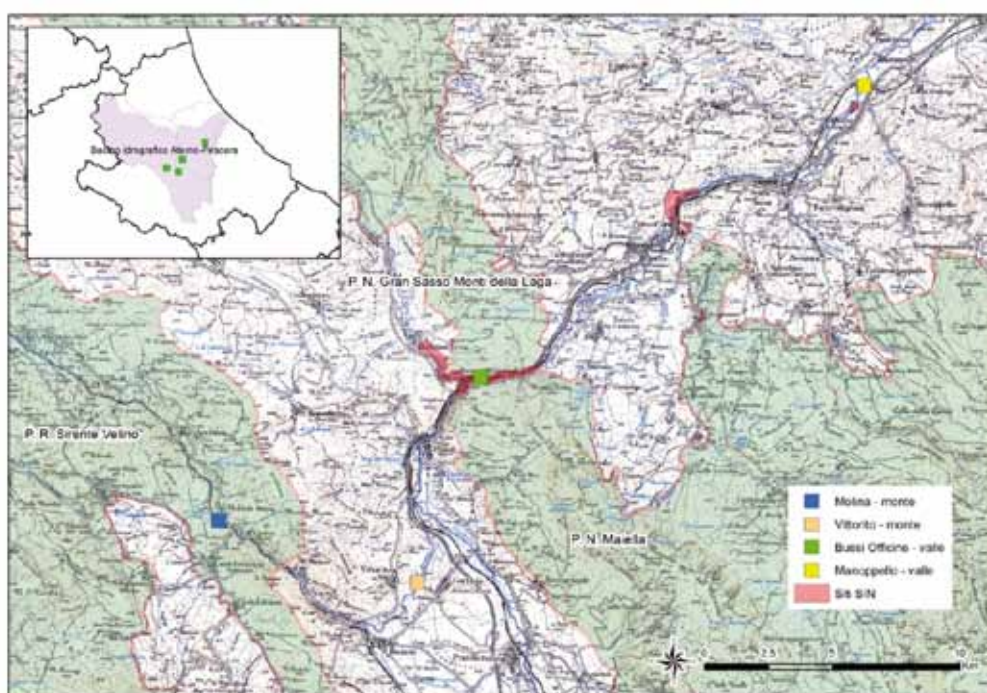
L'area indagata, tra Molina (AQ) e Manoppello (PE), è all'interno del bacino idrografico dell'Aterno-Pescara. Nel territorio adiacente la confluenza del Tirino nel Pescara è presente il SIN - Bussi sul Tirino (Bussi Officine), istituito e perimetrato con Decreto del Ministro dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare del 29 maggio 2008. Oltre al sito di Bussi Officine sono stati individuati altri due siti contaminati: uno a valle di Piano d'Orta e l'altro a valle di Alanno (Figura 8.1).

A valle di Molina il fiume Aterno scorre ripido e incassato nelle aspre Gole di San Venanzio (Riserva Naturale) fino a raggiungere la piana di Raiano, quindi prosegue fino all'abitato di Popoli, nei pressi del confine tra le Province de L'Aquila e quella di Pescara, ricevendo, in destra idrografica, il fiume Sagittario, suo principale affluente, che a sua volta ha ricevuto le acque del fiume Gizio e del fiume Vella. Il fiume Aterno, mentre scorre nell'abitato di Popoli, riceve le acque del fiume Pescara e ne prende il nome. Il Pescara nasce dall'omonima sorgente (tutelata da una Riserva Naturale)

poco a monte di Popoli. Dopo pochi chilometri, nel raggiungere le gole di Popoli, il Pescara riceve le acque del fiume Tirino dalla conca di Capestrano. A ridosso di questa confluenza è situato il polo chimico-industriale di Bussi Officine, indicato come il nucleo del sito ad elevato rischio ambientale che si estende nell'area con un raggio di alcuni chilometri. Lungo l'asta fluviale qui descritta, a seguito di sopralluoghi preliminari, sono stati identificati i tratti da indagare in funzione della possibile influenza del sito contaminato. Sono state rilevate due macroaree: una a monte e l'altra a valle del nucleo industriale di Bussi Officine.

Nell'area a monte sono stati individuati due siti di campionamento: il primo, il più a monte, presso la Stazione di Molina (42,142357° N - 013,740932° E), il secondo in prossimità del ponte della strada che dalla SS 5 da Corfinio porta a Vittorito (AQ) (42,124847° N - 013,828947° E). A valle del nucleo industriale di Bussi Officine sono stati identificati altri due siti di campionamento: il primo in prossimità della derivazione dell'ENEL (primo salto del Pescara) (42,196381° N - 013,856339° E) e l'altro, a valle, presso il ponte della strada che da Manoppello Scalo (PE) porta alla SP84, verso Rosciano (PE) (42,304121° N - 014,039625° E) (Fig.9.1).

Figura 9.1 Siti di campionamento lungo l'asta fluviale del fiume Aterno-Pescara.



9.2 Indice di Funzionalità Fluviale (IFF)

Quando si parla di Indice di Funzionalità Fluviale (IFF) si fa riferimento alla caratterizzazione degli ecosistemi acquatici, intesi come sistemi complessi, descrivibili attraverso un insieme di parametri biotici ed abiotici. La funzionalità di un fiume non riflette soltanto la sua naturalità, ma anche un vasto insieme di diversità ambientale, come la presenza di numerosi microhabitat per la fauna ittica, la struttura della comunità dei Macroinvertebrati e delle macrofite presenti nel fiume, l'efficienza del processo di demolizione del detrito. L'ecotono ripario, cioè l'insieme degli habitat di transizione in prossimità delle sponde, è considerato come un elemento che influisce in modo significativo sulla qualità del corso d'acqua perché evidenzia le relazioni con il territorio circostante.

Di conseguenza, l'Indice di Funzionalità Fluviale consente di esprimere la valutazione dello stato complessivo dell'ecosistema fluviale e della sua funzionalità.

Una volta individuato il sito di campionamento rappresentativo per lo studio, a seguito di un accurato sopralluogo, è stato individuato un tratto omogeneo dal punto di vista fisico-morfologico. Per evitare di considerare come omogenei tratti molto brevi, per convenzione è stato utilizzato come tratto minimo rilevabile (TMR) una unità di lunghezza stabilita in base alla larghezza dell'alveo di morbida in un rapporto variabile tra 1:10 e 1:20 (APAT, 2007).

Per ogni tratto è stato compilato un questionario (Fig. 9.2) composto da 14 domande, per ognuna delle quali sono previste quattro risposte predefinite, alle quali sono assegnati punteggi opportunamente pesati (minimo 1, massimo 30), raggruppati in 4 classi che esprimono le differenze funzionali delle singole risposte. Il questionario è stato riempito percorrendo il corso d'acqua in direzione della sorgente.

Le domande riguardano le principali caratteristiche ecologiche di un ecosistema fluviale e sono organizzate in diversi gruppi funzionali. In particolare, la scheda permette di prendere in considerazione i seguenti aspetti:

- lo stato del territorio circostante il corso d'acqua e la composizione, l'ampiezza e la continuità della vegetazione ripariale (domande 1-4), per le informazioni che questi elementi forniscono circa:
 - la funzionalità della fascia tampone (rimozione dei nutrienti e filtro per sedimenti);
 - il consolidamento delle sponde e la protezione dalle alluvioni;
 - l'apporto trofico (foglie e rami);
 - la regolazione della temperatura (ombreggiamento);
 - la presenza di habitat lungo il corridoio fluviale;
- l'ampiezza dell'alveo bagnato relativamente all'alveo di morbida e alla struttura fisica e morfologica delle rive, per le informazioni che esse forniscono sulle caratteristiche idrauliche del fiume e, in particolare, sull'efficienza e sulla stabilità di colonizzazione dell'alveo (domande 5-6);
- la struttura dell'alveo, con l'individuazione delle condizioni che favoriscono la diversità ambientale, la capacità di autodepurazione, la creazione di habitat per la fauna ittica (a livello di macroscala) e bentonica (domande 7-11);
- le caratteristiche biologiche del fiume, attraverso l'analisi strutturale delle comunità macrobentonica e macrofitica e della composizione del detrito (domande 12-14).

Figura 9.2 Scheda per la determinazione dell'Indice di Funzionalità Fluviale

SCHEDA INDICE DI FUNZIONALITÀ FLUVIALE			
Bacino:..... Corso d'acqua.....			
Località.....			
Codice.....			
tratto (m)..... larghezza alveo di morbida (m)..... quota (m) s.l.m.....			
data..... scheda N°..... Foto N°.....			
	<i>sponda</i>	<i>dx</i>	<i>sx</i>
1) Stato del territorio circostante			
a) assenza di antropizzazione	25		25
b) compresenza di aree naturali e usi antropici del territorio	20		20
c) colture stagionali e/o permanenti; urbanizzazione rada	5		5
d) aree urbanizzate	1		1
2) Vegetazione presente nella fascia perifluviale primaria			
a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	40		40
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	25		25
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	10		10
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1
2bis) Vegetazione presente nella fascia perifluviale secondaria			
a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	20		20
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	10		10
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	5		5
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1
3) Ampiezza delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale			
a) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali maggiore di 30 m	15		15
b) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 30 e 10 m	10		10
c) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 10 e 2 m	5		5
d) assenza di formazioni funzionali	1		1
4) Continuità delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale			
a) sviluppo delle formazioni funzionali senza interruzioni	15		15
b) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni	10		10
c) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni frequenti o solo erbacea continua e consolidata o solo arbusteti a dominanza di esotiche e infestanti	5		5
d) suolo nudo, popolamenti vegetali radi	1		1
5) Condizioni idriche			
a) regime perenne con portate indisturbate e larghezza dell'alveo bagnato > 1/3 dell'alveo di morbida		20	
b) fluttuazioni di portata indotte di lungo periodo con ampiezza dell'alveo bagnato < 1/3 dell'alveo di morbida o variazione del solo tirante idraulico		10	
c) disturbi di portata frequenti o secche naturali stagionali non prolungate o portate costanti indotte		5	
d) disturbi di portata intensi, molto frequenti o improvvisi o secche prolungate indotte per azione antropica		1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
--	---------------	-----------	--	-----------

6) Efficienza di esondazione

a) tratto non arginato, alveo di piena ordinaria superiore al triplo dell'alveo di morbida		25	
b) alveo di piena ordinaria largo tra 2 e 3 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, superiore al triplo)		15	
c) alveo di piena ordinaria largo tra 1 e 2 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, largo 2-3 volte)		5	
d) tratti di valli a V con forte acclività dei versanti e tratti arginati con alveo di piena ordinaria < di 2 volte l'alveo di morbida		1	

7) Substrato dell'alveo e strutture di ritenzione degli apporti trofici

a) alveo con massi e/o vecchi tronchi stabilmente incassati (o presenza di fasce di canneto o idrofite)		25	
b) massi e/o rami presenti con deposito di materia organica (o canneto o idrofite rade e poco estese)		15	
c) strutture di ritenzione libere e mobili con le piene (o assenza di canneto e idrofite)		5	
d) alveo di sedimenti sabbiosi o sagomature artificiali lisce a corrente uniforme		1	

8) Erosione

a) poco evidente e non rilevante o solamente nelle curve	20		20
b) presente sui rettilinei e/o modesta incisione verticale	15		15
c) frequente con scavo delle rive e delle radici e/o evidente incisione verticale	5		5
d) molto evidente con rive scavate e franate o presenza di interventi artificiali	1		1

9) Sezione trasversale

a) alveo integro con alta diversità morfologica		20	
b) presenza di lievi interventi artificiali ma con discreta diversità morfologica		15	
c) presenza di interventi artificiali o con scarsa diversità morfologica		5	
d) artificiale o diversità morfologica quasi nulla		1	

10) Idoneità ittica

a) elevata		25	
b) buona o discreta		20	
c) poco sufficiente		5	
d) assente o scarsa		1	

11) Idromorfologia

a) elementi idromorfologici ben distinti con successione regolare		20	
b) elementi idromorfologici ben distinti con successione irregolare		15	
c) elementi idromorfologici indistinti o preponderanza di un solo tipo		5	
d) elementi idromorfologici non distinguibili		1	

12) Componente vegetale in alveo bagnato

a) perifiton sottile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		15	
b) film perifitico tridimensionale apprezzabile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		10	
c) perifiton discreto o (se con significativa copertura di macrofite tolleranti) da assente a discreto		5	
d) perifiton spesso e/o elevata copertura di macrofite tolleranti		1	

13) Detrito

a) frammenti vegetali riconoscibili e fibrosi		15	
b) frammenti vegetali fibrosi e polposi		10	
c) frammenti polposi		5	
d) detrito anaerobico		1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
14) Comunità macrobentonica				
a) ben strutturata e diversificata, adeguata alla tipologia fluviale			20	
b) sufficientemente diversificata ma con struttura alterata rispetto all'atteso			10	
c) poco equilibrata e diversificata con prevalenza di taxa tolleranti l'inquinamento			5	
d) assenza di una comunità strutturata, presenza di pochi taxa, tutti piuttosto tolleranti l'inquinamento			1	
	Punteggio totale			
	<i>Livello di funzionalità</i>			

Sommando i punteggi parziali relativi ad ogni domanda, per ogni tratto omogeneo e per ogni sponda, si ottiene il valore di IFF, che si traduce in 5 livelli di funzionalità fluviale compresi tra il I (situazione migliore) e il V (situazione peggiore). Ad ogni livello corrisponde un giudizio di funzionalità e un colore convenzionale per la rappresentazione cartografica; i livelli intermedi vengono rappresentati con un tratteggio a barre oblique a due colori alternati (Tab. 9.1).

Tabella 9.1 Valori IFF, livelli di funzionalità, relativo giudizio e colore di riferimento

VALORE IFF	LIVELLO	GIUDIZIO DI FUNZIONALITA'	COLORE
261-300	I	ELEVATO	
251-260	I-II	ELEVATO-BUONO	
201-250	II	BUONO	
181-200	II-III	BUONO-MEDIOCRE	
121-180	III	MEDIOCRE	
101-120	III-IV	MEDIOCRE-SCADENTE	
61-100	IV	SCADENTE	
51-60	IV-V	SCADENTE-PESSIMO	
14-50	V	PESSIMO	

L'applicazione dell'IFF costituisce dunque una metodologia appropriata per la valutazione sintetica della funzionalità fluviale e delle cause di deterioramento. Consente inoltre l'acquisizione di precise indicazioni per orientare gli interventi di riqualificazione e stimarne preventivamente l'efficacia. La metodica, proprio per l'approccio olistico, fornisce informazioni che possono differire, anche sensibilmente, da quelle fornite da altri indici o metodi, che restringono l'indagine ad un numero più limitato di aspetti e/o di comparti ambientali (es.: MacrOper, analisi chimiche, microbiologiche, ecc.).

9.3 Campionamento di fauna ittica

Per la cattura dei pesci è stato utilizzato un elettrostorditore con motore a scoppio 4 tempi (Fig. 9.3). L'elettrostorditore produce un campo elettrico nell'acqua mediante immersione dei due elettrodi di cui è dotato: l'anodo (polo positivo), composto da una lancia alla cui estremità è presente un anello conduttore, e il catodo (polo negativo), rappresentato da una treccia di rame costantemente immersa nell'acqua.

Figura 9.3 Strumentazione necessaria per il campionamento di fauna ittica.
Elettrostorditore (compreso di anodo e catodo), guadino, secchi e salopette da pesca modello Wader.



Il motore a scoppio crea una corrente continua che, attraverso un campo elettrico, va dall'anodo al catodo, producendo linee di forza il cui valore si accresce in prossimità dell'anodo. Il campo magnetico suscita nel pesce risposte neuromuscolari sempre più intense, da cui derivano modelli di comportamento prevedibili derivanti dalla differenza di potenziale corporeo che si forma fra la testa e la coda. Le reazioni indotte dal campo elettrico sono sostanzialmente di due tipi: galvanotassi positiva, con un nuoto attivo verso l'anodo, e galvanonarcosi, con una paralisi momentanea del pesce, tale da renderne agevole la cattura. L'effetto dell'elettrostorditore risulta condizionato sia dalla sensibilità intrinseca della specie e dei singoli individui, sia dalla taglia, sia dalle caratteristiche ambientali quali conducibilità, profondità, velocità di corrente, torbidità e natura del substrato (Mearelli *et al.*, 2002). Le operazioni devono essere condotte risalendo il corso d'acqua ed eseguite con la dovuta lentezza, in maniera da coprire tutti gli habitat (es. buca, correntino sotto un tronco d'albero o in mezzo alla vegetazione acquatica), muovendo l'anodo e catturando con un guadino gli esemplari attirati (Fig. 9.4).

Figura 9.4 Operatore con elettrostorditore durante il campionamento



Per il campionamento di fauna ittica, oltre all'elettrostorditore sono necessari:

- guanti isolanti in gomma;
- salopette tipo Wader;
- guadini di varia misura;
- secchi e mastelli per il mantenimento dei pesci durante il campionamento.

I pesci catturati sono stati tutti portati vivi presso il Laboratorio degli Ecosistemi Dulciacquicoli di Capestrano (AQ) dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" (IZSAM) dove, una volta anestetizzati con estratto di chiodi di garofano (Clove oil), sono stati pesati con una bilancia da campo (Berkley Classics™), fotografati con una scala metrica di riferimento e successivamente misurati (lunghezza massima) al Personal Computer con un programma di analisi di immagine "Image-J" (Fig. 9.5).

Figura 9.5 Esemplare di trota fario



Per il Test del Micronucleo, tutti gli esemplari catturati (n. 35) sono stati sottoposti a prelievo di sangue. Dopo il prelievo, al fine di valutare l'eventuale effetto depurativo di acque di sorgente rispetto alla presenza dei micronuclei e delle sostanze chimiche ricercate, 7 pesci del campionamento di Molina-Vittorito sono stati stabulati per circa 30 giorni nell'impianto del Centro Ittico Sperimentale e di Idrologia (CISI) sul Vetoio a L'Aquila e 6 pesci del campionamento di Manoppello sono stati stabulati presso le vasche del Laboratorio degli Ecosistemi Dulciaquicoli di Capestrano (AQ). Dopo il prelievo di sangue per il Test del Micronucleo, tutti gli altri esemplari non destinati alla depurazione sono stati sacrificati per il prelievo di tessuto muscolare per le analisi chimiche.

I pesci destinati alla depurazione, dopo trenta giorni, sono stati nuovamente sottoposti al prelievo di sangue e poi sacrificati per le analisi chimiche.

I campioni di muscolo sono stati conferiti a Teramo presso la Sede Centrale dell'IZSAM - Reparto di Bromatologia per le analisi chimiche.

Per la raccolta dei campioni di muscoli e sangue, è stata utilizzata la seguente strumentazione:

- pinzette da laboratorio;
- forbici;
- guanti monouso;
- siringhe sterili monouso da 2,5 ml;
- anticoagulante (eparina sodica),
- vetrini con banda sabbata per la denominazione del campione.

9.4 Campionamento di Macroinvertebrati

Ai sensi del D.Lgs. 152/2006 e successivi decreti attuativi, l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) ha stilato un protocollo per il campionamento e l'analisi dei Macroinvertebrati bentonici (ISPRA, 2014). Il metodo si basa su uno studio multihabitat che prevede una raccolta dei Macroinvertebrati proporzionale all'estensione relativa dei diversi microhabitat osservati in un sito fluviale, la cui presenza deve quindi essere preventivamente stimata. Identificati i mesohabitat contigui, che tipicamente caratterizzano i tratti medi dei corsi d'acqua come pozze (pool) e raschi (riffle), si passa alla raccolta del materiale biologico.

Per il campionamento, effettuato seguendo i suddetti criteri, è stato utilizzato un retino immanicato costituito da un'intelaiatura quadrata, con il manico inserito sul lato superiore. La rete è a forma di cono, con una lunghezza ap-

prossimativa di 0,6-0,8 m e con una maglia di 500 µm. Nella parte terminale della rete è presente un bicchiere per la raccolta degli organismi setacciati.

Il campionamento è stato effettuato percorrendo il fiume da valle verso monte, in modo da arrecare meno disturbo possibile ai microhabitat man mano che si è proceduto a campionare. Il retino è stato disposto contro corrente, ben appoggiato al fondo, tenendo immerso il barattolo raccoglitore in modo che i Macroinvertebrati potevano passare dalla rete al barattolo attraverso l'acqua. Durante il campionamento, con i piedi, è stato smosso il substrato localizzato immediatamente a monte del punto in cui era posizionata l'imboccatura della rete per una maggiore efficacia delle catture.

I Macroinvertebrati raccolti sono stati smistati sul campo per classificare e stimare i *taxa* presenti con la finalità di rispondere alla domanda 14 della scheda IFF (Comunità Macroinvertebrati).

Tutti i Macroinvertebrati raccolti sono stati setacciati ulteriormente per procedere alla selezione della sola Famiglia Gammaridae, perché presenti in abbondanza in tutti i siti individuati. Con l'utilizzo di pinzette da laboratorio sono stati raccolti 25 g di Gammaridae per ciascun campione, conservati in barattoli appositamente etichettati e conferiti anch'essi a Teramo presso la Sede Centrale dell'IZSAM - Reparto di Bromatologia per le analisi chimiche.

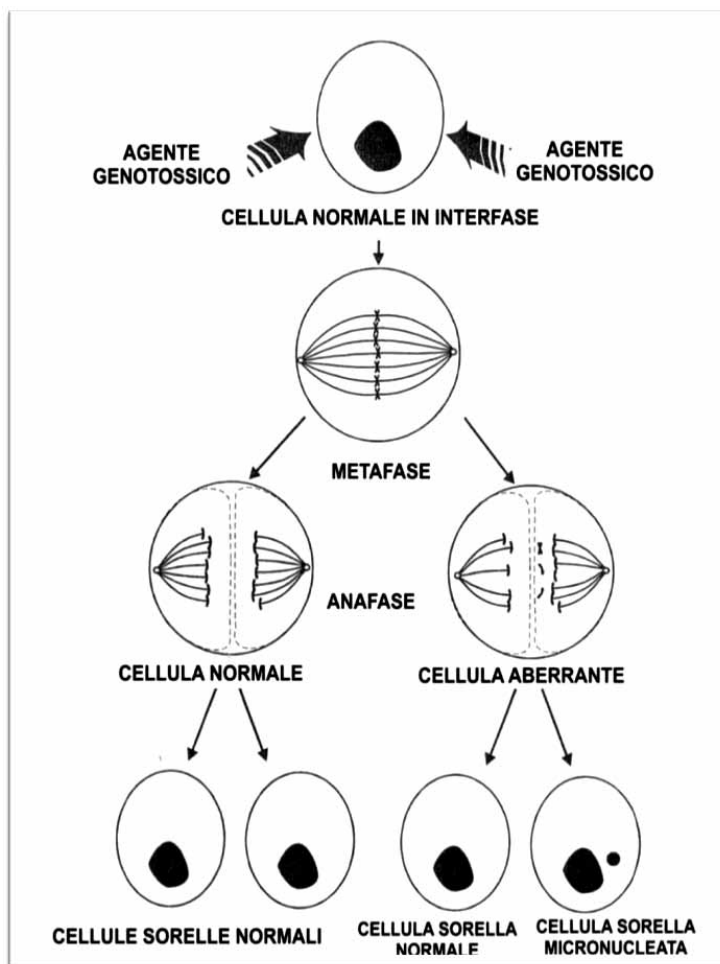
9.5 Test del Micronucleo (MN)

Il Test del Micronucleo si basa sulla valutazione della presenza di micronuclei negli eritrociti del sangue periferico dei Pesci e, da oltre 15 anni (Ayllon & Garcia-Vazquez, 2001), è utilizzato in studi citogenetici sia come indicatore biologico di inquinamento degli ecosistemi acquatici (studi *in situ*) sia per la valutazione genotossica di agenti fisici e chimici dopo esposizione diretta o indiretta (Bahari *et al.*, 1994; Nepomuceno *et al.*, 1997; Campana *et al.*, 1999; Sanchez-Galan *et al.*, 2001; Lemos *et al.*, 2001, 2007; Cavas & Gözükar, 2005).

Questo test è considerato rapido, sensibile ed affidabile per evidenziare un eventuali danni al DNA a livello cromosomico (Lemos *et al.*, 2008).

I Pesci rispondono alle sostanze chimiche in modo simile a quello dei Vertebrati Superiori, per cui vi è un crescente utilizzo di questo metodo come sistema modello (Powers, 1989). Il test consiste nel rilevare al microscopio ottico i micronuclei originati dal DNA degli eritrociti sia da frammenti acentrici derivanti da rotture cromosomiche sia dalla mancata incorporatura nel nucleo principale, dopo la mitosi, dei cromosomi in ritardo nella divisione cellulare, durante l'anafase (Fig. 9.6).

Figura 9.6 Illustrazione delle fasi che caratterizzano la formazione di micronuclei ad opera di un agente tossico (Cajaraville et al., 2003)



9.5.1 Preparazione degli strisci di sangue

Per l'osservazione dei micronuclei è stato necessario preparare uno striscio di sangue venoso da colorare e leggere al microscopio ottico.

Il prelievo del sangue venoso attraverso la vena caudale è stato effettuato nel modo seguente:

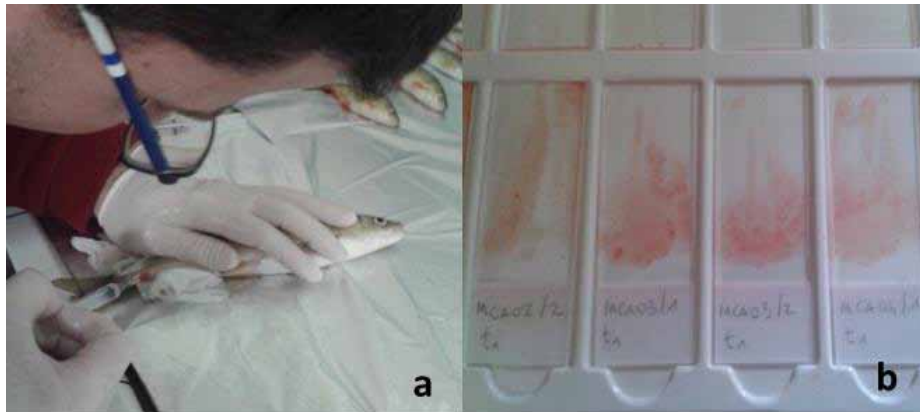
- per evitare la coagulazione del sangue, per ciascun esemplare, con una siringa in plastica monouso sterile da 2,5 ml, la stessa utilizzata per il prelievo, sono stati aspirati 2 ml di eparina sodica, distribuendo la sostanza sulle pareti interne della siringa ed eliminando l'eccesso;
- dopo aver adagiato il campione sul banco da lavoro e averlo immobilizzato su un fianco, il prelievo di sangue venoso è stato effettuato sulla vena caudale, in prossimità della pinna anale.

Una volta effettuato il prelievo, sono stati allestiti gli strisci di sangue su vetrino (previa pulizia degli stessi con alcol etilico). Per ciascun campione sono stati allestiti 2 - 3 vetrini per aumentare la probabilità di una buona esecuzione dello striscio per una lettura ottimale.

La metodica utilizzata è stata la seguente (APAT, 2005):

- su un vetrino pulito e asciutto è stata depositata una piccola goccia di sangue a circa 0,5 cm dalla banda sabbata;
- è stato preso un secondo vetrino ed è stato posto verticalmente al centro del primo vetrino;
- il secondo vetrino è stato fatto arretrare, con un'inclinazione di 45° circa, fino a toccare la goccia di sangue, che si diffondeva rapidamente lungo la linea di contatto dei due vetrini;
- il secondo vetrino è stato spostato rapidamente in avanti, con movimento deciso e uniforme, mantenendo l'inclinazione, fino a distendere completamente la goccia di sangue;
- lo striscio così allestito è stato fatto asciugare all'aria per 24h (Fig 9.7).

Figura 9.7 (a) prelievo del sangue periferico dalla vena caudale; (b) asciugatura degli strisci all'aria.



Una volta asciugati, i vetrini sono stati sottoposti a colorazione GIEMSA a Teramo, presso la Sede Centrale dell'IZSAM - Reparto di Istopatologia, nel seguente modo:

- immersione degli strisci per 10' in una vaschetta per colorazioni contenente alcool metilico assoluto;
- idratazione degli strisci con immersione in una vaschetta contenente acqua di rubinetto;
- immersione degli strisci in una soluzione di Giemsa al 10% (10 ml Giemsa + 90 ml acqua di rubinetto) per 15 minuti;
- risciacquo con acqua distillata e asciugatura all'aria.

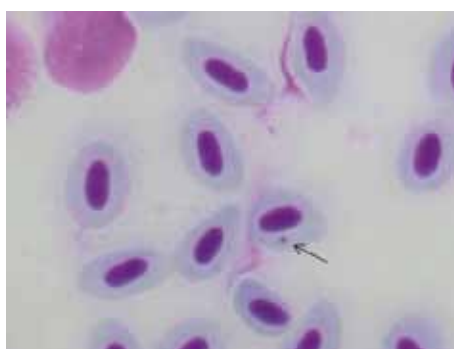
9.5.2 Lettura dei vetrini ed elaborazione dei dati

La lettura dei vetrini è stata realizzata a Teramo, presso la Sede Centrale dell'IZSAM - Reparto di Istopatologia, per mezzo di un microscopio ottico in campo chiaro LEICA DMR, con obiettivo 100x ad immersione. Il microscopio era dotato di fotocamera LEICA DFC, che attraverso il programma LAS V4.2, ha permesso l'acquisizione, l'archiviazione e l'elaborazione delle immagini.

Per la lettura dei vetrini sono state identificate delle aree con una distribuzione accettabile di eritrociti, cioè almeno il 50% di essi era distinguibile dagli altri, con il citoplasma ben definito e separato. Due eritrociti potevano toccarsi, ma non sovrapporsi, ad eccezione del caso in cui la porzione sovrapposta interessava una piccola parte del citoplasma e i confini cellulari erano visibili in trasparenza. Rispettati i criteri di accettabilità nella lettura degli eritrociti, si è proceduto ad individuare un'area all'interno dei campi ottici da cui partire per iniziare il conteggio, prendendo le coordinate di riferimento x,y, al fine di rendere replicabile la prova. Quindi si è proceduto alla lettura verso destra o sinistra di 2.000 eritrociti normali, prendendo nota dei cambi di direzione nelle coordinate del vetrino.

Le letture sono state fatte da un singolo operatore. I micronuclei sono stati identificati per mezzo delle loro caratteristiche chiave: forma rotondeggiante, misura della grandezza che varia da 1/10 a 1/30 rispetto al nucleo principale, capacità di non rifrangere la luce a differenza degli artefatti della colorazione (Fig. 9.8). Se per la lettura del campione sono stati utilizzati più vetrini, il numero dei micronuclei è stato dato dalla media del numero di micronuclei riscontrati in tutti i vetrini.

Figura 9.8 Immagine di un campo di uno striscio visualizzato con obiettivo 100x; la freccia indica il micronucleo presente



I dati sono stati elaborati sulla base del calcolo delle frequenze di micronuclei per 1.000 cellule di eritrociti (FMN‰), utilizzando la seguente formula:

$$\text{FMN}\% = (\text{nMN}/2000\text{EN}) \times 1000$$

dove:

n = numero dei micronuclei individuati

EN = eritrociti normali

9.6 Valutazione dello stato riproduttivo

Per lo studio della biologia riproduttiva, vista l'esiguità di esemplari pescati nei siti di Bussi Officine e Vittorito, è stato scelto il sito di Manoppello che era stato l'unico a presentare un popolamento sufficientemente cospicuo. Il campionamento è stato effettuato in data 06/04/16, nel periodo antecedente la riproduzione. Le condizioni del fiume Pescara, però, rispetto al campionamento estivo, sono risultate profondamente cambiate, la portata dell'acqua del fiume era notevolmente aumentata e anche la torbidità. Per motivi di sicurezza è stato quindi possibile pescare solo in un ramo laterale del fiume. A causa delle condizioni non ideali di pesca durante le fasi di campionamento è stato catturato un solo pesce di taglia utile per le analisi dello stato riproduttivo.

Tale pesce, un cavedano, è stato sacrificato con una dose letale di anestetico ed è stato sottoposto a rilevazioni biometriche (lunghezza totale, LT) e ponderali (peso totale, PT).

Successivamente, l'esemplare è stato dissezionato per l'esame macroscopico delle gonadi e per la determinazione del sesso (Fig. 9.9).

Infine sono stati calcolati il peso della gonade (PG) mediante bilancia elettronica con precisione al centesimo di grammo e l'indice gonadosomatico (IG%) secondo la seguente formula (Fernandez-Delgado *et al.*, 1988):

$$\text{IG} = 100 \text{ PG/PT.}$$

Alla gonade è stato assegnato uno stadio di maturità secondo le Tabelle 9.2 e 9.3 sottoriportate.

Tabella 9.2. Caratteristiche macroscopiche degli stadi di maturità e descrizione istologica degli ovari dei Pesci Teleostei (Tyler & Sumpter, 1996)

Stadio di maturità	Descrizione macroscopica	Descrizione istologica
Stadio I In maturazione	Ovari lunghi circa i 2/3 della cavità celomatica. Sono visibili ad occhio nudo sia le lamelle ovariche che gli oociti che appaiono grosso modo delle stesse dimensioni e di colore bianco opaco.	Si vedono oociti previtellogeni e allo stadio delle vescicole lipidiche.
Stadio II Maturo	Il colore passa da bianco-rosato ad arancio-salmone in relazione al grado di maturazione. La consistenza è morbida e l'irrorazione progredisce con lo sviluppo. Le lamelle ovariche e gli oociti sono visibili ad occhio nudo. Si distinguono due differenti lotti di oociti.	Gli oociti sono in fase di vitellogenesi, più o meno avanzata con il citoplasma ricco di granuli di tuorlo
Stadio III avanzato di maturazione	Ovari gonfi che riempiono completamente la cavità ventrale. Sono chiaramente visibili grandi uova mature di colore arancione insieme ad oociti bianco-opachi più piccoli.	Sono presenti oociti in vitellogenesi avanzata caratterizzati da un grande accumulo di tuorlo.
Stadio IV In riproduzione	Ovario parzialmente svuotato di colore grigio-rossastro. Sono visibili diversi lotti di oociti bianco-opachi.	Sono visibili uova idratate ($\varnothing=2\text{mm}$) pronte per essere emesse, follicoli post-ovulatori insieme ad oociti vitellogeni di grosse dimensioni.

Tabella 9.3. Caratteristiche macroscopiche degli stadi di maturità e descrizione istologica del testicolo dei Pesci Teleostei (Tyler & Sumpter, 1996)

Stadio di maturità	Descrizione macroscopica	Descrizione istologica
Stadio I Immaturato	Testicoli filiformi e di colore bianco-rosato.	I lobuli sono organizzati in lobuli contenenti cisti di spermatogoni e spermatociti
Stadio II In maturazione	I testicoli, di colore bianco-rosato, aumentano di dimensioni fino ad occupare i 2/3 della cavità celomatica.	Sono presenti cisti di spermatogoni, spermatociti, spermatidi.
Stadio III Maturo	testicoli sono grandi, hanno una forma sub-triangolare e si sviluppano per l'intera lunghezza della cavità addominale. Compatti e di colore bianco, possiedono una diffusa vascolarizzazione.	Cisti contenenti tutti gli stadi di maturità cellulari, spermatozoi si rinvengono nella cavità lobulare.
Stadio IV Fluente	Testicoli completamente sviluppati di consistenza morbida e di colore bianco-latte. Una leggera pressione provoca il rilascio di sperma.	Grandi quantità di spermatozoi liberi nel lume lobulare e nei dotti spermatici.

9.6.1. Preparazione dei campioni

Dalla due emigonadi sono stati prelevati, immediatamente dopo la cattura, 3 porzioni di tessuto di circa 0,2 cm di spessore, dalla parte anteriore, centrale e posteriore che sono stati fissati in formaldeide tamponata al 4%. Tutti i prelievi di gonade sono stati sottoposti ad esami istologici.

9.6.2 Istologia

I campioni fissati sono stati disidratati passandoli in concentrazioni di etanolo crescenti e inclusi in paraffina. Sezioni di circa 5 µm sono state colorate in ematossilina-eosina. L'analisi morfologica e le fotografie delle sezioni sono state effettuate al microscopio (Wild Leitz GMBH) equipaggiato con una macchina fotografica digitale (Polaroid Digital Microscope Camera DMC 1). Dai vetrini realizzati sono stati fotografati dei campi istologici caratteristici mediante obiettivi 5x e 10x. Utilizzando il programma della macchina fotografica è stato possibile calcolare accuratamente le taglie degli oociti fotografati.

9.7 Analisi chimiche

Per quanto riguarda la contaminazione chimica, sono state prese in considerazioni molecole già riscontrate nei siti contaminati di Bussi Officine e altre molecole che non sono state determinate.

Sui campioni di muscolo di pesce e sui Macroinvertebrati (Gammaridae) sono state effettuate a Teramo presso la Sede Centrale dell'IZSAM - Reparto di Bromatologia le seguenti analisi chimiche:

- composti inorganici (metalli pesanti): arsenico, cadmio, piombo, cromo, mercurio;
- composti organici: diossine (su prodotto intero), PCB diossina-simili (su prodotto intero), PCB non diossina simili (su prodotto intero), diossine + PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 (su prodotto intero), Pesticidi organoclorurati, Pesticidi organofosfati.

Metodi di analisi:

- UNI EN 15763:2010 – Determinazione di elementi in tracce. Determinazione di arsenico, cadmio, mercurio e piombo nei prodotti alimentari per mezzo di spettrometria di massa con plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS) dopo digestione sotto pressione.
- EPA Method 8280B:1998 "Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans by high resolution gas chromatography/low resolution mass spectrometry (HRGC/LRMS)".
- prEN 16215 "Animal feed: determination of dioxins and dioxin-like PCBs by HRGC/HRMS and of indicator PCBs by

GC/MS (HRMS or LRMS)" - DRAFT 03 2009

- Determinazione dei residui di pesticidi organo-clorurati negli alimenti per l'uomo, nei mangimi e nelle acque (metodo GC E GC-MS), (Torreti *et al.*, 1987).
- Determinazione dei residui di pesticidi organo-fosforati negli alimenti per l'uomo, nei mangimi e nelle acque (metodo GC E GC-MS) (Pagliuca *et al.*, 2005; Torreti *et al.*, 1987).

9.8 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il software MS Excel, la versione 2.13 di Past (Hammer *et al.*, 2001) e il software open source R Core Team (2013). Per l'elaborazione dei dati sono stati utilizzati test-non parametrici, visto il numero ridotto dell'unità campionaria (<20-30 esemplari) e quindi l'assenza di una distribuzione normale. Le differenze tra i dati sono state analizzate per mezzo del test di Kruskal-Wallis (1952); le differenze significative ($p < 0,05$) risultanti dal test sono state analizzate ulteriormente con il test di Mann-Whitney (1947) attraverso la comparazione a coppie per determinare le differenze significative tra i gruppi testati. Nel caso del confronto tra i campioni a valle e a monte del SIN di Bussi Officine, in riferimento ai siti e alle specie e i dati raccolti sono stati elaborati mediante test statistici per campioni indipendenti. Per il confronto dei dati ante e post depurazione è stato utilizzato il test statistico di Wilcoxon (1945) per campioni dipendenti, con ipotesi alternativa unilaterale (il presupposto è stato che dopo il trattamento i livelli della variabile diminuiscano).

Al fine di valutare le differenze degli esemplari campionati rispetto alla frequenza dei micronuclei, alla taglia, al tipo di specie e al sito di campionamento, la matrice di dati è stata analizzata attraverso l'utilizzo di una tecnica di analisi multivariata non-metric MultiDimensional Scaling (nMDS) (Kruskall & Wish, 1978). Tale tecnica di ordinamento è un metodo statistico multivariato che, mediante un processo iterativo di ordinamento delle osservazioni/oggetti, definito da un algoritmo molto complesso, cerca di rappresentare gli oggetti stessi conservando l'originale distanza/differenza tra di loro. Per l'analisi della validità dei risultati del suddetto test è stato determinato il valore dello "stress" come misura di significatività della rappresentazione (Bray & Curtis, 1957):

- Stress < 0,05 rappresentazione perfetta;
- Stress < 0,1 buona rappresentazione, con pochissime possibilità di equivoco;
- Stress < 0,2 buona rappresentazione, ma con qualche dubbio;
- Stress > 0,3 l'ordinamento è del tutto arbitrario (ordinamenti casuali danno valori 0,34-0,45).

Minore è lo stress, quindi, maggiore è la bontà dell'ordinamento.

10. RISULTATI

10.1 Indice di Funzionalità Fluviale (IFF)

Al fine di avere conoscenza del grado di funzionalità fluviale dei quattro siti nei quali sono stati effettuati i campionamenti, si riportano le rispettive schede IFF con la descrizione delle sponde sia in destra sia in sinistra idrografica.

SITO N. 1 STAZIONE MOLINA (AQ)

Il sito è caratterizzato da una compresenza di aree naturali e aree a usi antropici (Figura 10.1). In sponda sinistra sono presenti insediamenti legati alla Stazione Ferroviaria di Molina e all'uso agricolo del territorio. In sponda destra il territorio è prevalentemente naturale, con difese spondali in prossimità delle anse fluviali. La vegetazione è costituita da arbusti e formazioni arboree funzionali. L'alveo presenta una discreta diversità morfologica con elementi ben distinti come zone di riffle e pool, fondamentali per l'instaurarsi di comunità bentoniche ed ittiche. Sono presenti rami e tronchi in alveo che permettono la ritenzione della materia organica e costituiscono zone di rifugio per la fauna ittica. Gli elementi idromorfologici si susseguono con carattere irregolare, ma mantengono una certa funzionalità data l'eterogeneità degli ambienti che si instaurano. Pozze, raschi, anse e l'ombreggiatura creata dalla copertura vegetale in alveo sono tutti elementi che garantiscono una buona idoneità ittica del tratto in esame (Figura 10.2)

Figura 10.1 Il sito di campionamento di Molina (AQ) visto dall'alto (Google Heart); la freccia indica la Stazione Ferroviaria



Figura 10.2 Il sito di campionamento di Molina (AQ)



Il punteggio della scheda IFF in questo sito è stato di 171 per la sponda destra e 143 per quella sinistra, corrispondenti entrambi ad un Livello III, con Giudizio di Funzionalità Mediocre (Figura 10.3).

Figura 10.3 Scheda IFF del sito di Molina (sito n. 1)

SCHEDA INDICE DI FUNZIONALITÀ FLUVIALE

Bacino: Aterno-Pescara Corso d'acqua: Aterno
 Località: Molina (AQ)
 Codice: MO
 tratto (m): 100 larghezza alveo di morbida (m): 10 quota (m) s.l.m.: 451
 data: 12/08/2015 scheda N°: 1 Foto N°:

	sponda	dx		sx
--	--------	----	--	----

1) Stato del territorio circostante

a) assenza di antropizzazione	25			25
b) compresenza di aree naturali e usi antropici del territorio	20	●		20
c) colture stagionali e/o permanenti; urbanizzazione rada	5			5
d) aree urbanizzate	1			1

2) Vegetazione presente nella fascia perifluviale primaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	40			40
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	25			25
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	10			10
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1			1

2bis) Vegetazione presente nella fascia perifluviale secondaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	20			20
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	10			10
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	5	●		5
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1			1

3) Ampiezza delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali maggiore di 30 m	15			15
b) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 30 e 10 m	10			10
c) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 10 e 2 m	5	●		5
d) assenza di formazioni funzionali	1			1

4) Continuità delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) sviluppo delle formazioni funzionali senza interruzioni	15			15
b) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni	10	●		10
c) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni frequenti o solo erbacea continua e consolidata o solo arbusteti a dominanza di esotiche e infestanti	5			5
d) suolo nudo, popolamenti vegetali radi	1			1

5) Condizioni idriche

a) regime perenne con portate indisturbate e larghezza dell'alveo bagnato > 1/3 dell'alveo di morbida			20	●
b) fluttuazioni di portata indotte di lungo periodo con ampiezza dell'alveo bagnato < 1/3 dell'alveo di morbida o variazione del solo tirante idraulico			10	
c) disturbi di portata frequenti o secche naturali stagionali non prolungate o portate costanti indotte			5	
d) disturbi di portata intensi, molto frequenti o improvvisi o secche prolungate indotte per azione antropica			1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
6) Efficienza di esondazione				
a) tratto non arginato, alveo di piena ordinaria superiore al triplo dell'alveo di morbida		25		
b) alveo di piena ordinaria largo tra 2 e 3 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, superiore al triplo)		15		
c) alveo di piena ordinaria largo tra 1 e 2 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, largo 2-3 volte)		5	●	
d) tratti di valli a V con forte acclività dei versanti e tratti arginati con alveo di piena ordinaria < di 2 volte l'alveo di morbida		1		
7) Substrato dell'alveo e strutture di ritenzione degli apporti trofici				
a) alveo con massi e/o vecchi tronchi stabilmente incassati (o presenza di fasce di canneto o idrofite)		25		
b) massi e/o rami presenti con deposito di materia organica (o canneto o idrofite rade e poco estese)		15	●	
c) strutture di ritenzione libere e mobili con le piene (o assenza di canneto e idrofite)		5		
d) alveo di sedimenti sabbiosi o sagomature artificiali lisce a corrente uniforme		1		
8) Erosione				
a) poco evidente e non rilevante o solamente nelle curve	20			20
b) presente sui rettilinei e/o modesta incisione verticale	15			15
c) frequente con scavo delle rive e delle radici e/o evidente incisione verticale	5			5
d) molto evidente con rive scavate e franate o presenza di interventi artificiali	1	●		1
9) Sezione trasversale				
a) alveo integro con alta diversità morfologica		20		
b) presenza di lievi interventi artificiali ma con discreta diversità morfologica		15	●	
c) presenza di interventi artificiali o con scarsa diversità morfologica		5		
d) artificiale o diversità morfologica quasi nulla		1		
10) Idoneità ittica				
a) elevata		25		
b) buona o discreta		20	●	
c) poco sufficiente		5		
d) assente o scarsa		1		
11) Idromorfologia				
a) elementi idromorfologici ben distinti con successione regolare		20		
b) elementi idromorfologici ben distinti con successione irregolare		15	●	
c) elementi idromorfologici indistinti o preponderanza di un solo tipo		5		
d) elementi idromorfologici non distinguibili		1		
12) Componente vegetale in alveo bagnato				
a) perifiton sottile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		15	●	
b) film perifitico tridimensionale apprezzabile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		10		
c) perifiton discreto o (se con significativa copertura di macrofite tolleranti) da assente a discreto		5		
d) perifiton spesso e/o elevata copertura di macrofite tolleranti		1		
13) Detrito				
a) frammenti vegetali riconoscibili e fibrosi		15		
b) frammenti vegetali fibrosi e polposi		10	●	
c) frammenti polposi		5		
d) detrito anaerobico		1		

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
14) Comunità macrobentonica				
a) ben strutturata e diversificata, adeguata alla tipologia fluviale			20	
b) sufficientemente diversificata ma con struttura alterata rispetto all'atteso			10	●
c) poco equilibrata e diversificata con prevalenza di taxa tolleranti l'inquinamento			5	
d) assenza di una comunità strutturata, presenza di pochi taxa, tutti piuttosto tolleranti l'inquinamento			1	
			Punteggio totale	171
				143
			<i>Livello di funzionalità</i>	III
				III

SITO N. 2 VITTORITO (AQ)

Il sito in esame insiste in un tratto pedemontano, in una piana alluvionale ben sviluppata con insediamenti antropici e colture agricole (Figura 10.4). La copertura vegetale è ridotta ad una fascia arbustiva semplificata, a tratti assente. Le sponde, in alcuni tratti, sono artificializzate con presenza di cassoni e muretti di cemento in prossimità delle anse. L'alveo è costituito in prevalenza da ciottoli, che offrono zone di frega per la componente ittica, e laterizi, probabilmente derivanti dalla costruzione del ponte. Gli elementi morfologici sono poco diversificati (Figura 10.5). Il tratto in esame è abbastanza rettificato e poco ombreggiato. La comunità macrobentonica è ben strutturata e diversificata.

Figura 10.4 Il sito di campionamento di Vittorito (AQ) visto dall'alto (Google Earth):
la freccia indica il ponte della strada che da Corfinio porta a Vittorito



Figura 10.5 Un tratto del sito di Vittorito (AQ)



La scheda IFF n. 2 (Figura 10.6) del sito di campionamento di Vittorito ha totalizzato il punteggio complessivo di 155 per entrambe le sponde, corrispondente a un Livello III, con Giudizio di Funzionalità Mediocre.

Figura 10.6 Scheda IFF del sito di Vittorito (sito n. 2)

SCHEDA INDICE DI FUNZIONALITÀ FLUVIALE

Bacino: Aterno-Pescara Corso d'acqua: Aterno
 Località: Vittorito (AQ)
 Codice: VI
 tratto (m): 200 larghezza alveo di morbida (m): 12 quota (m) s.l.m.: 258
 data: 12/08/2015 scheda N°: 2 Foto N°:

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>	<i>sx</i>
--	---------------	-----------	-----------

1) Stato del territorio circostante

a) assenza di antropizzazione	25		25
b) compresenza di aree naturali e usi antropici del territorio	20	●	20
c) colture stagionali e/o permanenti; urbanizzazione rada	5		5
d) aree urbanizzate	1		1

2) Vegetazione presente nella fascia perifluviale primaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	40		40
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	25		25
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	10		10
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1

2bis) Vegetazione presente nella fascia perifluviale secondaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	20		20
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	10	●	10
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	5		5
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1

3) Ampiezza delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali maggiore di 30 m	15		15
b) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 30 e 10 m	10		10
c) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 10 e 2 m	5	●	5
d) assenza di formazioni funzionali	1		1

4) Continuità delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) sviluppo delle formazioni funzionali senza interruzioni	15		15
b) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni	10	●	10
c) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni frequenti o solo erbacea continua e consolidata o solo arbusteti a dominanza di esotiche e infestanti	5		5
d) suolo nudo, popolamenti vegetali radi	1		1

5) Condizioni idriche

a) regime perenne con portate indisturbate e larghezza dell'alveo bagnato > 1/3 dell'alveo di morbida		20	●
b) fluttuazioni di portata indotte di lungo periodo con ampiezza dell'alveo bagnato < 1/3 dell'alveo di morbida o variazione del solo tirante idraulico		10	
c) disturbi di portata frequenti o secche naturali stagionali non prolungate o portate costanti indotte		5	
d) disturbi di portata intensi, molto frequenti o improvvisi o secche prolungate indotte per azione antropica		1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>	<i>sx</i>
6) Efficienza di esondazione			
a) tratto non arginato, alveo di piena ordinaria superiore al triplo dell'alveo di morbida		25	
b) alveo di piena ordinaria largo tra 2 e 3 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, superiore al triplo)		15	
c) alveo di piena ordinaria largo tra 1 e 2 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, largo 2-3 volte)		5	●
d) tratti di valli a V con forte acclività dei versanti e tratti arginati con alveo di piena ordinaria < di 2 volte l'alveo di morbida		1	
7) Substrato dell'alveo e strutture di ritenzione degli apporti trofici			
a) alveo con massi e/o vecchi tronchi stabilmente incassati (o presenza di fasce di canneto o idrofite)		25	
b) massi e/o rami presenti con deposito di materia organica (o canneto o idrofite rade e poco estese)		15	
c) strutture di ritenzione libere e mobili con le piene (o assenza di canneto e idrofite)		5	●
d) alveo di sedimenti sabbiosi o sagomature artificiali lisce a corrente uniforme		1	
8) Erosione			
a) poco evidente e non rilevante o solamente nelle curve	20	●	20 ●
b) presente sui rettilinei e/o modesta incisione verticale	15		15
c) frequente con scavo delle rive e delle radici e/o evidente incisione verticale	5		5
d) molto evidente con rive scavate e franate o presenza di interventi artificiali	1		1
9) Sezione trasversale			
a) alveo integro con alta diversità morfologica		20	
b) presenza di lievi interventi artificiali ma con discreta diversità morfologica		15	
c) presenza di interventi artificiali o con scarsa diversità morfologica		5	●
d) artificiale o diversità morfologica quasi nulla		1	
10) Idoneità ittica			
a) elevata		25	
b) buona o discreta		20	●
c) poco sufficiente		5	
d) assente o scarsa		1	
11) Idromorfologia			
a) elementi idromorfologici ben distinti con successione regolare		20	
b) elementi idromorfologici ben distinti con successione irregolare		15	
c) elementi idromorfologici indistinti o preponderanza di un solo tipo		5	●
d) elementi idromorfologici non distinguibili		1	
12) Componente vegetale in alveo bagnato			
a) perifiton sottile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		15	
b) film perifitico tridimensionale apprezzabile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		10	●
c) perifiton discreto o (se con significativa copertura di macrofite tolleranti) da assente a discreto		5	
d) perifiton spesso e/o elevata copertura di macrofite tolleranti		1	
13) Detrito			
a) frammenti vegetali riconoscibili e fibrosi		15	
b) frammenti vegetali fibrosi e polposi		10	●
c) frammenti polposi		5	
d) detrito anaerobico		1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
14) Comunità macrobentonica				
a) ben strutturata e diversificata, adeguata alla tipologia fluviale			20	●
b) sufficientemente diversificata ma con struttura alterata rispetto all'atteso			10	
c) poco equilibrata e diversificata con prevalenza di taxa tolleranti l'inquinamento			5	
d) assenza di una comunità strutturata, presenza di pochi taxa, tutti piuttosto tolleranti l'inquinamento			1	
			Punteggio totale	155
			<i>Livello di funzionalità</i>	III
				155
				III

SITO N. 3 BUSSI OFFICINE (PE)

Il sito monitorato è situato a valle della traversa del primo salto (ENEL) sul Pescara, in località comunemente denominata "Gole di Popoli" (Figura 10.7). Il territorio circostante vede la compresenza di aree naturali ed aree ad uso antropico, con infrastrutture e costruzioni sporadiche. La larghezza della fascia riparia è esigua perché limitata dalla tipologia fluviale: i versanti sono prevalentemente acclivi e il corpo idrico scorre incassato nella gola che separa i due massicci montuosi del Gran Sasso e del Morrone. Le formazioni arboree ed arbustive che insistono nella zona riparia sono funzionali, ma discontinue. La captazione a monte determina in alveo una portata costante che varia solo in condizioni di piena. Sulla sinistra idrografica, in prossimità della traversa, è presente una scala di rimonta per pesci, sommersa nella vegetazione e non funzionante allo scopo. La presenza di massi e tronchi in alveo porta ad un'elevata ritenzione della componente organica e alla creazione di zone di rifugio per la fauna ittica. La presenza di anse, raschi, pozze e zone ombreggiate determina una buona differenziazione di habitat e una buona idoneità ittica (Figura 10.8). La comunità macrobentonica è costituita esclusivamente da organismi tolleranti l'inquinamento.

Figura 10.7 Sito Bussi Officine (PE)



Fig. 10.8 Sito di Bussi Officine (PE). a) tratto verso monte; b) tratto verso valle



La scheda IFF n. 3 (Figura 10.9) del sito di campionamento di Bussi Officine ha totalizzato il punteggio complessivo di 127 per entrambe le sponde, corrispondente a un Livello III, con Giudizio di Funzionalità Mediocre.

Figura 10.9 Scheda IFF di Bussi Officine (sito n. 3).

SCHEDA INDICE DI FUNZIONALITÀ FLUVIALE

Bacino: Aterno-Pescara Corso d'acqua: Pescara
 Località: Bussi Officine (AQ)
 Codice: PE
 tratto (m): 130 larghezza alveo di morbida (m): 8 quota (m) s.l.m.: 243
 data: 16/07/2015 scheda N°: 3 Foto N°:

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>	<i>sx</i>
--	---------------	-----------	-----------

1) Stato del territorio circostante

a) assenza di antropizzazione	25		25
b) compresenza di aree naturali e usi antropici del territorio	20	●	20
c) colture stagionali e/o permanenti; urbanizzazione rada	5		5
d) aree urbanizzate	1		1

2) Vegetazione presente nella fascia perifluviale primaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	40		40
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	25		25
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	10		10
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1

2bis) Vegetazione presente nella fascia perifluviale secondaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	20		20
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	10		10
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	5	●	5
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1

3) Ampiezza delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali maggiore di 30 m	15		15
b) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 30 e 10 m	10		10
c) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 10 e 2 m	5	●	5
d) assenza di formazioni funzionali	1		1

4) Continuità delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) sviluppo delle formazioni funzionali senza interruzioni	15		15
b) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni	10		10
c) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni frequenti o solo erbacea continua e consolidata o solo arbusteti a dominanza di esotiche e infestanti	5	●	5
d) suolo nudo, popolamenti vegetali radi	1		1

5) Condizioni idriche

a) regime perenne con portate indisturbate e larghezza dell'alveo bagnato > 1/3 dell'alveo di morbida		20	
b) fluttuazioni di portata indotte di lungo periodo con ampiezza dell'alveo bagnato < 1/3 dell'alveo di morbida o variazione del solo tirante idraulico		10	
c) disturbi di portata frequenti o secche naturali stagionali non prolungate o portate costanti indotte		5	●
d) disturbi di portata intensi, molto frequenti o improvvisi o secche prolungate indotte per azione antropica		1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>	<i>sx</i>
6) Efficienza di esondazione			
a) tratto non arginato, alveo di piena ordinaria superiore al triplo dell'alveo di morbida		25	
b) alveo di piena ordinaria largo tra 2 e 3 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, superiore al triplo)		15	
c) alveo di piena ordinaria largo tra 1 e 2 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, largo 2-3 volte)		5	
d) tratti di valli a V con forte acclività dei versanti e tratti arginati con alveo di piena ordinaria < di 2 volte l'alveo di morbida		1	●
7) Substrato dell'alveo e strutture di ritenzione degli apporti trofici			
a) alveo con massi e/o vecchi tronchi stabilmente incassati (o presenza di fasce di canneto o idrofite)		25	
b) massi e/o rami presenti con deposito di materia organica (o canneto o idrofite rade e poco estese)		15	●
c) strutture di ritenzione libere e mobili con le piene (o assenza di canneto e idrofite)		5	
d) alveo di sedimenti sabbiosi o sagomature artificiali lisce a corrente uniforme		1	
8) Erosione			
a) poco evidente e non rilevante o solamente nelle curve	20		20
b) presente sui rettilinei e/o modesta incisione verticale	15		15
c) frequente con scavo delle rive e delle radici e/o evidente incisione verticale	5		5
d) molto evidente con rive scavate e franate o presenza di interventi artificiali	1	●	1 ●
9) Sezione trasversale			
a) alveo integro con alta diversità morfologica		20	
b) presenza di lievi interventi artificiali ma con discreta diversità morfologica		15	●
c) presenza di interventi artificiali o con scarsa diversità morfologica		5	
d) artificiale o diversità morfologica quasi nulla		1	
10) Idoneità ittica			
a) elevata		25	
b) buona o discreta		20	●
c) poco sufficiente		5	
d) assente o scarsa		1	
11) Idromorfologia			
a) elementi idromorfologici ben distinti con successione regolare		20	
b) elementi idromorfologici ben distinti con successione irregolare		15	●
c) elementi idromorfologici indistinti o preponderanza di un solo tipo		5	
d) elementi idromorfologici non distinguibili		1	
12) Componente vegetale in alveo bagnato			
a) perifiton sottile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		15	
b) film perifitico tridimensionale apprezzabile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		10	
c) perifiton discreto o (se con significativa copertura di macrofite tolleranti) da assente a discreto		5	●
d) perifiton spesso e/o elevata copertura di macrofite tolleranti		1	
13) Detrito			
a) frammenti vegetali riconoscibili e fibrosi		15	
b) frammenti vegetali fibrosi e polposi		10	●
c) frammenti polposi		5	
d) detrito anaerobico		1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
14) Comunità macrobentonica				
a) ben strutturata e diversificata, adeguata alla tipologia fluviale			20	
b) sufficientemente diversificata ma con struttura alterata rispetto all'atteso			10	
c) poco equilibrata e diversificata con prevalenza di taxa tolleranti l'inquinamento			5	●
d) assenza di una comunità strutturata, presenza di pochi taxa, tutti piuttosto tolleranti l'inquinamento			1	
			Punteggio totale	127
			<i>Livello di funzionalità</i>	III
				127
				III

SITO N. 4 STAZIONE MANOPPELLO (PE)

In questo tratto il fiume Pescara scorre in una zona pianeggiante (Figura 10.10), la fascia riparia sinistra è costituita terreno agricolo, con formazioni arboree riparie semplificate. In destra idrografica la copertura vegetale è strutturalmente più complessa per diverse porzioni di territorio ed è limitata dalla viabilità, seguita dalla presenza di un invaso artificiale. Sempre in riva destra, per un breve tratto, la fascia ripariale è interrotta dalla presenza ghiaia e ciottoli, mentre in riva sinistra l'erosione è stata contenuta da cassoni di pietre. A monte del sito, in alveo, è presente una briglia in cemento probabilmente costruita con lo scopo di smorzare l'impatto della portata; subito a valle del manufatto è presente una grande pozza profonda delimitata da massi. Il tratto considerato ha un andamento rettilineo ed è guadabile, con la presenza di pozze e riffles (Figura 10.11). La comunità macrobentonica risulta diversificata, ma con una struttura alterata rispetto all'atteso.

Figura 10.10 Sito Manoppello (PE)



Figura 10.11 Sito di Manoppello (PE)



La scheda IFF n. 4 (Figura 10.12) del sito di campionamento di Manoppello ha totalizzato il punteggio complessivo di 155 per la sponda sinistra, pari ad un Livello III, con Giudizio di Funzionalità Mediocre, e di 120 per la sponda destra, corrispondente ad un Giudizio di Funzionalità III/IV, Mediocre-Scadente.

Figura 10.12 Scheda IFF di Manoppello (sito n. 4)

SCHEDA INDICE DI FUNZIONALITÀ FLUVIALE

Bacino: Aterno-Pescara Corso d'acqua: Pescara
 Località: Manoppello (PE)
 Codice: MA
 tratto (m): 100 larghezza alveo di morbida (m): 12 quota (m) s.l.m.: 60
 data: 22/07/2015 scheda N°: 4 Foto N°:

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
--	---------------	-----------	--	-----------

1) Stato del territorio circostante

a) assenza di antropizzazione	25		25
b) compresenza di aree naturali e usi antropici del territorio	20		20
c) colture stagionali e/o permanenti; urbanizzazione rada	5	●	5
d) aree urbanizzate	1		1

2) Vegetazione presente nella fascia perifluviale primaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	40		40
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	25		25
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	10	●	10
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1

2bis) Vegetazione presente nella fascia perifluviale secondaria

a) compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	20		20
b) presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	10		10
c) assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	5		5
d) assenza di formazioni a funzionalità significativa	1		1

3) Ampiezza delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali maggiore di 30 m	15		15
b) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 30 e 10 m	10		10
c) ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 10 e 2 m	5	●	5
d) assenza di formazioni funzionali	1		1

4) Continuità delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale

a) sviluppo delle formazioni funzionali senza interruzioni	15		15
b) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni	10		10
c) sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni frequenti o solo erbacea continua e consolidata o solo arbusteti a dominanza di esotiche e infestanti	5	●	5
d) suolo nudo, popolamenti vegetali radi	1		1

5) Condizioni idriche

a) regime perenne con portate indisturbate e larghezza dell'alveo bagnato > 1/3 dell'alveo di morbida		20	
b) fluttuazioni di portata indotte di lungo periodo con ampiezza dell'alveo bagnato < 1/3 dell'alveo di morbida o variazione del solo tirante idraulico		10	●
c) disturbi di portata frequenti o secche naturali stagionali non prolungate o portate costanti indotte		5	
d) disturbi di portata intensi, molto frequenti o improvvisi o secche prolungate indotte per azione antropica		1	

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
6) Efficienza di esondazione				
a) tratto non arginato, alveo di piena ordinaria superiore al triplo dell'alveo di morbida		25		
b) alveo di piena ordinaria largo tra 2 e 3 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, superiore al triplo)		15		
c) alveo di piena ordinaria largo tra 1 e 2 volte l'alveo di morbida (o. se arginato, largo 2-3 volte)		5	●	
d) tratti di valli a V con forte acclività dei versanti e tratti arginati con alveo di piena ordinaria < di 2 volte l'alveo di morbida		1		
7) Substrato dell'alveo e strutture di ritenzione degli apporti trofici				
a) alveo con massi e/o vecchi tronchi stabilmente incassati (o presenza di fasce di canneto o idrofite)		25		
b) massi e/o rami presenti con deposito di materia organica (o canneto o idrofite rade e poco estese)		15		
c) strutture di ritenzione libere e mobili con le piene (o assenza di canneto e idrofite)		5	●	
d) alveo di sedimenti sabbiosi o sagomature artificiali lisce a corrente uniforme		1		
8) Erosione				
a) poco evidente e non rilevante o solamente nelle curve	20			20 ●
b) presente sui rettilinei e/o modesta incisione verticale	15			15
c) frequente con scavo delle rive e delle radici e/o evidente incisione verticale	5	●		5
d) molto evidente con rive scavate e franate o presenza di interventi artificiali	1			1
9) Sezione trasversale				
a) alveo integro con alta diversità morfologica		20		
b) presenza di lievi interventi artificiali ma con discreta diversità morfologica		15	●	
c) presenza di interventi artificiali o con scarsa diversità morfologica		5		
d) artificiale o diversità morfologica quasi nulla		1		
10) Idoneità ittica				
a) elevata		25		
b) buona o discreta		20	●	
c) poco sufficiente		5		
d) assente o scarsa		1		
11) Idromorfologia				
a) elementi idromorfologici ben distinti con successione regolare		20		
b) elementi idromorfologici ben distinti con successione irregolare		15		
c) elementi idromorfologici indistinti o preponderanza di un solo tipo		5	●	
d) elementi idromorfologici non distinguibili		1		
12) Componente vegetale in alveo bagnato				
a) perifiton sottile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		15		
b) film perifitico tridimensionale apprezzabile e scarsa copertura di macrofite tolleranti		10	●	
c) perifiton discreto o (se con significativa copertura di macrofite tolleranti) da assente a discreto		5		
d) perifiton spesso e/o elevata copertura di macrofite tolleranti		1		
13) Detrito				
a) frammenti vegetali riconoscibili e fibrosi		15		
b) frammenti vegetali fibrosi e polposi		10	●	
c) frammenti polposi		5		
d) detrito anaerobico		1		

	<i>sponda</i>	<i>dx</i>		<i>sx</i>
14) Comunità macrobentonica				
a) ben strutturata e diversificata, adeguata alla tipologia fluviale			20	
b) sufficientemente diversificata ma con struttura alterata rispetto all'atteso			10	●
c) poco equilibrata e diversificata con prevalenza di taxa tolleranti l'inquinamento			5	
d) assenza di una comunità strutturata, presenza di pochi taxa, tutti piuttosto tolleranti l'inquinamento			1	
			Punteggio totale	120
				155
			<i>Livello di funzionalità</i>	III/IV
				III

10.2 Campionamento di fauna Ittica

In totale sono stati campionati 35 esemplari di pesci: n. 11 trote fario (*Salmo trutta*, Linneo, 1758, ceppo atlantico), n. 15 cavedani (*Squalius cephalus*, Linneo, 1758), n. 3 rovelle (*Rutilus rubilio*, Bonaparte, 1837), n. 6 barbi comuni (*Barbus plebejus*, Bonaparte, 1839), distribuiti come riportato in Tabella 10.1.

Tabella 10.1 Esemplari catturati nei 4 siti di campionamento

Data Campionamento	Luogo Campionamento	N° Individui	Specie (numero esemplari)
12/02/2015	MOLINA (AQ)	14	Trota (3)/Cavedano (8)/Rovella (3)
12/02/2015	VITTORITO (AQ)	3	Trota (3)
15/07/2015	BUSSI SUL TIRINO (PE)	3	Trota (2) - Barbo (1)
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	15	Trota (3)/Cavedano (7)/Barbo (5)

Il popolamento ittico è risultato estremamente semplificato in termini sia numerici sia di biomassa totale (Tabella 10.2).

Tabella 10.2 Biomassa, numero di individui e specie catturate nei quattro siti di campionamento suddivise per classi di taglia.

Trota, barbo e cavedano: giovanili ≤ 10 cm; Sub-Adulti 10,1-23,9 cm; Adulti ≥ 24 cm;
Rovella: giovanili ≤ 4 cm; Sub-Adulti 4,1-9,9 cm; Adulti ≥ 10 cm

Sito	Specie	Sub-Adulto	Adulto	Peso (g)	Biomassa (g/m2)
Molina	Trota	2	1	309,7	0,21
	Cavedano	5	3	887,3	0,59
	Rovella	-	3	87,9	0,06
Vittorito	Trota	2	1	230	0,15
Bussi	Trota	2	1	460	0,31
	Barbo	1		120	0,08
Manoppello	Trota		3	740	0,49
	Cavedano	5	7	1020	0,68
	Barbo	2	3	800	0,53

Il numero dei pesci catturati, infatti, è stato esiguo in tutte le stazioni di campionamento, in particolar modo nei siti di Vittorito (Aterno) e di Bussi Officine (Pescara) considerando che sia a monte (sito di Molina) che a valle (sito di Manoppello) sono state campionate anche altre specie con numeri e biomasse superiori, sebbene anche queste molto modeste ed inferiori all'atteso.

Le popolazioni sono risultate poco strutturate e composte prevalentemente da individui sub-adulti o adulti, non sono state pescate forme giovanili. Questo dato stride con la potenzialità ecologica dei siti di campionamento che mostrano una buona idoneità ittica in termini di condizioni idromorfologiche e di zone rifugio. La presenza di un taxon come la trota, poco tollerante al degrado ambientale, seppur numericamente ridotta, potrebbe far pensare ad uno buono stato dei siti di campionamento, ma l'assenza di differenziazione in gruppi ecologici funzionali e l'assenza di una buona struttura demografica delle popolazioni ittiche supportano in realtà un giudizio complessivo negativo, sia dal punto di vista dell'integrità faunistica, sia considerando la funzionalità sistemica.

10.3 Test del Micronucleo

Nella tabella 10.3 sono riportati gli esemplari di pesci catturati con le rilevazioni biometriche e la frequenza di micronuclei su 1.000 eritrociti (FMN‰) prima e dopo la depurazione, se c'è stata (in azzurro presso il CISI sul Vetoio a L'Aquila, in verde presso le vasche del Laboratorio degli Ecosistemi Dulciaquicoli di IZSAM - Capestrano (AQ)).

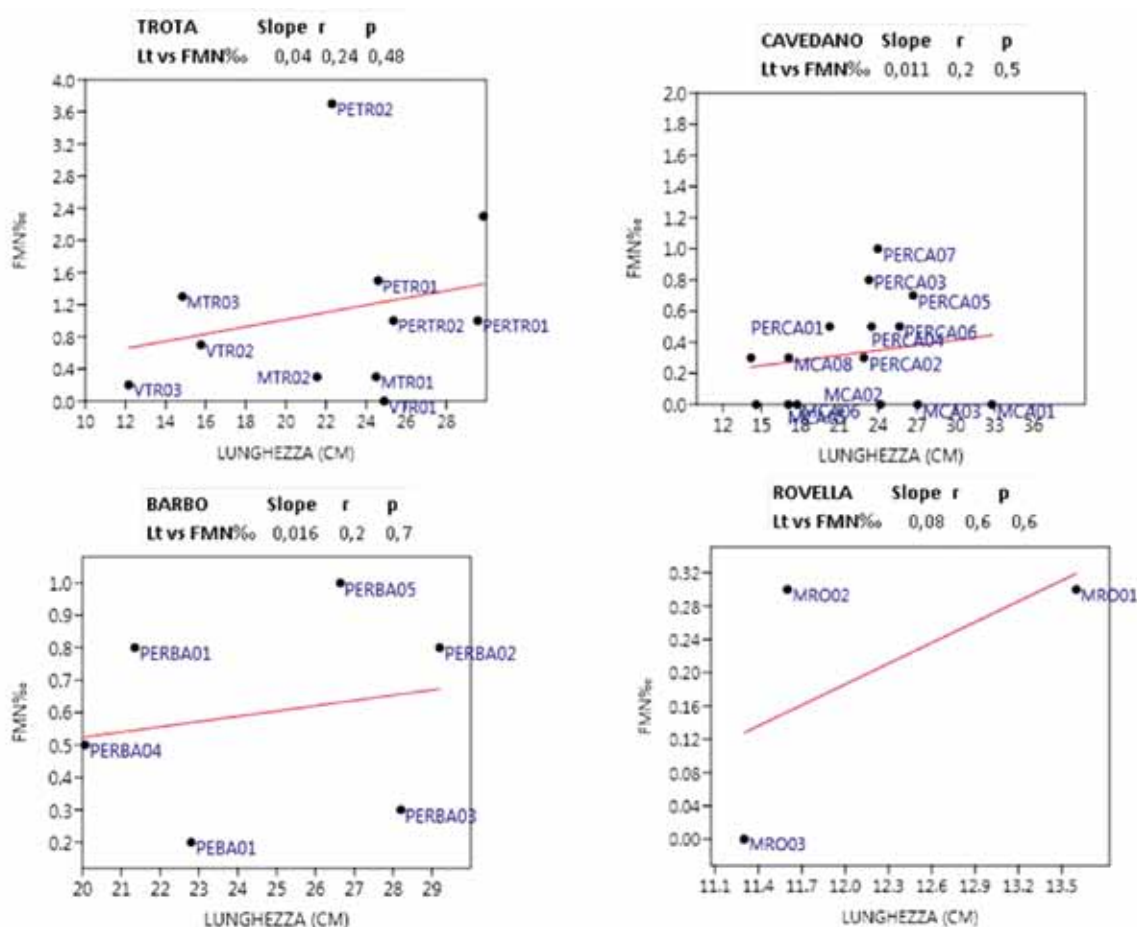
Tabella n. 10.3 Esemplari di pesci campionati.

Data	Luogo Campionamento	Codice campione	SPECIE	LUNGHEZZA (cm)	PESO (g)	FMN% Non depurato	FMN% depurato
12/02/2015	VITTORITO (AQ)	VTR01	TROTA	24,9	170,5	0,0	-
12/02/2015	VITTORITO (AQ)	VTR02	TROTA	15,76	41,2	0,7	0,0
12/02/2015	VITTORITO (AQ)	VTR03	TROTA	12,16	18,3	0,2	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MTR01	TROTA	24,5	165,6	0,3	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MTR02	TROTA	21,55	108,2	0,3	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MTR03	TROTA	14,84	35,9	1,3	0,0
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA01	CAVEDANO	32,79	373	0,0	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA02	CAVEDANO	24,18	137	0,0	0,0
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA03	CAVEDANO	27,06	204	0,0	0,0
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA04	CAVEDANO	14,58	27,1	0,0	0,0
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA05	CAVEDANO	17,07	25,3	0,0	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA06	CAVEDANO	17,72	49,9	0,0	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA07	CAVEDANO	14,18	30	0,3	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MCA08	CAVEDANO	17,09	41	0,3	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MRO01	ROVELLA	13,6	32,5	0,3	0,0
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MRO02	ROVELLA	11,6	28,6	0,3	-
12/02/2015	MOLINA (AQ)	MRO03	ROVELLA	11,3	26,8	0,0	0,0
15/07/2015	BUSSI OFFICINE (PE)	PETRO1	TROTA	24,6	200	1,5	-
15/07/2015	BUSSI OFFICINE (PE)	PETRO2	TROTA	22,3	140	3,7	-
15/07/2015	BUSSI OFFICINE (PE)	PEBA01	BARBO	22,8	120	0,2	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERTR01	TROTA	29,57	240	1,0	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERTR02	TROTA	25,37	190	1,0	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERTR03	TROTA	29,85	310	2,3	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERCA01	CAVEDANO	20,26	70	0,5	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERCA02	CAVEDANO	22,9	150	0,3	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERCA03	CAVEDANO	23,3	130	0,8	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERCA04	CAVEDANO	23,5	130	0,5	0,5
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERCA05	CAVEDANO	26,7	210	0,7	0,5
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERCA06	CAVEDANO	25,66	180	0,5	0,5
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERCA07	CAVEDANO	23,98	150	1,0	0,0
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERBA01	BARBO	21,35	110	0,8	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERBA02	BARBO	29,2	230	0,8	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERBA03	BARBO	28,2	180	0,3	-
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERBA04	BARBO	20,07	70	0,5	0,3
21/07/2015	MANOPPELLO (PE)	PERBA05	BARBO	26,64	210	1,0	0,5

10.3.1 Correlazione taglia/presenza di micronuclei

Avendo catturato specie con esemplari di taglia diversa, corrispondenti a pesci di età e tempi di permanenza nel fiume differenti, come prima analisi, è stata ricercata una correlazione tra la lunghezza totale e la presenza di Micronuclei. La Figura 10.13 mostra le rette di regressione lineare tra le lunghezze dei pesci per ciascuna specie e la frequenza dei micronuclei ritrovata.

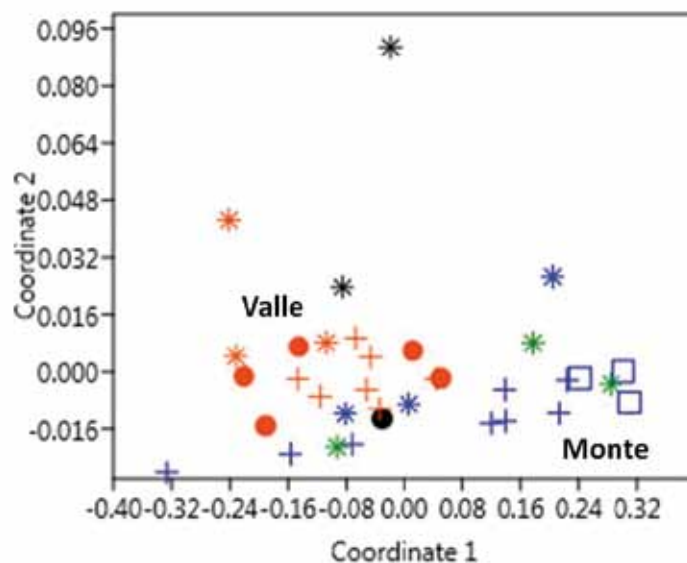
Figura 10.13 Analisi di regressione lineare tra la lunghezza totale degli individui campionati e la frequenza dei micronuclei rinvenuta negli eritrociti delle varie specie. Slope=coefficiente di inclinazione della retta, $r = -1 + 1$ massima correlazione $r=0$ correlazione nulla, $p < 0,05$ correlazione significativa.



I dati della Figura 10.13 mostrano che non è stata riscontrata alcuna correlazione tra la taglia e la frequenza dei micronuclei nelle quattro specie considerate ($p > 0,05$).

Al fine di valutare le differenze tra gli esemplari campionati rispetto alla frequenza dei micronuclei, alla taglia, al tipo di specie e al sito di campionamento, la matrice di dati è stata analizzata attraverso l'utilizzo di una tecnica di analisi multivariata (Multi Dimensional Scaling (MDS) non parametrico), Figura 10.14. Tale tecnica di ordinamento cerca di rappresentare gli oggetti conservando l'originale distanza/differenza tra gli oggetti stessi. L'ordinamento riportato in Figura 10.14, che ha un valore di stress molto basso ($\text{stress} = 0,0004$) e quindi una rappresentazione pressoché perfetta, mostra che gli individui tendono a separarsi piuttosto chiaramente per sito di campionamento (colori differenti), con i pesci di Molina e Vittorito a formare un cluster sulla parte destra e bassa del grafico e i pesci di Manoppello concentrati nella porzione sinistra. Infine i campioni di Bussi sono quelli che maggiormente si differenziano dagli altri, occupando la parte alta del grafico, almeno con la specie trota (*). Una suddivisione degli individui abbastanza netta si può osservare anche per le specie rovela (■) e barbo (●) che costituiscono dei *clusters* raccolti, mentre le trote (*) e i cavedani (+) sono maggiormente distribuiti lungo l'ordinamento. Queste differenze sono da imputare soprattutto alla diversa frequenza dei micronuclei più che alla taglia dei pesci visto che è stata dimostrata la non correlazione tra questi due parametri.

Figura 10.14 Ordinamento dei dati mediante analisi multivariata (Multi Dimensional Scaling non parametrico) rispetto alle taglie degli esemplari e alla frequenza dei micronuclei suddivisi per specie e per sito di campionamento. Il colore indica il sito di campionamento: blu = Molina, verde = Vittorito, nero = Bussi, Arancione = Manoppello; il simbolo indica la specie: * = trota, + = cavedano, ● = barbo, ■ = rovello. Stress = 0,0004.

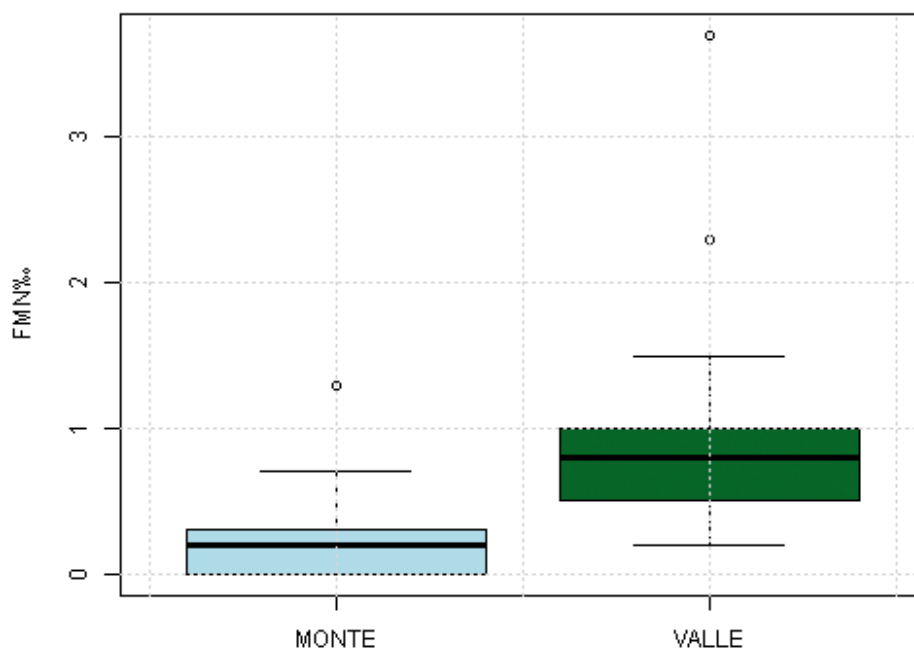


10.3.2 Confronto Monte/Valle

A seguito dell'ordinamento ottenuto mediante MDS non parametrico, i dati relativi alla frequenza dei micronuclei sono stati elaborati per verificare le differenze di espressione di genotossicità tra gli esemplari prelevati mediante diversi raggruppamenti di confronto.

Tutti gli esemplari campionati sono stati divisi in due gruppi rispetto all'ubicazione della discarica di Bussi Officine: gruppo "Monte" composto da tutti i pesci prelevati nei punti di campionamento di Vittorito (AQ) e Molina (AQ) e gruppo "Valle" composto da tutti quelli prelevati a Bussi (PE) e a Manoppello (PE) (Figura 10.15).

Figura 10.15 Elaborazione (boxplot) delle FMN‰ mediante raggruppamento di tutti i pesci campionati a Monte ed a Valle della discarica di Bussi Officine.

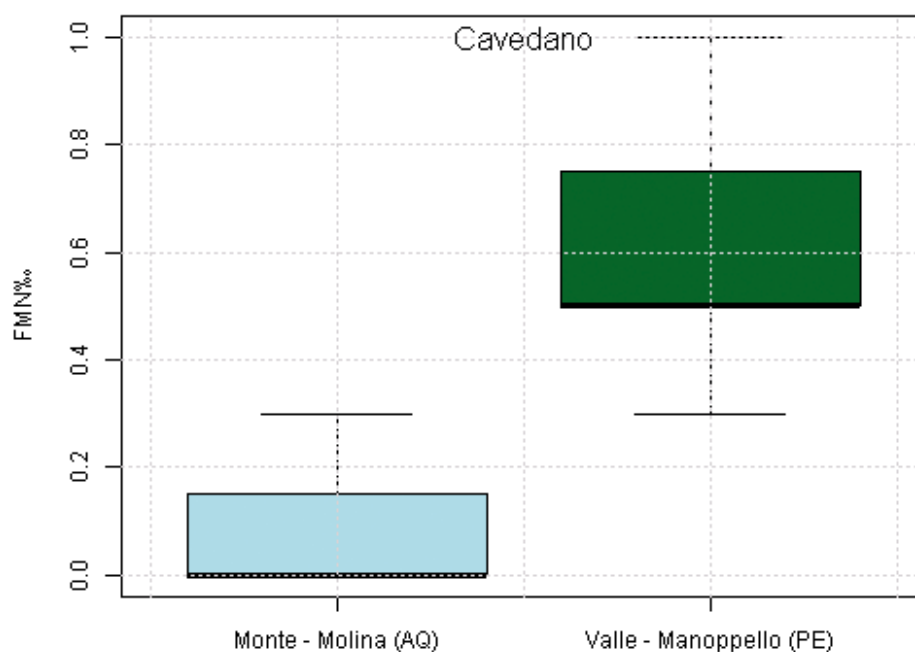


Per valutare la differenza tra i gruppi a confronto è stato usato il test statistico di Wilcoxon per campioni indipendenti. Il test ha mostrato una differenza altamente significativa nelle FMN‰ tra i due gruppi di pesci ($p\text{-value} = 8,4291 \times 10^{-5}$). La mediana del gruppo di "Monte" è risultata pari 0,2 mentre per il gruppo "Valle" pari a 0,8 FMN‰.

10.3.3 Confronto Molina - Monte/Manoppello - Valle per specie CAVEDANO

Tutti gli esemplari di cavedano campionati sono stati divisi in due gruppi rispetto all'ubicazione della discarica di Bussi Officine: gruppo Monte – Molina, composto dai cavedani prelevati nel punto di campionamento di Molina (AQ), e gruppo a Valle – Manoppello composto da quelli prelevati a Manoppello (PE) (Figura 10.16).

Figura 10.16 Elaborazione (boxplot) delle FMN‰ mediante raggruppamento dei cavedani campionati a Molina – Monte e a Manoppello - Valle della discarica di Bussi Officine.

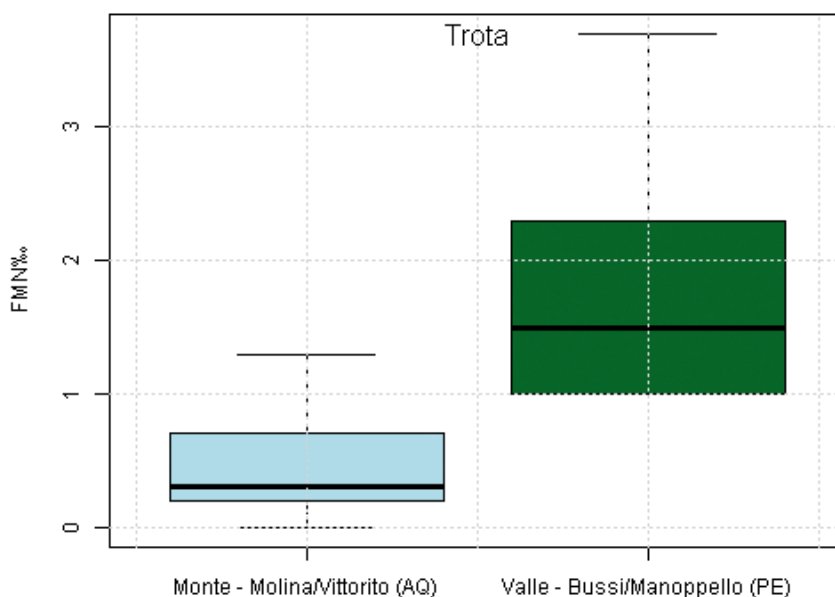


Per valutare la differenza tra i gruppi a confronto è stato usato il test statistico di Wilcoxon per campioni indipendenti. Il test ha mostrato una differenza significativa nelle FMN‰ tra i due gruppi di cavedani ($p\text{-value} = 0,0014$) con una mediana di 0 per il gruppo di "Monte" e una mediana di 0,5 FMN‰ per il gruppo di "Valle".

10.3.4 Confronto Vittorito-Molina (Monte)/ Bussi-Manoppello (Valle) per specie TROTA

Tutti gli esemplari di trota campionati sono stati divisi in due gruppi rispetto all'ubicazione della discarica di Bussi Officine: gruppo "Monte" composto dai pesci prelevati nei punti di campionamento di Molina (AQ) e di Vittorito (AQ) e gruppo "Valle" composto da quelli prelevati a Bussi (PE) e a Manoppello (PE) (Figura 10.17).

Figura 10.17 Elaborazione (boxplot) delle FMN‰ mediante raggruppamento delle trote campionate a monte ed a valle della discarica di Bussi Officine.

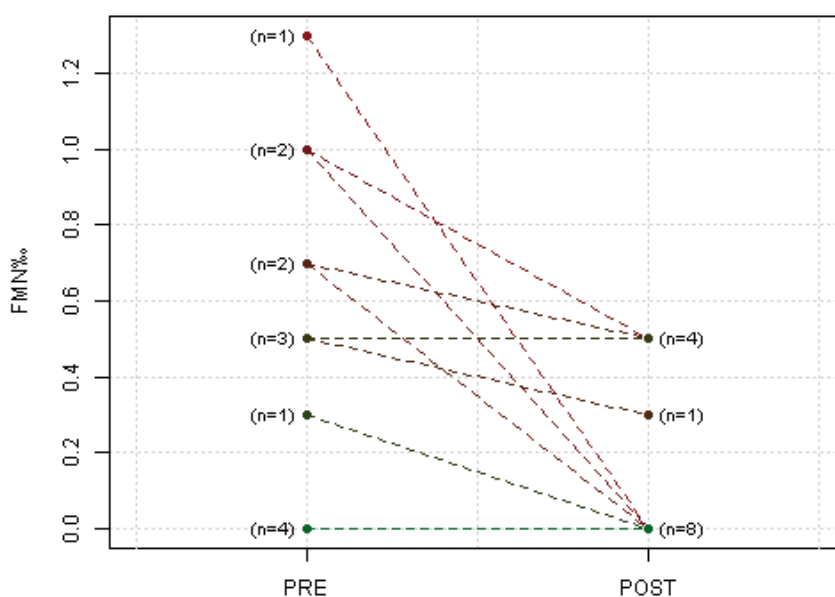


Per valutare la differenza tra i gruppi a confronto è stato usato il test statistico di Wilcoxon per campioni indipendenti. Il test ha mostrato una differenza significativa nelle FMN‰ tra i due gruppi di trote (p-value = 0,0219) con una mediana di 0,3 per il gruppo di "Monte" e una mediana di 1,5 FMN‰ per il gruppo di "Valle".

10.3.5 Confronto tra gli esemplari analizzati al momento del prelievo rispetto a quelli analizzati dopo un mese di stabilizzazione in vasca

Sono stati confrontati i valori di FMN‰ prima e dopo la depurazione in vasca con acque di sorgente; i risultati sono mostrati dalla Figura 10.18.

Figura 10.18 Confronto tra i valori di FMN‰ degli esemplari analizzati al momento del prelievo (Pre-Depurazione) rispetto a quelli analizzati dopo un mese di stabilizzazione in vasca (Post-Depurazione). Le linee tratteggiate uniscono i valori che il medesimo pesce assume nei due momenti differenti. Tra parentesi è indicato il numero di esemplari per cui è stato rilevato lo stesso valore.

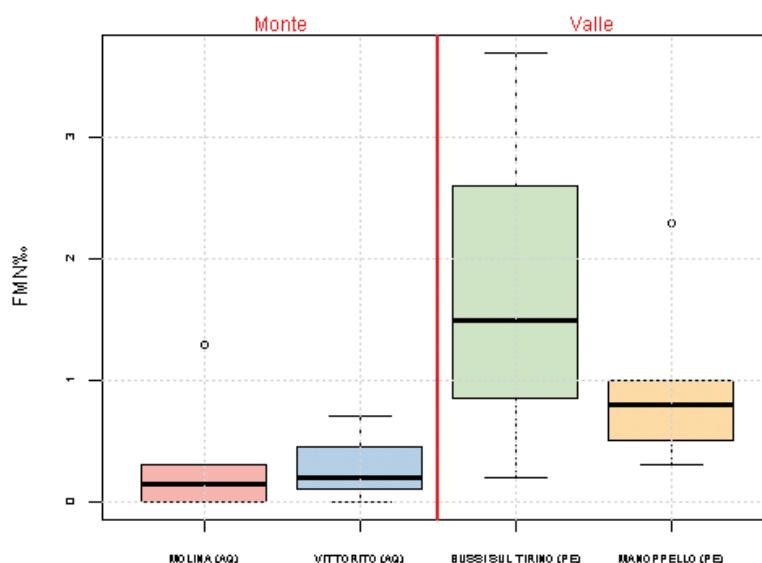


Per valutare la differenza tra i gruppi a confronto è stato usato il test statistico di Wilcoxon per campioni dipendenti, con ipotesi alternativa unilaterale (presupposto è che dopo il trattamento i livelli della variabile diminuiscano). Il test ha mostrato una differenza significativa nelle FMN‰ tra i due gruppi di pesci (p-value = 0,016) con una mediana di 0,5 FMN‰ per il gruppo di "Pre-Depurazione" e una mediana di 0 FMN‰ per il gruppo di "Post-Depurazione". La differenza media prima e dopo la stabulazione è stata di 0,323 FMN‰.

10.3.6 Confronto tra SITI di campionamento

Tutti gli esemplari campionati sono stati confrontati suddividendoli per punto di campionamento: Molina (AQ), Vittorito (AQ), Bussi Officine (PE) e Manoppello (PE) (Figura 10.19).

Figura 10.19 Confronto tra i valori di FMN‰ degli esemplari campionati mediante raggruppamento a Monte (Molina – Vittorito) e a Valle (Bussi – Manoppello) della discarica di Bussi Officine.



La Tabella 10.4, nella quale sono riportati i valori medi delle FMN‰ per sito di campionamento, evidenzia che il valore più alto di micronuclei è stato riscontrato nei pesci di Bussi Officine.

Tabella 10.4. Valori medi di FMN‰ nei quattro siti di prelievo:

SITO	FMN‰
MOLINA (AQ)	0,15
VITTORITO (AQ)	0,2
BUSSI OFFICINE (PE)	1,5
MANOPPELLO (PE)	0,8

Per confrontare i quattro siti di campionamento è stato usato il test statistico non parametrico di Kruskal/Wallis. Il test ha mostrato una differenza significativa nelle FMN‰ tra i quattro punti di campionamento (p-value = 0,0013). Poiché il confronto generale è risultato significativo, sono stati effettuati ulteriori approfondimenti statistici raffrontando ciascun sito con quello di Bussi (test unilaterale) tramite test di Wilcoxon per campioni indipendenti. La Tabella 10.5 riassume se siano state riscontrate o meno significatività nel confronto.

Tabella 10.5 Significatività del confronto tra le FMN‰ di Bussi Officine e quelle degli altri tre siti.

Bussi Officine/Manoppello	p-value = 0,2357	Confronto non significativo
Bussi Officine/Molina	p-value = 0,0356	Confronto significativo
Bussi Officine /Vittorito	p-value = 0,1341	Confronto non significativo

10.4 Valutazione dello stato riproduttivo

La Tabella 10.6 mostra i dati relativi al cavedano campionato il 06 aprile 2016 e sacrificato per lo studio della biologia riproduttiva.

Tabella 10.6 *Dati riepilogati del cavedano analizzato*

DATA	06/04/2016
Luogo	Fiume Pescara/ Manoppello
Specie	Cavedano
Peso totale	443 (g)
Peso Gonadi	53 (g)
Lunghezza totale	33 (cm)
Lunghezza standard	28,5 (cm)
Sesso	Femmina
Stadio Maturazione macroscopica	2
IG%	12,0
Stadio Oocita più avanzato	oocita in vitellogenesi (S3)

Il cavedano è risultato un animale adulto, di sesso femminile. Ad un livello macroscopico è risultato appartenere allo Stadio III (avanzato stadio di maturazione della gonade) (Fig. 10.20), cioè l'ovario appariva di colore nocciola chiaro, gonfio, e riempiva tutta la cavità ventrale. La consistenza era molto molle e l'irrorazione abbondante. Attraverso la parete ovarica trasparente e sottile, si vedevano grandi uova di colore giallo chiaro frammiste ad oociti in maturazione di colore bianco opaco.

Figura 10.20. *Determinazione macroscopica del sesso mediante dissezione*



Tale osservazione ha avuto in effetti un riscontro oggettivo con il valore molto alto dell'Indice Gonadico (IG) pari a 12%. Le analisi istologiche del tessuto gonadico hanno determinato l'individuazione di 4 stadi di maturazione delle cellule germinali (Figura 10.21):

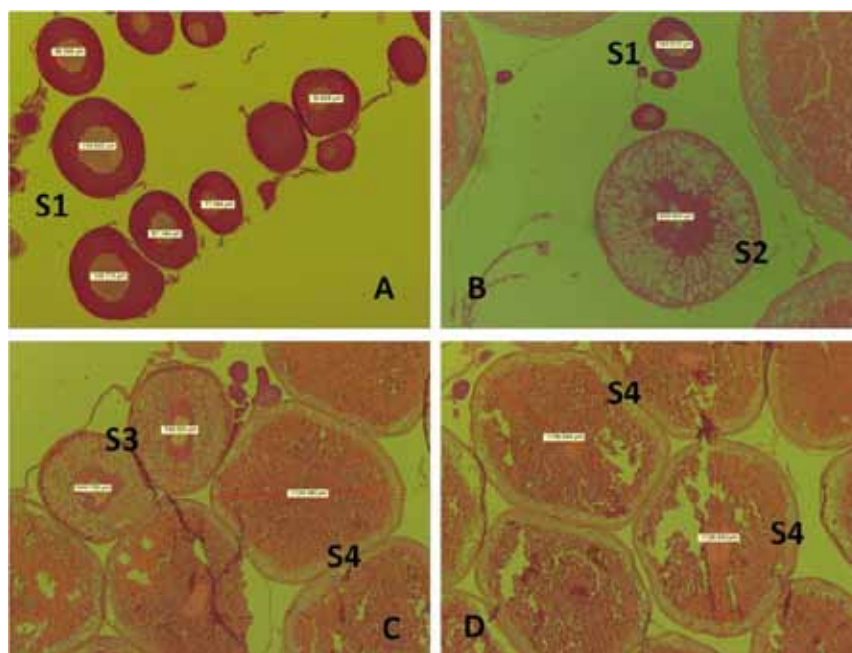
1. oociti in previtellogenesi (S1);
2. oociti con alveoli corticali e vescicole lipidiche (S2);
3. oociti in vitellogenesi precoce (S3);
4. oociti in in vitellogenesi avanzata (S4).

Non sono stati osservati nè oociti in fase di migrazione nucleare, nè oociti idratati, nè follicoli post-ovulatori, nè oociti in atresia.

Basandosi sull'organizzazione, il tipo e la frequenza delle cellule germinali è stato assegnato lo stadio di maturità III, a tutti i preparati istologici effettuati, secondo quanto riportato in Tabella 9.2.

Le lamelle ovariche sono risultate quasi completamente piene di oociti vitellogenici a differenti gradi di maturazione e, nella maggior parte dei casi, questi erano totalmente ripieni di tuorlo. Gli oociti mostravano una forma regolare e un diametro mediamente di oltre 1 mm di larghezza, il nucleo era ancora in posizione centrale.

Figura 10.21. (A) = oociti al primo stadio di sviluppo diametro compreso tra 70-130 μm (S1); (B) = oocita allo stadio di alveoli corticali e vescicole lipidiche diametro tra 160-500 μm (S2); (C) = oocita con granuli proteici e vescicole lipidiche diametro tra 500-800 μm (S3); (D) = oociti con citoplasma quasi totalmente ripieno di tuorlo diametro tra 800-1300 μm (S4).



10.5 Analisi chimiche nel muscolo di pesce

Le analisi chimiche sono state condotte su 35 campioni di pesci, con l'eccezione della trota VTR03, catturata nel sito di Vittorito e posta a depurare nell'impianto del CISI, alla quale erroneamente non sono state assegnate le analisi relative a PCB e diossine.

Nella Tabella 9.6 sono riportati i risultati delle analisi dei metalli pesanti e in Tabella 9.7 quelli delle diossine e PCB.

Tabella 10.7. Valori dei metalli pesanti espressi in mg/Kg per i pesci campionati nei quattro siti di campionamento e dopo la depurazione (in rosso gli esemplari che hanno superato i limiti di legge per il mercurio).

Codice	Specie	Sito	Monte/Valle /Depurati	As	Cd	Cr	Hg	Pb
MCA01	Cavedano	Molina	Monte	0,27	0,0011	0,04	0,20	0,013
MCA02	Cavedano	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,05	0,0085	0,08	0,20	0,005
MCA03	Cavedano	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,07	0,0010	0,08	0,14	0,003
MCA04	Cavedano	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,05	0,0021	0,07	0,06	0,010
MCA05	Cavedano	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,05	0,0028	0,08	0,09	0,006
MCA06	Cavedano	Molina	Monte	0,31	0,0016	0,02	0,07	0,012
MCA07	Cavedano	Molina	Monte	0,31	0,0014	0,03	0,06	0,011
MCA08	Cavedano	Molina	Monte	0,15	0,0015	0,06	0,05	0,017
MRO02	Rovella	Molina	Monte	0,16	0,0097	0,03	0,22	0,056
MRO01	Rovella	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,06	0,0043	0,10	0,22	0,007
MRO03	Rovella	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,06	0,0014	0,08	0,24	0,025
MTR01	Trota	Molina	Monte	0,36	0,0008	0,03	0,09	0,008
MTR02	Trota	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,04	0,0015	0,03	0,04	0,017

Codice	Specie	Sito	Monte/Valle /Depurati	As	Cd	Cr	Hg	Pb
MTR03	Trota	Molina/Vetoio	Depurati/Monte	0,09	0,0007	0,05	0,04	0,004
PEBA01	Barbo	Bussi Officine	Valle	0,08	0,0015	0,12	0,67	0,021
PERBA01	Barbo	Manoppello	Valle	0,04	0,0002	0,06	0,01	0,004
PERBA02	Barbo	Manoppello	Valle	0,22	0,0007	1,80	1,10	0,038
PERBA03	Barbo	Manoppello	Valle	0,12	0,0016	0,27	0,68	0,025
PERBA04	Barbo	Manoppello/ Capestrano	Depurati/Valle		0,0027	1,23	0,54	0,058
PERBA05	Barbo	Manoppello/ Capestrano	Depurati/Valle		0,0010	0,46	0,39	0,071
PERCA01	Cavedano	Manoppello	Valle	0,14	0,0008	0,47	0,22	0,016
PERCA02	Cavedano	Manoppello	Valle	0,12	0,0061	1,60	0,39	0,021
PERCA03	Cavedano	Manoppello	Valle	0,16	0,0008	1,30	0,37	0,030
PERCA04	Cavedano	Manoppello/ Capestrano	Depurati/Valle		0,0039	1,16	0,88	0,091
PERCA05	Cavedano	Manoppello/ Capestrano	Depurati/Valle		0,0010	0,34	0,28	0,039
PERCA06	Cavedano	Manoppello/ Capestrano	Depurati/Valle		0,0014	0,32	0,79	0,048
PERCA07	Cavedano	Manoppello/ Capestrano	Depurati/Valle		0,0010	0,24	0,33	0,058
PERTR01	Trota	Manoppello	Valle	0,28	0,0012	0,25	0,12	0,027
PERTR02	Trota	Manoppello	Valle	0,20	0,0008	0,79	0,13	0,024
PERTR03	Trota	Manoppello	Valle	0,17	0,0007	0,31	0,13	0,033
PETR01	Trota	Bussi Officine	Valle	0,25	0,0004	0,12	0,09	0,077
PETR02	Trota	Bussi Officine	Valle	0,25	0,0008	0,13	0,07	0,036
VTR01	Trota	Vittorito	Monte	0,37	0,0027	0,04	0,13	0,017
VTR02	Trota	Vittorito/Vetoio	Depurati/Monte	0,03	0,0006	0,04	0,05	0,003
VTR03	Trota	Vittorito	Monte	0,52	0,0080	0,09	0,04	0,029

Tabella 10.8. Valori delle diossine, diossine+PCB diossina-simili e PCB, espressi in pg-TE/g, e di PCB non diossina-simili, espressi in ng/g, per i pesci campionati nei quattro siti di campionamento e dopo la depurazione (in rosso l'esemplare che ha superato i limiti di legge per diossine+PCB diossina-simile e per PCB).

Codice	Specie	Sito	Monte/ Valle/ Depurati	DIOSSINE WHO-TEQ -05	DIOSSINE+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05	PCB WHO-TEQ -05	PCB non diossina- simili ICES-6
PEBA01	Barbo	Bussi	Valle	0,332	2,808	2,476	35,20
PERBA01	Barbo	Manoppello	Valle	0,151	0,746	0,595	6,53
PERBA02	Barbo	Manoppello	Valle	0,263	1,116	0,853	10,34
PERBA03	Barbo	Manoppello	Valle	0,081	0,679	0,598	6,22
PERBA04	Barbo	Manoppello	Depurati/Valle	0,260	1,508	1,248	13,20
PERBA05	Barbo	Manoppello	Depurati/Valle	0,167	0,777	0,610	7,33
MCA01	Cavedano	Molina	Monte	0,204	2,051	1,847	21,59
MCA02	Cavedano	Molina	Depurati/Monte	0,029	0,416	0,387	7,41
MCA03	Cavedano	Molina	Depurati/Monte	0,153	0,974	0,821	12,78
MCA04	Cavedano	Molina	Depurati/Monte	0,077	1,180	1,103	12,90
MCA05	Cavedano	Molina	Depurati/Monte	0,037	0,768	0,731	8,61
MCA06	Cavedano	Molina	Monte	0,169	1,612	1,443	17,32
MCA07	Cavedano	Molina	Monte	0,409	1,658	1,249	17,83
MCA08	Cavedano	Molina	Monte	0,111	1,058	0,947	12,46
PERCA01	Cavedano	Manoppello	Valle	0,138	0,718	0,580	5,42
PERCA02	Cavedano	Manoppello	Valle	0,144	0,965	0,821	8,83
PERCA03	Cavedano	Manoppello	Valle	0,118	1,302	1,184	8,15
PERCA04	Cavedano	Manoppello	Depurati/Valle	0,091	0,696	0,605	5,90
PERCA05	Cavedano	Manoppello	Depurati/Valle	0,168	0,955	0,787	6,75
PERCA06	Cavedano	Manoppello	Depurati/Valle	0,042	0,468	0,426	4,32
PERCA07	Cavedano	Manoppello	Depurati/Valle	0,057	0,464	0,407	5,36
MRO01	Rovella	Molina	Depurati/Monte	0,504	5,482	4,978	58,30

Codice	Specie	Sito	Monte/ Valle/ Depurati	DIOSSINE WHO-TEQ -05	DIOSSINE+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05	PCB WHO-TEQ -05	PCB non diossina- simili ICES-6
MRO02	Rovella	Molina	Monte	0,329	3,819	3,490	34,70
MRO03	Rovella	Molina	Depurati/Monte	0,572	6,673	6,101	63,86
MTR01	Trota	Molina	Monte	0,084	1,608	1,524	23,18
MTR02	Trota	Molina	Depurati/Monte	0,056	1,675	1,619	19,88
MTR03	Trota	Molina	Depurati/Monte	0,111	1,409	1,298	16,14
PERTR01	Trota	Manoppello	Valle	0,085	0,388	0,303	3,40
PERTR02	Trota	Manoppello	Valle	0,304	1,563	1,259	11,38
PERTR03	Trota	Manoppello	Valle	0,144	0,750	0,606	5,74
PETRO1	Trota	Bussi Officine	Valle	0,891	3,776	2,885	32,36
PETRO2	Trota	Bussi Officine	Valle	0,301	1,440	1,139	15,14
VTR01	Trota	Vittorito	Monte	0,035	0,550	0,515	14,25
VTR02	Trota	Vittorito	Depurati/Monte	0,173	1,445	1,272	15,47

I limiti di legge sono stabiliti dal Regolamento 1881/2006/CE del 19 dicembre 2006, modificato dal Regolamento 1259/2011/CE del 2 dicembre 2011 per PCB diossina-simili e PCB diossina non simili su prodotto intero negli alimenti (Tabella 10.9).

Tabella 10.9 Valori-limite per metalli pesanti, diossine e PCB nei pesci selvatici

Parametro	Valore-limite
Cadmio	0,050 mg/Kg
Mercurio	0,50 mg/Kg
Piombo	0,30 mg/Kg
Diossine WHO-TEQ-05	3,5 pg/g
Diossine+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05	6,5 pg/g
PCB non diossina-simili ICES	125 ng/g

Per l'arsenico, per il cromo e per PCB WHO-TEQ-05 non sono previsti valori-limite per la loro concentrazione negli alimenti.

I risultati mostrano un superamento dei limiti di concentrazione in n. 6 campioni per il mercurio (17,6%), in n. 1 campione per diossine+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 (2,9%).

La Tabella 10.10 mostra la ripartizione dei campioni nei quali sono stati superati i limiti di legge tra i 4 siti di monitoraggio indicando una contaminazione per il mercurio da Bussi Officine verso valle (Manoppello) e per le diossine+PCB nel sito di Molina.

Tabella 10.10 Percentuale di campioni con superamento dei valori limite per mercurio e diossine + PCB diossina simili

	Mercurio	Diossine + PCB
Molina	0	33,3%
Vittorito	0	0
Bussi	33,3%	0
Manoppello	33,3%	0

10.5.1 Correlazione taglia/analisi chimiche

Avendo a disposizione diverse specie ed esemplari di taglia differente, è stata effettuata una correlazione tra la taglia e la concentrazione di sostanze chimiche per ciascuna specie catturata.

Le figure 10.22, 10.23, 10.24 e 10.25 mostrano le rette di regressione tra le lunghezze dei pesci e le concentrazioni delle sostanze chimiche.

Figura 10.22 Specie Trota: analisi di regressione lineare tra la lunghezza totale degli esemplari campionati e la concentrazione di ciascun parametro chimico rilevato nel muscolo dei pesci

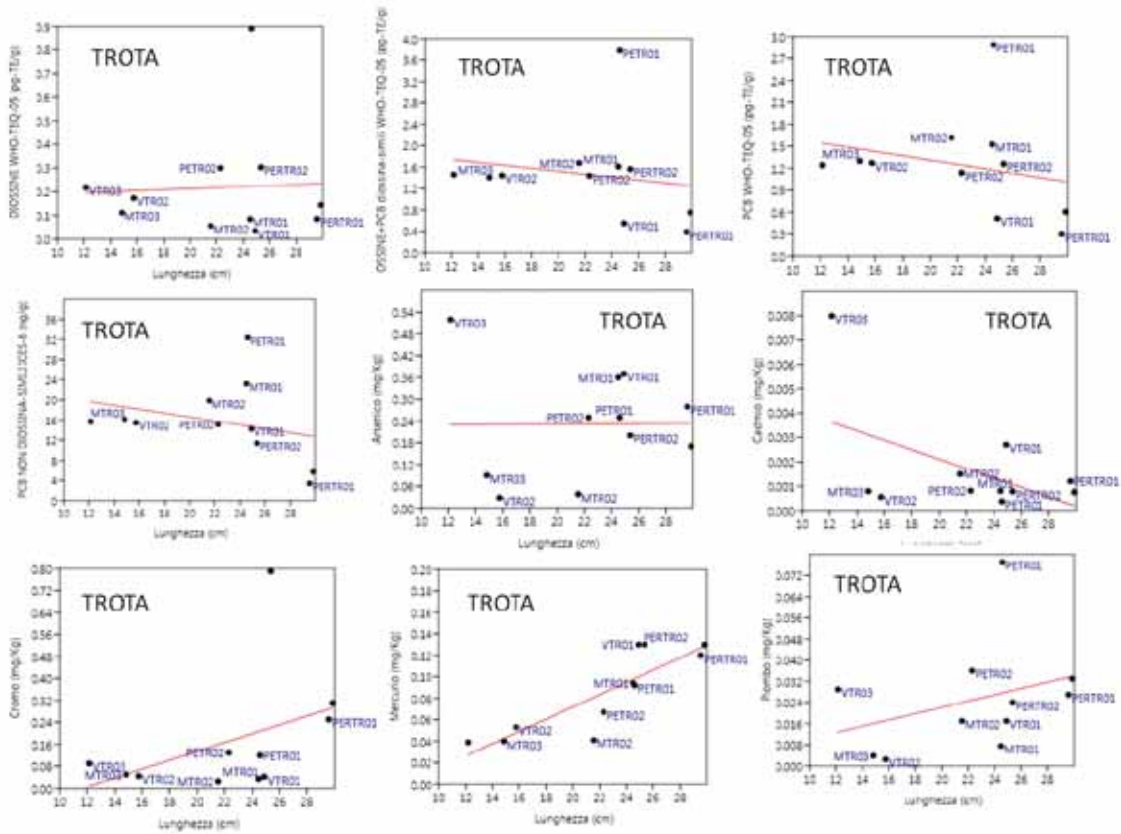


Figura 10.23 Specie Cavedano: analisi di regressione lineare tra la lunghezza totale degli esemplari campionati e la concentrazione di ciascun parametro chimico rilevato nel muscolo dei pesci

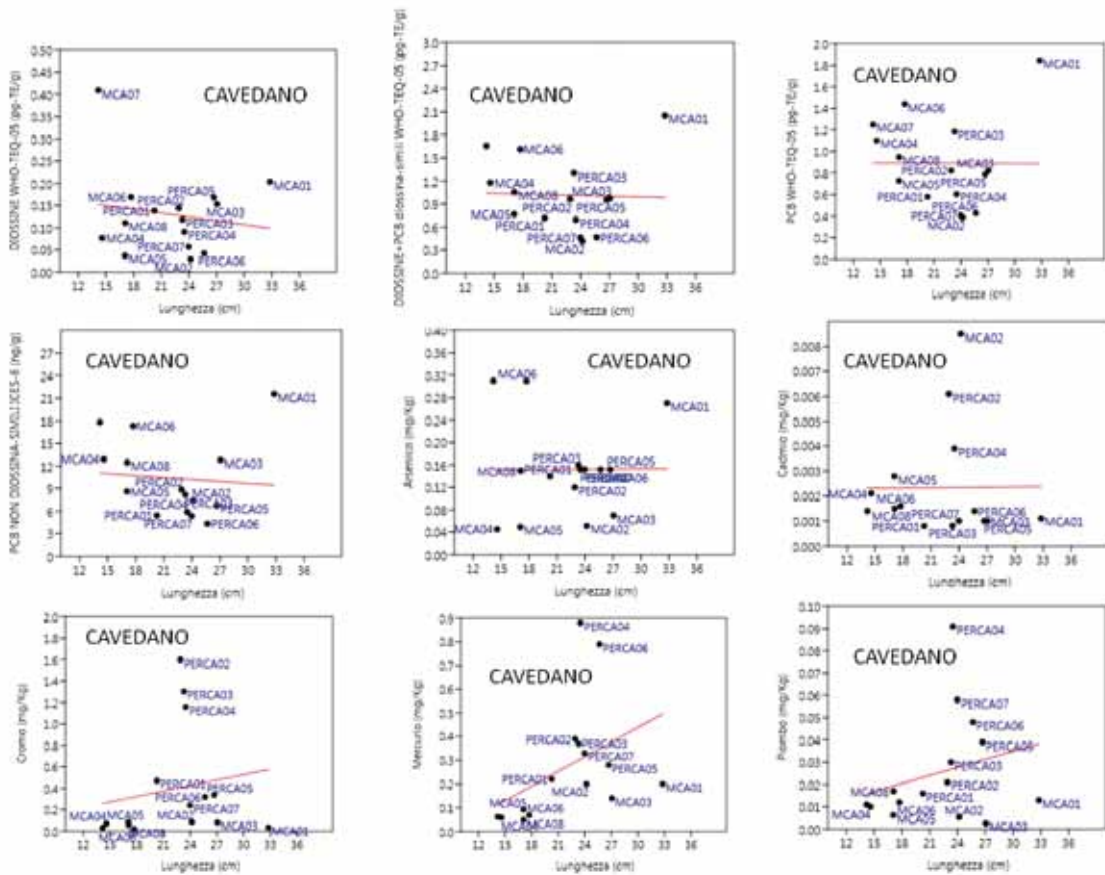


Figura 10.24 Specie Barbo: analisi di regressione lineare tra la lunghezza totale degli esemplari campionati e la concentrazione di ciascun parametro chimico rilevato nel muscolo dei pesci

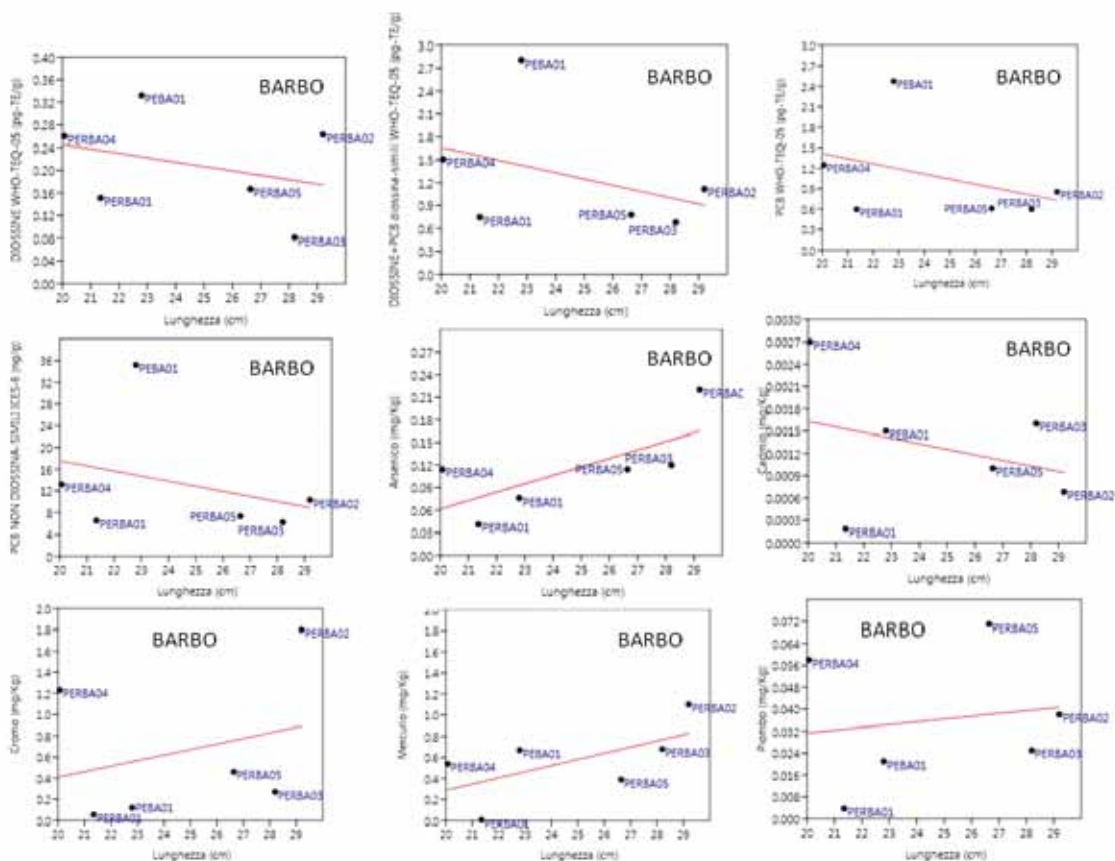
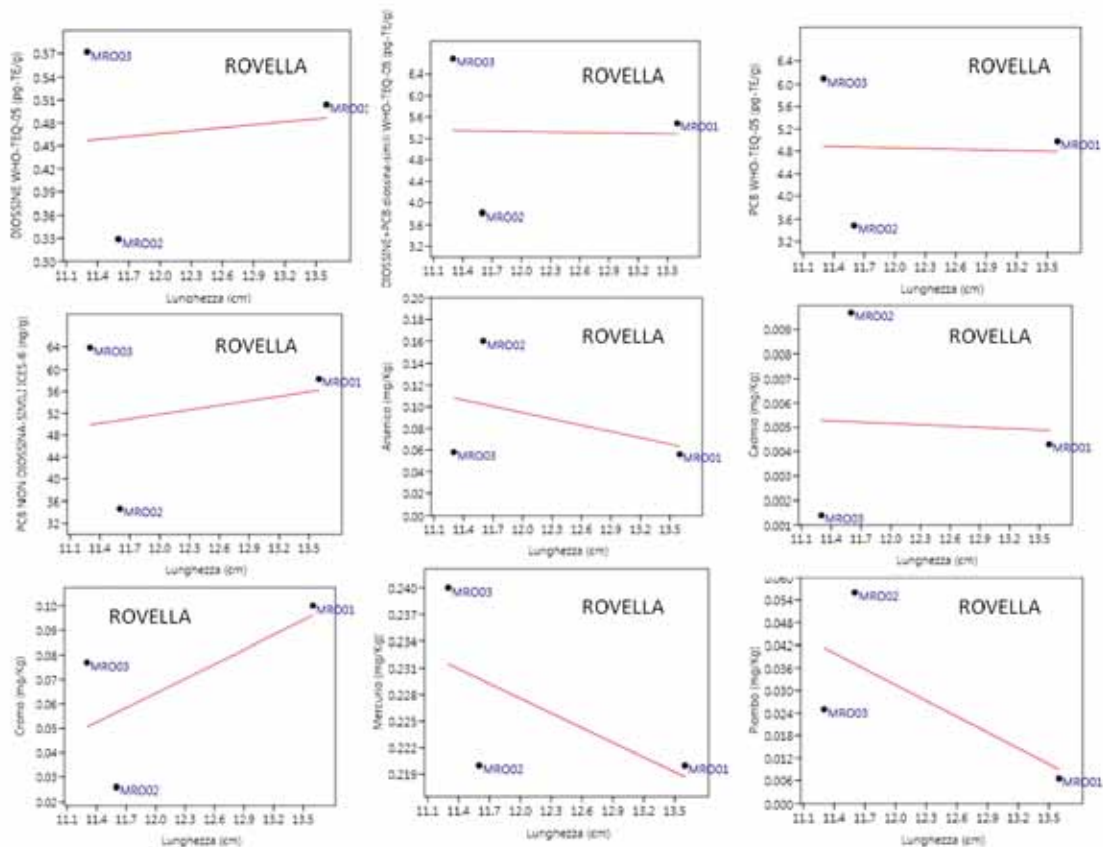


Figura 10.25 Specie Rovella: analisi di regressione lineare tra la lunghezza totale degli esemplari campionati e la concentrazione di ciascun parametro chimico rilevato nel muscolo dei pesci.



La Tabella 10.11 riassume i dati delle Figure 10.22, 10.23, 10.24 e 10.25 mostrando che esiste una correlazione solo nella specie "Trotta" e solo per il parametro "Mercurio" ($p=0,0007$), in tutti gli altri confronti effettuati la taglia non è risultata direttamente correlata con le concentrazioni delle sostanze chimiche riscontrate nel muscolo.

Tabella 10.11 *Analisi di regressione tra la lunghezza delle specie campionate e i parametri chimici ricercati: slope=coefficiente di inclinazione della retta, $r=1$ massima correlazione, $p<0,05$ correlazione significativa.*

ANALISI DI REGRESSIONE TRA LA LUNGHEZZA DELLE SPECIE CAMPIONATE E I PARAMETRI CHIMICI RICERCATI												
SPECIE	Trotta			Cavedano			Barbo			Rovella		
	Slope	r	p	Slope	r	p	Slope	r	p	Slope	r	p
Regressione Lunghezza vs analisi chimiche												
DIOSSINE WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)	0,0021	0,05	0,8799	-0,00285	-0,157	0,58	-0,0077	-	0,53	0,01287	0,13	0,92
DIOSSINE+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)	-0,0273	-0,18	0,5996	-0,00305	-0,033	0,91	-0,0825	0,32	0,45	-0,02873	-	0,98
PCB WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)	-0,0295	-0,25	0,4609	-0,0002	-0,003	0,99	-0,0748	0,39	0,45	-0,04160	0,03	0,97
PCB NON DIOSSINA-SIMILI ICES-6 (ng/g)	-0,3898	-0,29	0,3920	-0,08779	-0,087	0,76	-0,9394	0,39	0,53	2,73600	0,04	0,86
Arsenico (mg/Kg)	0,0002	0,01	0,9779	0,000115	0,007	0,98	0,0112	0,32	0,11	-0,01940	0,22	0,73
Cadmio (mg/Kg)	-0,0002	-0,51	0,1066	3,87E-06	0,009	0,97	-0,0001	0,71	0,53	-0,00017	0,41	0,97
Cromo (mg/Kg)	0,0161	0,42	0,2043	0,016875	0,168	0,55	0,0523	-0,33	0,59	0,01979	0,05	0,55
Mercurio (mg/Kg)	0,0057	0,86	0,0007	0,02064	0,420	0,12	0,0587	0,28	0,19	-0,00554	0,65	0,59
Piombo (mg/Kg)	0,0012	0,33	0,3153	0,001207	0,257	0,36	0,0010	0,62	0,77	-0,01410	-0,70	0,50

10.5.2 Confronto tra SITI di campionamento

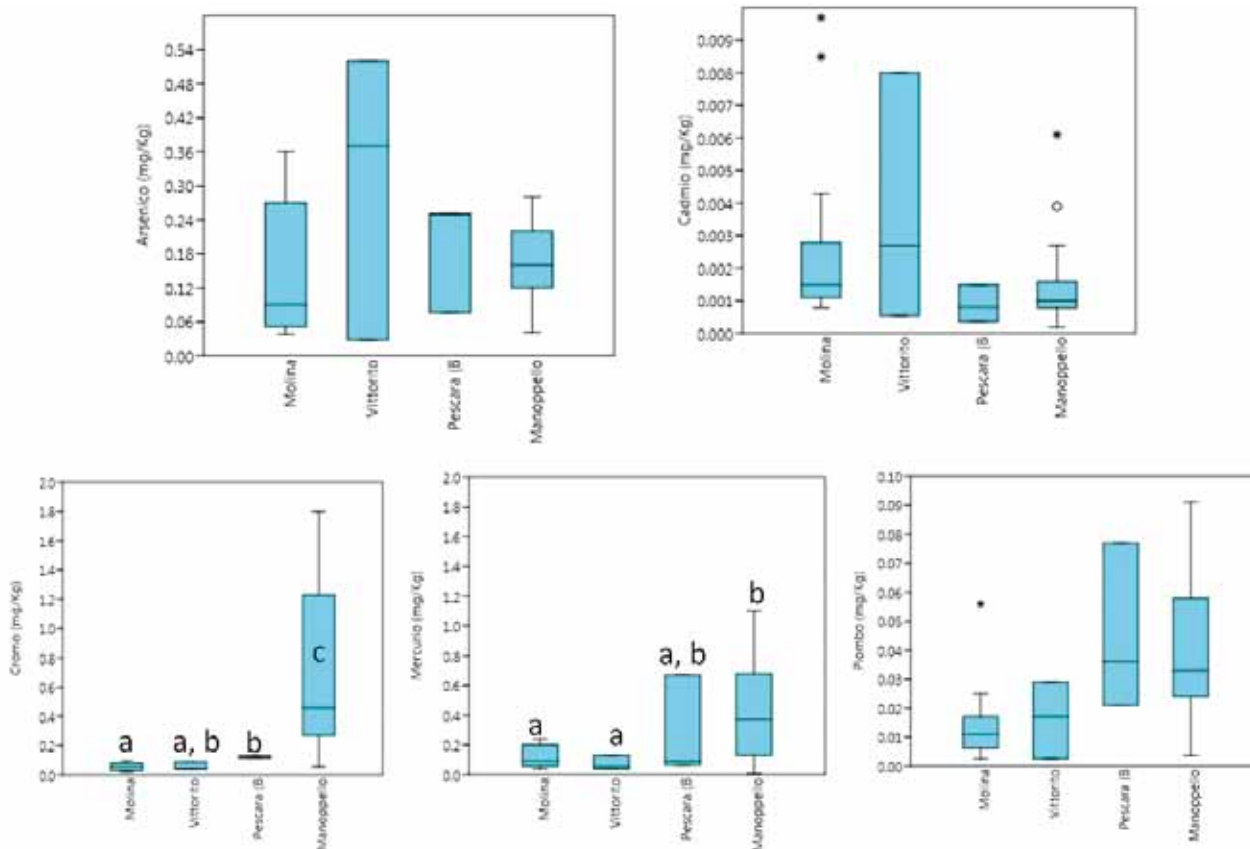
Come già fatto per i micronuclei, i dati delle analisi chimiche sono stati elaborati per verificare le eventuali differenze di accumulo nel muscolo mediante diversi raggruppamenti di confronto.

Tutti gli esemplari campionati sono stati confrontati suddividendoli per sito di campionamento: Molina (AQ), Vittorito (AQ), Bussi Officine (PE) e Manoppello (PE).

La Figura 10.26 mostra i valori dei metalli pesanti rilevati nei pesci nei quattro siti di campionamento. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra i siti mediante il test non parametrico di Kruskal-Wallis e, dove il test è risultato significativo ($p<0,05$), i confronti a coppie sono stati effettuati anche con il test di Mann-Whitney. Arsenico, cadmio e piombo non hanno mostrato differenze significative tra i siti. Il cromo è risultato, invece, significativamente più abbondante nei pesci di Manoppello rispetto a tutti gli altri siti (p -value Manoppello vs Molina = $2 \cdot 10^{-5}$, p -value Manoppello vs Vittorito = 0,012, p -value Manoppello vs Bussi = 0,024). Sempre per il cromo, una differenza significativa è stata trovata anche tra i pesci di Bussi Officine e quelli di Molina (p -value=0,009). Il mercurio è risultato significativamente più abbondante nel sito di Manoppello rispetto a Molina e a Vittorito (p -value = 0,002; p -value = 0,043 rispettivamente), ma non rispetto a Bussi Officine.

Figura 10.26 Valori dei metalli pesanti rilevati nei pesci nei quattro siti di campionamento.

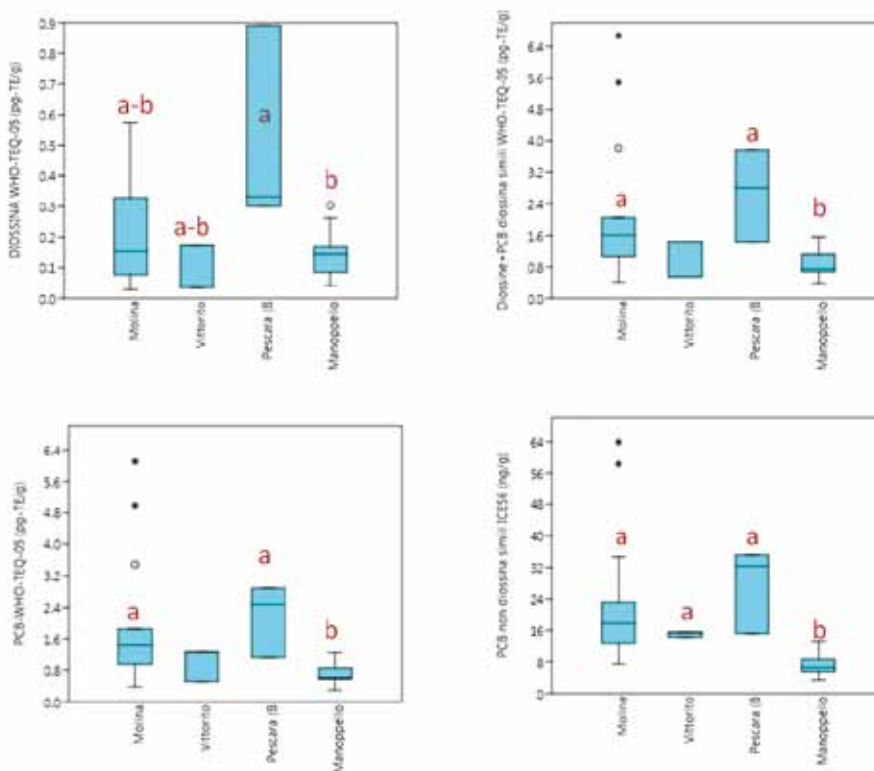
Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra i siti mediante il test non parametrico di Kruskal-Wallis e, dove il test è risultato significativo ($P < 0,05$), confronti a coppie sono stati effettuati con il test di Mann-Whitney. a - b - c mostrano le differenze significative tra i siti ($P < 0,05$).



parametro sono state testate le differenze tra i siti mediante il test non parametrico di Kruskal-Wallis e, dove il test è risultato significativo ($P < 0,05$), confronti a coppie sono stati effettuati con il test di Mann-Whitney. La diossina su prodotto intero (WHO-TEQ-05) è risultata statisticamente più abbondante nel sito di Bussi Officine rispetto a Manoppello (p -value = 0,012). Per le altre sostanze testate (diossine + PCB diossina simili, PCB su prodotto intero e PCB non diossina simili) valori significativamente più bassi sono stati trovati nel sito di Manoppello rispetto a Molina e a Bussi per le diossine + PCB diossina simili e per PCB su prodotto intero (p -value Manoppello vs Molina = 0,002, p -value Manoppello vs Bussi = 0,017; p -value Manoppello vs Molina = 0,001, p -value Manoppello vs Bussi = 0,024) e rispetto a tutti e tre i siti per PCB non diossina simili (p -value Manoppello vs Molina = $5 \cdot 10^{-5}$, p -value Manoppello vs Vittorito = 0,03, p -value Manoppello vs Bussi = 0,009).

Figura 10.27 Valori delle diossine e PCB rilevati nei pesci nei quattro siti di campionamento.

Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra i siti mediante il test non parametrico di Kruskal-Wallis e, dove il test è risultato significativo ($P < 0,05$), confronti a coppie sono stati effettuati con il test di Mann-Whitney. *a - b* mostrano le differenze significative tra i siti ($P < 0,05$).



10.5.3 Confronto tra i pesci (non depurati) di monte e di valle rispetto al sito SIN di Bussi Officine

Avendo catturato nei quattro siti specie differenti e in quantità disomogenee e avendo analizzato alcuni dei pesci in tempi successivi sottoponendoli a circa un mese di depurazione in acqua di sorgente, si è pensato di comparare i campioni a disposizione in differenti modi.

Un primo confronto è stato effettuato al fine di aumentare l'unità campionaria, molto ridotta per i siti di Vittorito e Bussi Officine (due e tre esemplari rispettivamente). È stato, quindi, deciso di effettuare un controllo dei pesci campionati nei due siti a monte (Molina-Vittorito) del sito SIN di Bussi Officine e confrontarli con i pesci catturati nei due siti a valle (Bussi-Manoppello), escludendo i campioni dei pesci depurati. La Figura 10.28 mostra questi dati sotto forma di box-plot indicando le differenze significative ($p < 0,05$) riscontrate rispetto ad arsenico, cadmio e cromo. La Figura 10.29 mostra sotto forma di box-plot i dati relativi alle diossine e ai PCB. Solo per i PCB non diossina simili sono state trovate differenze significative per mezzo del test di Wilcoxon ($p < 0,05$).

Figura 10.28 Valori dei metalli pesanti nei pesci non depurati campionati a monte e a valle e confronto mediante il test di Wilcoxon. Le differenze significative sono espresse per $p < 0,05$

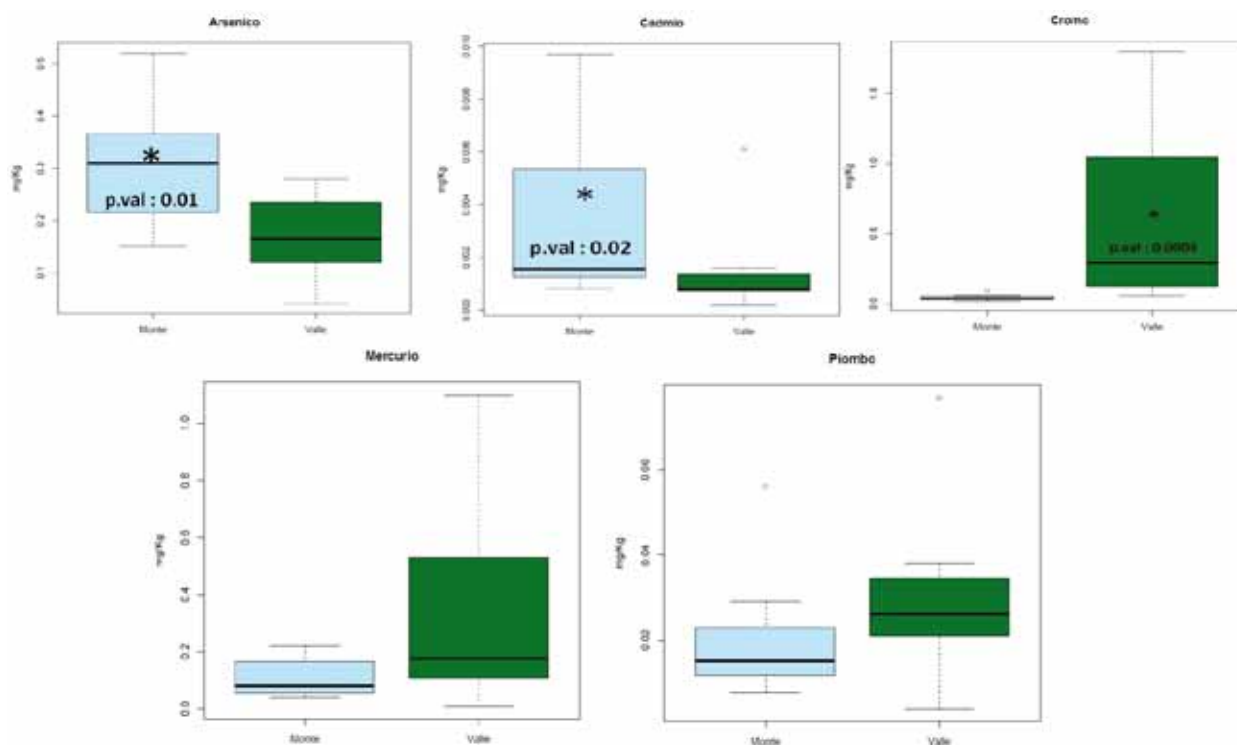
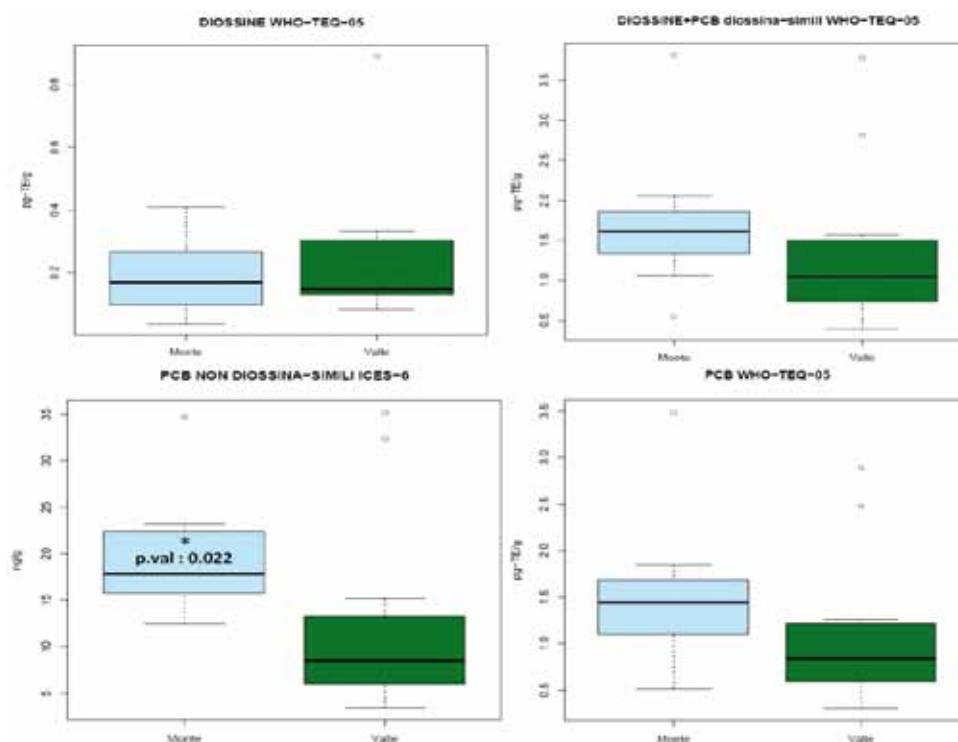


Figura 10.29 Valori delle diossine e PCB nei pesci non depurati campionati a monte e a valle e confronto mediante il test di Wilcoxon. Le differenze significative sono espresse per $p < 0,05$



10.5.4 Confronto tra i pesci depurati e non depurati di monte e di valle rispetto al sito SIN di Bussi Officine

Successivamente, al fine di inserire nel data-set anche i dati dei pesci depurati, si è voluto verificare se, per le sostanze chimiche così come per i micronuclei, ci fosse stato un effetto depurativo. Per chiarire questo punto, sono stati confrontati i pesci campionati a "Monte" e a "Valle" con i pesci "depurati di monte" e i pesci "depurati di valle". La Tabella

10.12 riassume i confronti effettuati mediante il test non parametrico di Wilcoxon per campioni indipendenti, indicando i valori di p-value per i diversi parametri testati. Ad eccezione del piombo e dell'arsenico, per i quali sono stati osservati valori mediani più alti nei pesci non depurati di monte, per gli altri parametri non sono state riscontrate differenze significative dal confronto depurati/non depurati e quindi non è stato osservato un chiaro effetto di depurazione delle sostanze chimiche ricercate, anche se, evidentemente, la valutazione non è stata fatta sugli stessi esemplari come per il Test del Micronucleo.

Tabella 10.12 Valori dei p-value ottenuti dal confronto dei pesci campionati a "Monte" e a "Valle" con i pesci "depurati di monte" e i pesci "depurati di valle" mediante il test non parametrico di Wilcoxon su campioni indipendenti.

Per i valori significativi * indica che i depurati avevano una concentrazione mediana maggiore dei non depurati, la presenza di ** indica che i non depurati avevano una concentrazione mediana maggiore dei depurati

Confronto Pesci:	p-value:	Monte vs Depurati Monte	Valle vs Depurati Valle
DIOSSINE WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)		0,633	0,241
DIOSSINE+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)		0,68	0,249
PCB WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)		0,837	0,335
PCB NON DIOSSINA-SIMILI ICES-6 (ng/g)		0,469	0,29
Cadmio (mg/Kg)		0,664	0,0825
Cromo (mg/Kg)		0,059	0,542
Mercurio (mg/Kg)		0,885	0,11
Piombo (mg/Kg)		0,023 **	0,004 *
Arsenico (mg/Kg)		0,00063 **	0,301

10.5.5 Confronto tra tutti i pesci depurati e non depurati di monte e di valle rispetto al sito SIN di Bussi Officine

Dopo aver verificato che il periodo di depurazione in acqua di sorgente non ha avuto un effetto depurativo sulla maggior parte delle sostanze chimiche, è stato effettuato un ulteriore confronto tra il totale dei pesci di monte (costituito dai pesci di monte depurati e non) e il totale dei pesci di valle (costituito dai pesci di valle depurati e non). Questo confronto è illustrato dalle Figure 10.30 e 10.31. La Tabella 10.13 mostra il numero di individui (N), i valori minimi (Min), massimi (Max) e mediani dei metalli pesanti, PCB e diossine rinvenuti in tutti i pesci campionati a monte e a valle del sito SIN di Bussi Officine. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra monte e valle mediante confronti a coppie con il test di Wilcoxon.

Tra i metalli solo il cadmio è risultato statisticamente più abbondante nei pesci di monte (p-value=0,31), mentre mercurio, piombo e cromo sono presenti maggiormente nelle carni dei pesci a valle. Per l'arsenico, invece, sono stati trovati a monte sia i valori massimi sia i valori minimi, ma il valore mediano è risultato più alto a valle e il confronto monte/valle non è risultato statisticamente significativo.

Per le diossine su prodotto intero i valori massimi sono stati trovati nei pesci a valle, ma i valori mediani sono risultati uguali e il test di Wilcoxon non ha evidenziato differenze significative tra i valori di monte e quelli di valle. Le diossine + PCB diossina simili, PCB su prodotto intero e PCB non diossina simili sono invece risultati statisticamente più abbondanti nelle carni dei pesci di monte.

Figura 10.30 Rappresentazione grafica, mediante box-plot, dei valori dei metalli pesanti di tutti i pesci campionati a monte (totale monte) e di tutti i pesci catturati a valle (totale valle) del sito SIN di Bussi Officine. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra Monte e Valle mediante confronti a coppie con il test di Mann-Whitney. * indica la presenza di differenze significative tra i dati di monte e di valle ($p\text{-value} < 0,05$)

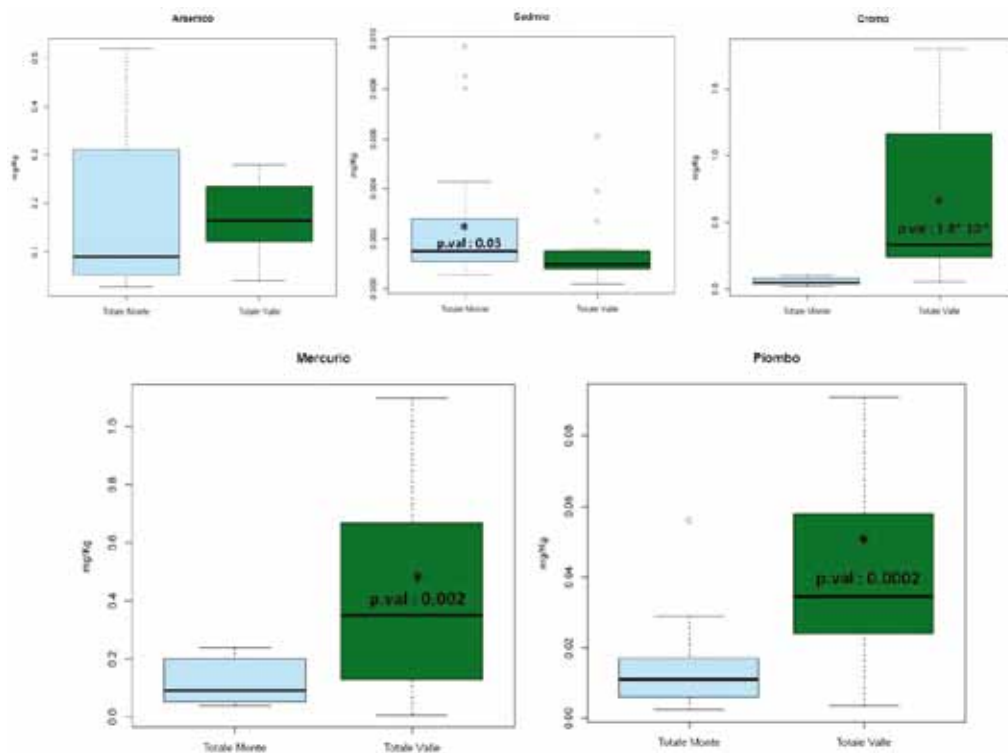


Figura 10.31 Rappresentazione grafica, mediante box-plot, dei valori delle diossine e dei PCB di tutti i pesci campionati a monte (totale monte) e di tutti i pesci catturati a valle (totale valle) del sito SIN di Bussi Officine. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra monte e valle mediante confronti a coppie con il test di Mann-Whitney. * indica la presenza di differenze significative tra i dati di monte e di valle ($p\text{-value} < 0,05$)

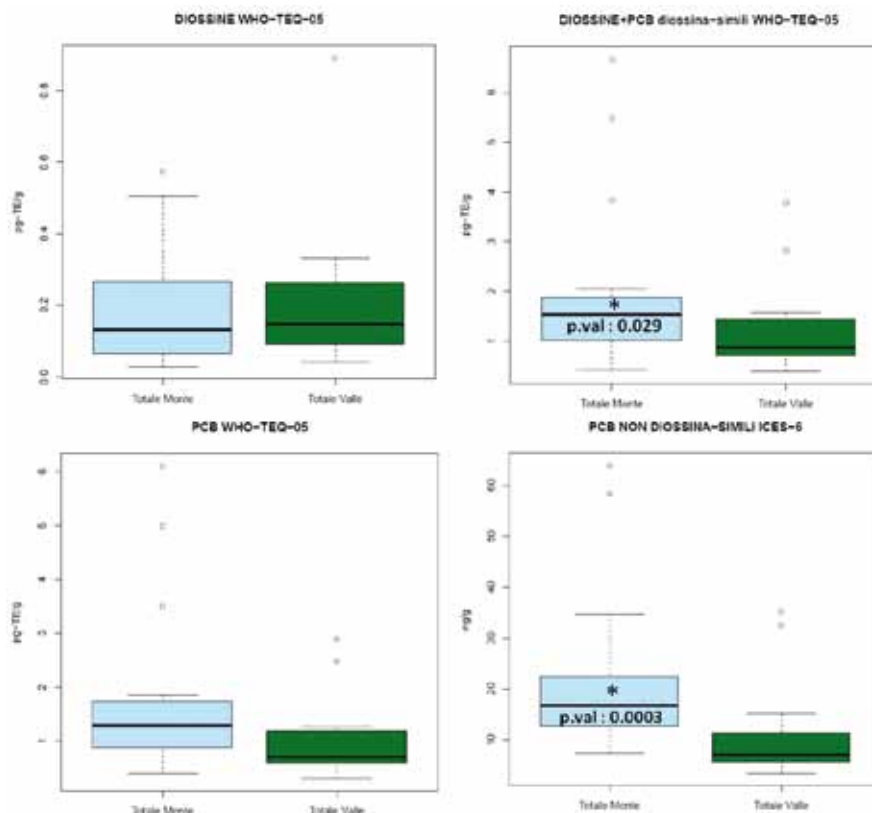


Tabella 10.13 Numero di individui (N), valori minimi (Min), massimi (Max) e mediani dei metalli pesanti, PCB e diossine rinvenuti nei pesci a monte (totale monte) e a valle (totale valle) del sito SIN di Bussi Officine.

Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra monte e valle mediante confronti a coppie con il test di Mann-Whitney. In rosso la presenza di differenze significative tra i dati di monte e di valle (p -value<0,05)

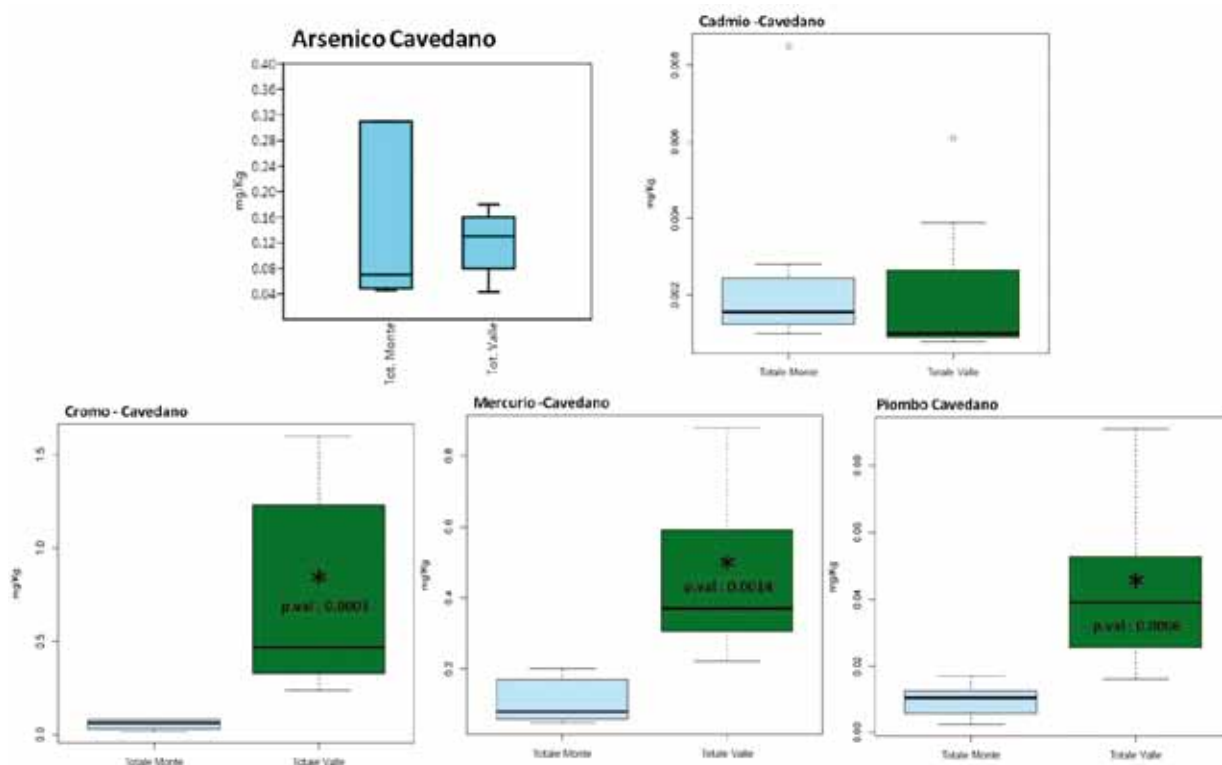
Confronto (Totale Monte/Totale Valle)	N	Min	Max	Mediana	p-value
Arsenico (mg/kg) Totale Monte	17	0,0280	0,52	0,090	0,59
Arsenico (mg/kg) Totale Valle	12	0,0410	0,28	0,165	
Cadmio (mg/kg) Totale Monte	17	0,0006	0,01	0,002	0,031
Cadmio (mg/kg) Totale Valle	18	0,0002	0,01	0,001	
Cromo (mg/kg) Totale Monte	17	0,0190	0,10	0,050	1,8*10 ⁻⁶
Cromo (mg/kg) Totale Valle	18	0,0550	1,80	0,330	
Mercurio (mg/kg) Totale Monte	17	0,0390	0,24	0,092	0,0017
Mercurio (mg/kg) Totale Valle	18	0,0074	1,10	0,350	
Piombo (mg/kg) Totale Monte	17	0,0025	0,06	0,011	0,0002
Piombo (mg/kg) Totale Valle	18	0,0037	0,09	0,035	
DIOSSINE WHO-TEQ-05 (pg/g)- Totale Monte	16	0,03	0,6	0,1	0,61
DIOSSINE WHO-TEQ-05 (pg/g) - Totale Valle	18	0,04	0,9	0,1	
DIOSSINE+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 (pg/g) – Totale Monte	16	0,42	6,7	1,5	0,029
DIOSSINE+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 (pg/g) – Totale Valle	18	0,39	3,8	0,9	
PCB WHO-TEQ-05 (pg/g) - Totale Monte	16	0,39	6,1	1,3	0,0189
PCB WHO-TEQ-05 (pg/g)- Totale Valle	18	0,30	2,9	0,7	
PCB NON DIOSSINA-SIMILI ICES-6 (ng/g) - Totale Monte	16	7,41	63,9	16,7	0,00036
PCB NON DIOSSINA-SIMILI ICES-6 6 (ng/g) - Totale Valle	18	3,40	35,2	7,0	

10.5.6 Confronto Monte/Valle per le specie: CAVEDANO e TROTA

Un ultimo confronto è stato effettuato per le due specie che sono state campionate sia a monte sia a valle del sito SIN di Bussi Officine (Trota e Cavedano), in quanto l'accumulo delle sostanze chimiche può essere differente da specie a specie per tenore di lipidi e per ecologia trofica e comportamentale.

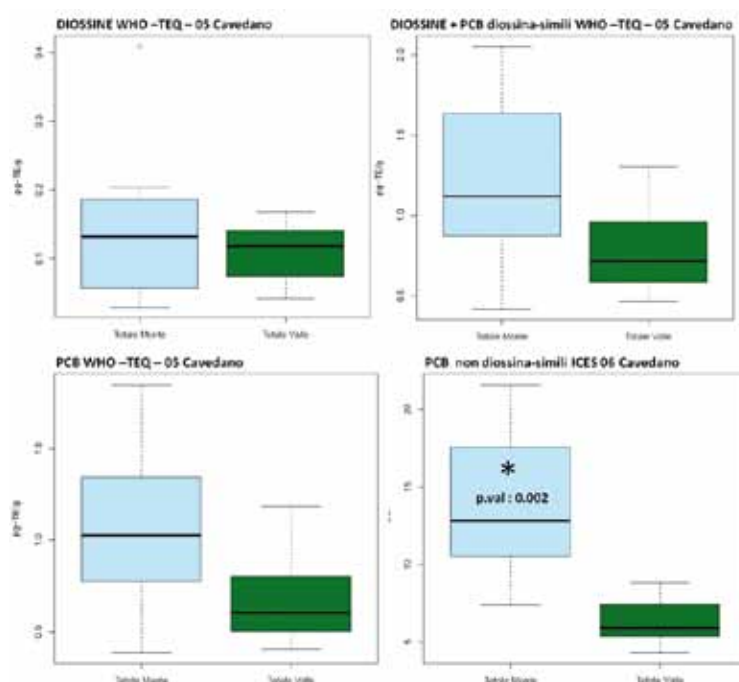
La Figura 10.32 mostra i dati relativi ai metalli pesanti riscontrati nella specie cavedano espressi sotto forma di box-plot. Ad eccezione del cadmio, i metalli pesanti cromo, mercurio e piombo sono risultati statisticamente più abbondanti a valle rispetto che a monte (p <005).

Figura 10.32 Rappresentazione grafica, mediante box-plot, dei valori dei metalli pesanti dei cavedani campionati a monte e a valle del sito SIN di Bussi Officine. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra monte e valle mediante confronti a coppie con il test di Mann-Whitney. * indica la presenza di differenze significative tra i dati di monte e di valle ($p\text{-value} < 0,05$)



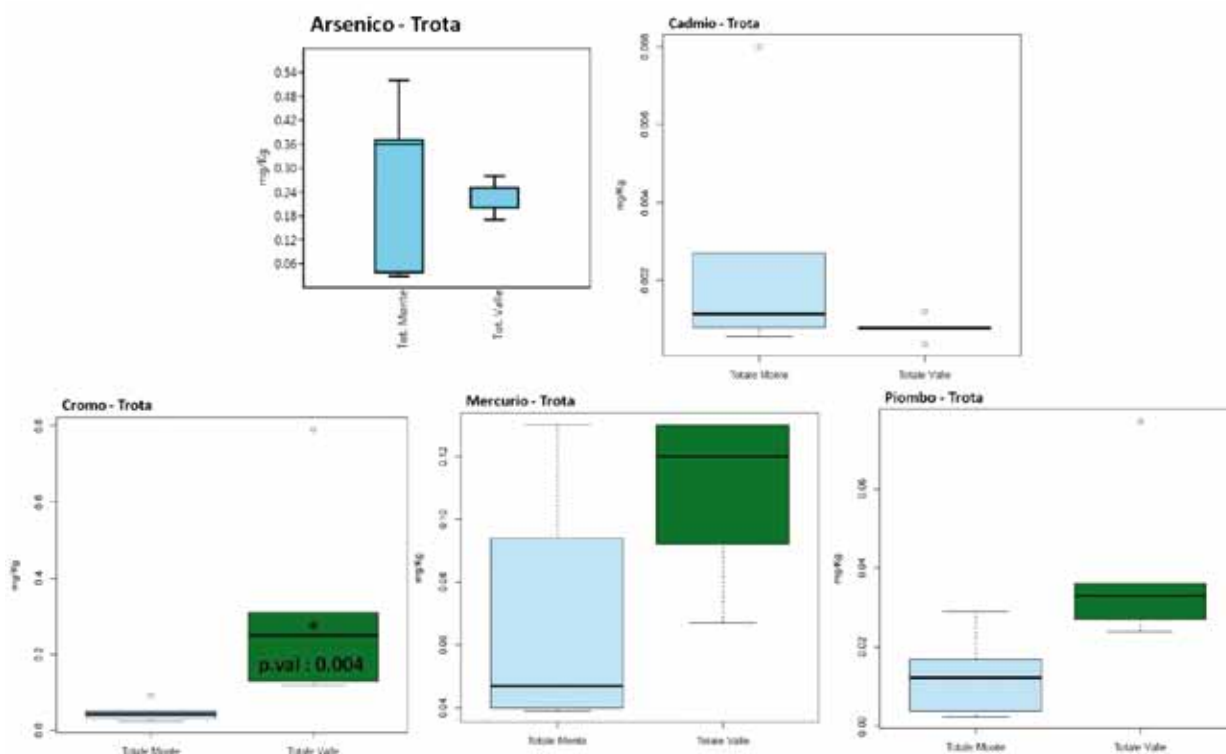
La Figura 10.33 mostra sotto forma di box-plot le elaborazioni dei dati relativi alle diossine e PCB nella specie cavedano. I valori medi delle diossine, PCB, PCB non diossina simili e delle diossine + PCB diossina simili sono risultati tutti più alti nei cavedani di monte rispetto a quelli di valle, ma solamente nei PCB non diossina simili sono risultati significativamente più alti ($p\text{-value}=0,002$).

Figura 10.33 Rappresentazione grafica, mediante box-plot, dei valori delle diossine e dei PCB dei cavedani campionati a monte e a valle del sito SIN di Bussi Officine. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra monte e valle mediante confronti a coppie con il test di Mann-Whitney. * indica la presenza di differenze significative tra i dati di monte e di valle ($p\text{-value} < 0,05$).



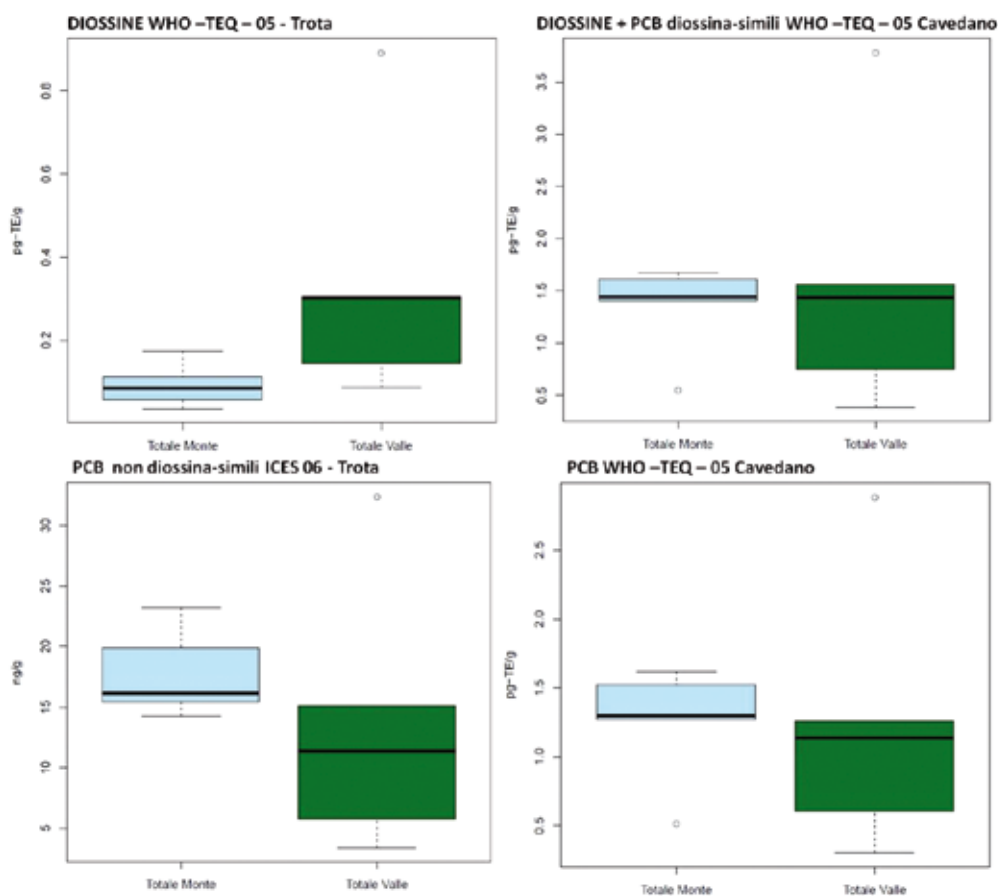
La Figura 10.34 mostra l'elaborazione dei dati relativi ai metalli pesanti trovati nella specie trota espressi sotto forma di box-plot. Anche per questa specie, così come per il cavedano, i valori dei metalli pesanti cromo, mercurio e piombo, con l'eccezione del cadmio, sono risultati con delle mediane più alte a valle rispetto che a monte, ma solo per il cromo questa differenza è risultata statisticamente significativa ($p=0,004$).

Figura 10.34 Rappresentazione grafica, mediante box-plot, dei valori dei metalli pesanti delle trote campionate a monte e a valle del sito SIN di Bussi Officine. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra monte e valle mediante confronti a coppie con il test di Mann-Whitney. * indica la presenza di differenze significative tra i dati di monte e di valle ($p\text{-value}<0,05$)



La Figura 10.35 mostra sotto forma di box-plot l'elaborazione dei dati relativi alle diossine e PCB nella specie trota. Dal confronto dei dati di monte e di valle non sono emerse differenze significative ($p>0,05$) mediante il test di Wilcoxon. Per le diossine su prodotto intero il valore mediano è risultato più alto nelle trote di valle mentre per i PCB, PCB non diossina simili e diossine + PCB diossina simili sono risultati tutti più alti nelle trote di monte rispetto a quelli di valle, ma solamente nei PCB non diossina simili sono risultati significativamente più alti ($p\text{-value}=0,002$).

Figura 10.35 Rappresentazione grafica, mediante box-plot, dei valori delle diossine e dei PCB delle trote campionate a monte e a valle del sito SIN di Bussi Officine. Per ciascun parametro sono state testate le differenze tra monte e valle mediante confronti a coppie con il test di Mann-Whitney. * indica la presenza di differenze significative tra i dati di monte e di valle ($p\text{-value} < 0,05$)



In tutti i pesci campionati sono stati determinati anche i pesticidi organoclorurati (Aldrin, Azinphos Ethyl, Azinphos Methyl, Diazinon, Dieldrin, Dimethoat, Endosulfan (alfa), Esaclorobenzene, Fenthion, HCH (alfa), HCH (beta), Heptachlor, Heptachlor Epoxide, Lindane, Malathion, Methoxychlor, Mevinphos (Phosdrin), Mirex, O,P-DDD, O,P-DDE, O,P-DDT, P,P-DDD, P,P-DDE, P,P-DDT) (tranne per i pesci di Bussi Officine e Manoppello) ed i pesticidi organofosforati (Azinphos Ethyl, Azinphos Methyl, Diazinon, Dimethoat, Fenthion, Malathion, Mevinphos (Phosdrin), Parathion Ethyl, Parathion Methyl, Phorate, Ronnel. Tutte le molecole determinate sono risultate non rilevabili dal metodo analitico ($< 0,001$ mg/Kg per i pesticidi organoclorurati e $< 0,005$ mg/Kg per i pesticidi organofosforati). Il Methoxychlor ha un limite di rilevazione pari $0,004$ mg/Kg ed anch'esso è risultato non rilevabile.

10.6 Analisi chimiche nei Macroinvertebrati

Durante il 2015 sono stati effettuati campionamenti di Macroinvertebrati nei quattro siti di campionamento (Tabella 10.14). Da ciascun campione sono stati selezionati soltanto gli esemplari appartenenti alla Famiglia Gammaridae (25 g).

Tabella 10.14 Campionamenti di Macroinvertebrati

Data Prelievo	Comune	Taxa	Monte/ Valle	Quantità (g)
13/08/2015	MOLINA	Gammaridae	Monte	25
13/08/2015	VITTORITO	Gammaridae	Monte	25
16/07/2015	BUSSI SUL TIRINO	Gammaridae	Valle	25
22/07/2015	MANOPPELLO	Gammaridae	Valle	25

Nella Tabella 10.15 sono riportati i risultati delle analisi chimiche effettuate sui Macroinvertebrati.

Tabella 10.15. Risultati analisi chimiche effettuate sui Macroinvertebrati

Macroinvertebrati						
Classe sostanza chimica	Accertamento /esame	MOLINA	VITTORITO	BUSSE SUL TIRINO	MANOPPELLO	Unità di Misura
Diossine e PCB	DIOSSINE WHO-TEQ-05	0,047	0,043	0,2	0,116	pg-TE/g
	DIOSSINE+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05	0,215	0,262	0,444	0,383	pg-TE/g
	PCB diossina simili WHO-TEQ-05	0,168	0,219	0,244	0,267	pg-TE/g
	PCB non diossina-simili ICES-6	2,16	2,45	4,35	3,44	ng/g
Metalli Pesanti	Arsenico	1,7	2	0,88	1,3	mg/Kg
	Cadmio	0,022	0,028	0,0081	0,0081	mg/Kg
	Cromo	0,35	0,36	0,32	0,43	mg/Kg
	Mercurio	0,015	0,015	0,085	0,038	mg/Kg
	Piombo	0,24	0,28	0,56	0,22	mg/Kg

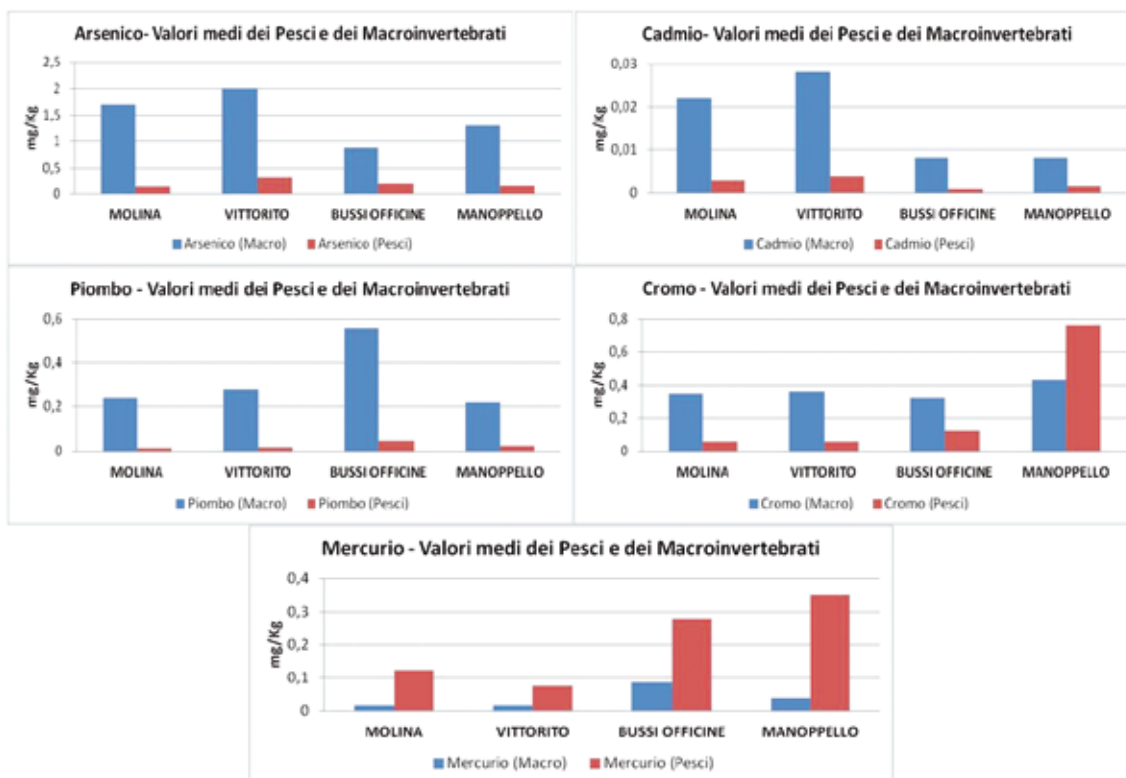
Sui Macroinvertebrati, sono stati determinati i pesticidi organofosforati (Azinphos Ethyl, Azinphos Methyl, Diazinon, Dimethoat, Fenthion, Malathion, Mevinphos (Phosdrin), Parathion Ethyl, Parathion Methyl, Phorate, Ronnel. Tutte le molecole determinate sono risultate non rilevabili dal metodo analitico (< 0,005 mg/Kg).

Sui Macroinvertebrati catturati a Molina (AQ) e Vittorito (AQ) sono stati determinati anche i pesticidi organoclorurati (Aldrin, Azinphos Ethyl, Azinphos Methyl, Diazinon, Dieldrin, Dimethoat, Endosulfan (alfa), Esaclorobenzene, Fenthion, HCH (alfa), HCH (beta), Heptachlor, Heptachlor Epoxide, Lindane, Malathion, Methoxychlor, Mevinphos (Phosdrin), Mirex, O,P-DDD, O,P-DDE, O,P-DDT, P,P-DDD, P,P-DDE, P,P-DDT). Tutte le molecole determinate sono risultate non rilevabili dal metodo analitico (< 0,001 mg/Kg). Il Methoxychlor ha un limite di rilevazione pari 0,004 mg/Kg ed anch'esso è risultato non rilevabile.

I dati analitici sono stati confrontati con i limiti di legge già riportati nella Tabella 10.9 e riferiti al muscolo di pesce selvatico. Tutti i valori dei campioni analizzati sono risultati inferiori ai suddetti limiti, tranne quello relativo al piombo nel sito di campionamento di Bussi Officine (0,56 mg/kg).

Nella Figura 10.36 sono riportati i valori dei metalli pesanti nei Macroinvertebrati e i valori medi per i pesci di ciascun sito di campionamento. I Macroinvertebrati hanno accumulato concentrazioni più elevate di arsenico, cadmio, cromo e piombo rispetto alle medie dei pesci in tutti i siti ad eccezione del cromo nel sito di Manoppello, dove il valore medio dei pesci è risultato superiore di circa 1/3 rispetto a quello nei Macroinvertebrati. Il mercurio, invece, è presente a concentrazioni maggiori nei pesci rispetto ai Macroinvertebrati per tutti i siti.

Figura 10.36 Valori dei metalli pesanti per ciascun sito di campionamento per i Macroinvertebrati e per tutti gli esemplari di pesce



Per verificare se ci fosse una correlazione tra le concentrazioni dei metalli pesanti nei pesci e nei Macroinvertebrati sono stati applicati modelli di regressione lineare, di potenza ed esponenziale che però in tutti i casi non hanno dato un risultato significativamente positivo.

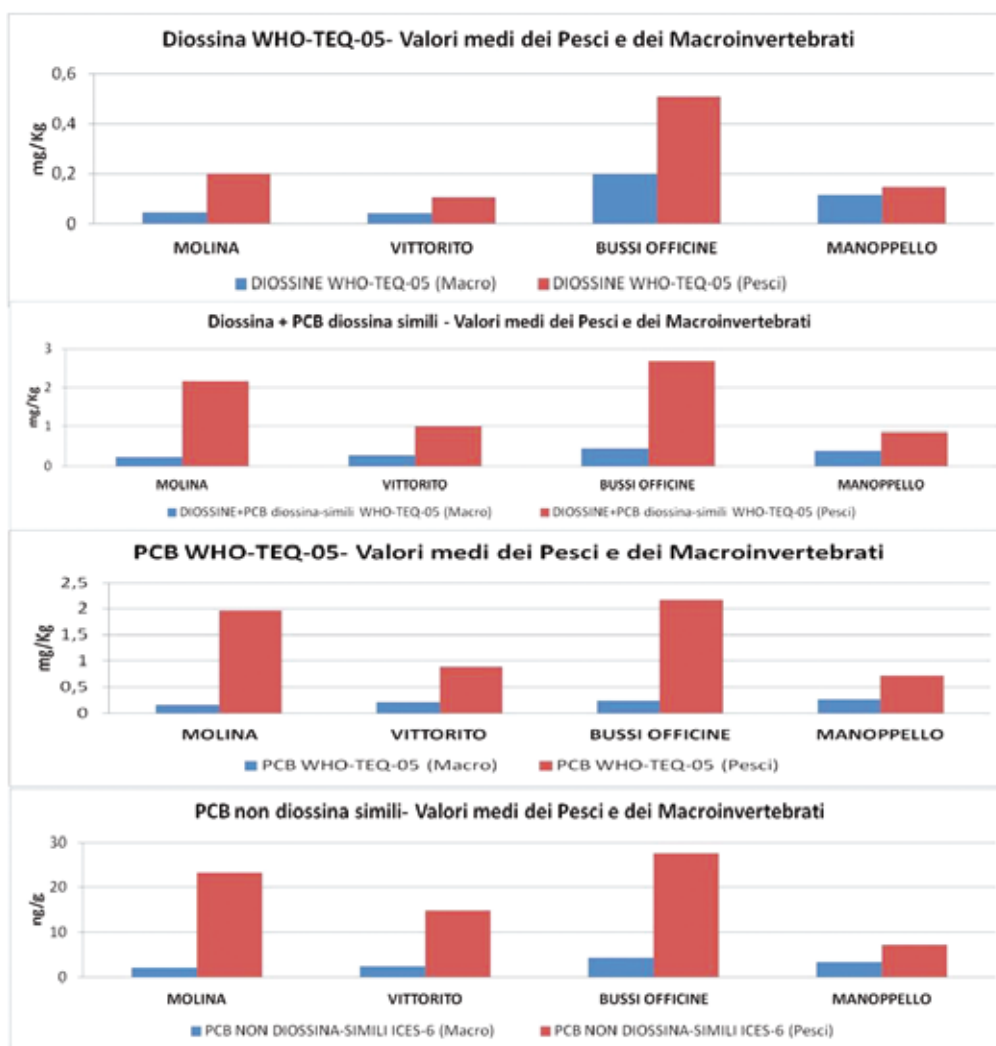
Nella Figura 10.37 sono riportati i valori dei metalli pesanti nei Macroinvertebrati e i valori medi per la trota, unica specie catturata in ciascun sito di campionamento, per eliminare eventuali interferenze dovute proprio alla differenza di specie. I grafici mostrano che il trend sopra riportato è confermato anche per la sola specie trota, con l'eccezione di una riduzione dello scarto relativo ai valori del cromo nel sito di Manoppello e un'inversione di concentrazione rispetto al mercurio del sito di Bussi Officine.

Figura 10.37 Valori dei metalli pesanti per ciascun sito di campionamento per i Macroinvertebrati e per la sola specie "trota"



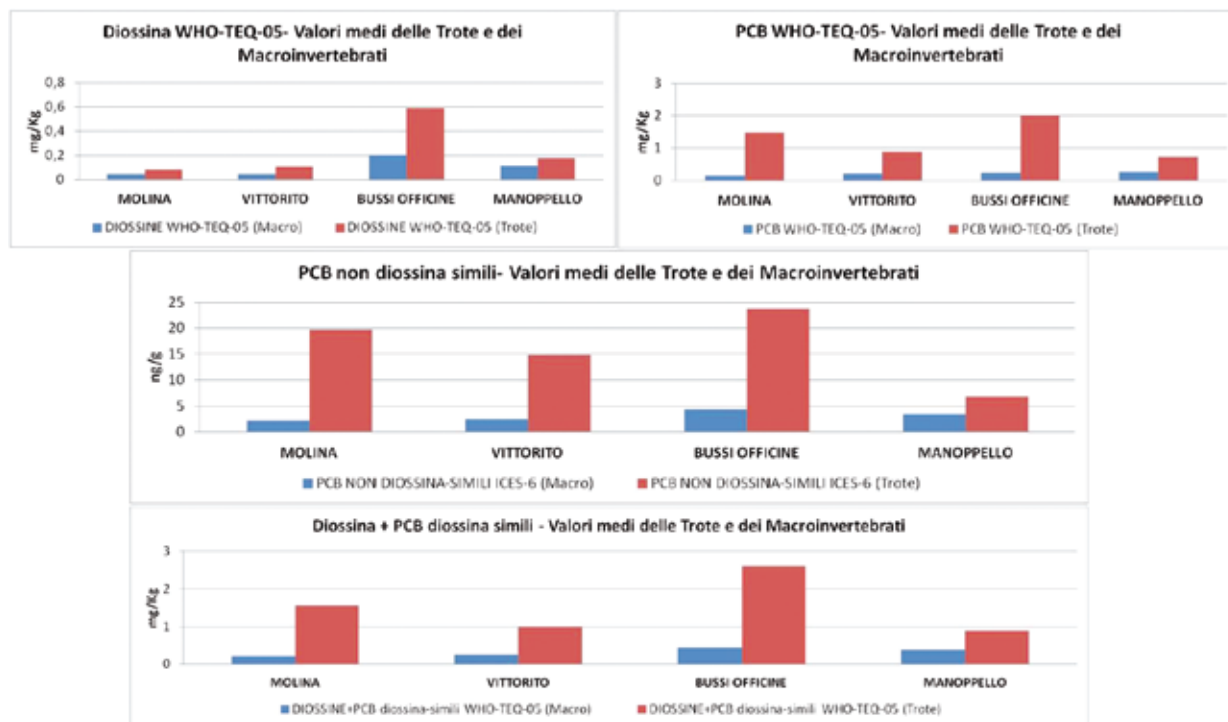
Nella Figura 10.38 sono mostrati, per ciascun sito di campionamento, i valori delle diossine su prodotto intero, diossine + PCB diossine simili, PCB su prodotto intero e PCB non diossina simili ottenuti dalle analisi condotte sui Macroinvertebrati e i valori medi per le stesse sostanze nei pesci. Rispetto ai valori medi dei pesci, i Macroinvertebrati presentano concentrazioni nettamente inferiori in tutti i siti esaminati. Bussi Officine è il sito in cui, sia per i pesci sia per i Macroinvertebrati, si trovano i valori più alti di diossine su prodotto intero, diossine + PCB diossina simili e PCB non diossina simili. Per i PCB su prodotto intero nei pesci il valore medio più alto è ancora quello nel sito di Bussi Officine, mentre nei Macroinvertebrati è nel sito di Manoppello. Nel complesso i Macroinvertebrati hanno valori di diossine e PCB più alti nei siti a valle del sito SIN di Bussi Officine rispetto ai siti a monte, mentre per i pesci non si osserva un andamento simile visto che il sito di Molina presenta valori medi di poco più bassi rispetto al sito di Bussi Officine e il sito di Manoppello presenta i valori più bassi tra i 4 siti esaminati, ad eccezione della diossina su prodotto intero.

Figura 10.38 Valori delle diossine e PCB per ciascun sito di campionamento



Nella Figura 10.39 sono riportati i valori delle diossine e PCB nei Macroinvertebrati e i valori delle diossine e PCB per la sola specie trota. I grafici mostrano che il trend osservato in precedenza, considerando i valori medi di tutti i pesci catturati, è confermato anche per la sola specie trota, con l'eccezione di una netta riduzione dei valori della diossina su prodotto intero nel sito di Molina.

Figura 10.39 Valori delle diossine e PCB per ciascun sito di campionamento



11. DISCUSSIONE

In questo studio è stato considerato un tratto dell'asta del fiume Aterno-Pescara, compreso tra Molina Aterno e Manoppello Scalo. Questo tratto di fiume è caratterizzato dalla presenza di alcune zone di pregio come le Riserve delle Gole di San Venanzio e delle Sorgenti del Pescara, ma anche dal Sito di Bonifica di Interesse Nazionale che si estende dalla confluenza con il fiume Tirino in località Bussi Officine verso valle. Su questo tratto fluviale, quattro siti sono stati monitorati scegliendone due a monte (Molina e Vittorito) del sito SIN e due a valle (Bussi e Manoppello). Per valutare la qualità sanitaria e ambientale delle aree indagate è stata effettuata un'analisi della funzionalità fluviale e un approfondito studio del popolamento ittico e dei Macroinvertebrati, in particolar modo della Famiglia dei Gammaridi.

11.1 Indice di Funzionalità Fluviale (IFF)

I quattro siti di campionamento sono situati in zona pedemontana nel tratto intermedio del bacino idrografico dell'Aterno-Pescara, di lieve pendenza, con escursione altimetrica che va da 450 m sul livello del mare del sito di Molina (AQ) a 60 m sul livello del mare del sito di Manoppello (PE).

I tratti sono pressochè pianeggianti tranne quello in prossimità di Bussi Officine che scorre incassato nelle gole di Popoli.

Il territorio circostante è caratterizzato da aree naturali, ma con usi antropici del territorio e urbanizzazione rada.

La fascia ripariale, in genere inferiore a 30 m, non si è presentata mai completamente integra, ma con frequenti interruzioni, dovute alle pratiche agricole, a percorsi stradali o all'invasione di specie esotiche. Le sponde presentavano molteplici interventi per la ritenzione delle rive e per contenere l'erosione; l'alveo spesso era interessato da detriti provenienti dalla costruzione dei manufatti circostanti (ponti, traverse). In alcune zone si rilevava il taglio irrazionale della vegetazione ripariale: un'attività sicuramente da vietare, per gli effetti negativi sulla fascia perfluviale vegetata che, proprio per le molteplici funzioni ecologiche che ricopre (es. stabilizzazione sponde, fitodepurazione, ombreggiamento, corridoio ecologico), dovrebbe viceversa essere ampliata per una buona gestione degli ecosistemi fluviali e degli ecotoni ripari.

Il regime idrico è perenne, ma è penalizzato dalle captazioni per la produzione di acqua potabile, energia elettrica e per l'irrigazione.

In linea di massima, in merito all'IFF, i tratti considerati hanno evidenziato un Giudizio di Funzionalità di tipo Mediocre. Il sito migliore è risultato Molina (AQ), il più a monte, il peggiore invece Manoppello (PE), il più a valle.

L'idoneità ittica è risultata buona, in linea di massima, per tutti e quattro i siti monitorati con elementi morfologici dell'alveo chiaramente distinguibili, ma con successione irregolare.

Le popolazioni di Macroinvertebrati sono sembrate sufficientemente diversificate in tutti i siti tranne quello di Bussi Officine dove la comunità risulta poco equilibrata con prevalenza di taxa tolleranti all'inquinamento.

Nel complesso i quattro siti non sono risultati interessati da una ritenzione di componente organica ed il periphyton è risultato scarso.

11.2 Aspetti faunistici e problematiche ambientali

I risultati delle indagini faunistiche, svolte nel corso del presente studio, hanno permesso di definire lo stato delle popolazioni ittiche attualmente presenti, la vocazione dei tratti fluviali indagati e di effettuare un confronto con i dati storici di presenza ottenuti da analisi bibliografica.

Per ciò che riguarda l'origine zoogeografica dei diversi *taxa*, il popolamento ittico è risultato composto da Ciprinidi autoctoni, come la rovello e il cavedano, da Ciprinidi trasfaunati dal distretto zoogeografico padano-veneto, come il barbo comune, e da Ciprinidi alloctoni come il carassio e la carpa, specie catturate rispettivamente nel sito di Molina (AQ) e Manoppello (PE), ma non inseriti tra i pesci analizzati. La trota, unica specie catturata in tutti i siti indagati, ha presentato fenotipi piuttosto differenti a seconda del sito di campionamento e a volte anche tra esemplari catturati nello stesso sito. Tale risultato non sorprende in quanto le aree indagate sono state sottoposte a numerosi interventi di ripopolamento-semina con trota di torrente di ceppo atlantico (*S. trutta*), cosa che ha determinato nel tempo processi di ibridazione e modifica del fenotipo classico autoctono (ceppo mediterraneo). È stata catturata anche una trota iridea (*O. mykiss*) a Manoppello (PE). Entrambe le specie immesse sono da considerarsi di origine esotica, almeno per l'Italia peninsulare, dove, secondo un recente documento redatto da un gruppo di lavoro di esperti dell'Associazione Italiana Ittiologi di Acque Dolci (AIAD) (Zanetti, 2015), la trota di torrente indigena nel versante adriatico dovrebbe essere riferita a *Salmo ghigii*, Pomini, 1940. Le trote di Molina (AQ) e Vittorito (AQ), almeno da un punto di vista fenotipico, sono state quelle che più delle altre hanno mostrato caratteri tipici della trota di torrente di ceppo mediterraneo, versante adriatico, *Salmo ghigii*, Pomini, 1940 per la presenza di una grande macchia opercolare, una puntinatura di macchie non molto grandi rosse e soprattutto nere diffusa su tutto il corpo (Zerunian & Ruggeri, 2007). Le trote campionate nel sito di Bussi Officine (PE), invece, hanno mostrato un numero superiore di caratteri riconducibili alla trota fario di ceppo atlantico (*S. trutta*). Nel sito di Manoppello (PE) le livree e le pinne delle trote catturate erano più argentee con una minore puntinatura, richiamando per lo più il fenotipo lacustre. Anche se lo scopo di questo lavoro non è stato quello di caratterizzare nello specifico ciascun esemplare di trota, gli individui con fenotipo ibrido sono stati tutti comunque attribuiti alla specie *Salmo trutta* (ceppo atlantico) in accordo con Gandolfi *et al.*, (1991); Zerunian (2004) e Zerunian & Ruggeri, (2007), anche se sarebbero necessarie indagini più mirate, sia mediante studi di morfologia classica sia attraverso un approccio molecolare, per definire con precisione le specie catturate e presenti nei siti campionati.

I dati acquisiti in questo studio hanno indicato che i siti di Vittorito (AQ) e Bussi Officine (PE) sono zone di transizione a vocazione salmonicola/ciprinicola a prevalenza salmonicola, sia per caratteristiche idromorfologiche sia per la tipologia di popolamento ittico rinvenuto. I siti di Molina (AQ) e Manoppello (PE) sono risultati anch'essi zone di transizione salmonicola/ciprinicola, ma a prevalenza ciprinicola. Questi dati sono sostanzialmente in accordo con quanto riportato in altri studi effettuati precedentemente sugli stessi siti (Recchia *et al.*, 2007, Giansante, 2008 e Turin *et al.*, 2014). Da un punto di vista delle densità e delle biomasse complessive, lo studio ha messo in rilievo dei popolamenti ittici poveri, in alcuni casi molto scarsi, rispetto a quanto riportato dagli studi sopra menzionati. Per i siti di Molina (AQ) e Vittorito (AQ) è stato effettuato un confronto con il monitoraggio condotto da Giansante *et al.* nel 2008 per il calcolo del Deflusso Minimo Vitale (DMV), le cui catture, sempre mediante la pratica della pesca elettrica, sono riportate nella Tabella 10.1. Per i siti di Bussi Officine (PE) e Manoppello (PE) tale confronto è stato effettuato anche con i dati della Carta Ittica della

Provincia di Pescara redatta nel 2006 (Recchia *et al.*, 2007) e le indagini di caratterizzazione ambientale dei fiumi presso gli impianti ENEL Green Power SpA, condotte dalla Soc. Coop. Bioprogramm nel maggio 2013 (Turin *et al.*, 2014).

Tabella 10.1 *Elenco delle specie campionate nel monitoraggio condotto dall'IZSAM nel 2008 sugli stessi siti della sperimentazione.*

Sito di campionamento	Specie	N°	Range Taglia (cm)
Molina	Trota fario	11	da 9,2 a 27
Vittorito	Cavedano	1	22,5
	Trota fario	21	da 9 a 29,5
	Barbo canino	1	30,5
	Barbo comune	3	da 21,2 a 24
	Carassio	1	18
	Lampreda	1	16
Bussi Officine	Trota fario	5	da 10,6 a 29,5
	Spinarello	2	5,5
Manoppello	Trota fario	2	da 17,5 a 27,5
	Cavedano	35	da 3,8 a 21,0
	Rovella	11	da 6,0 a 7,5
	Barbo canino	1	17,5
	Barbo comune	10	da 9,2 a 19

Nel sito di Molina (AQ), rispetto al monitoraggio del 2008 effettuato 2 km più a valle (derivazione ENEL), sono state catturate un numero inferiore di trote, ma a queste si aggiungono altre specie come il cavedano, la rovella e il carassio. Nel sito di Vittorito (AQ), è stata osservata una situazione opposta: delle 6 specie censite nel 2008, nelle quali spiccavano anche alcune di elevato pregio conservazionistico come la lampreda di ruscello e il barbo canino e comune, menzionate nella Direttiva Habitat e dalla legge regionale di recepimento (L.R. 22 dicembre 2010, n. 59), è stata catturata solo la specie "trota". A Bussi Officine (PE) è stata osservata una situazione analoga al campionamento ittico effettuato nel 2006 per la redazione della Carta Ittica (Recchia *et al.*, 2007), con poche trote omogenee nelle taglie e quindi derivanti da immissioni. In questo stesso sito non sono stati catturati spinarelli, come invece avvenuto nello studio di Giansante *et al.* del 2008, ma un esemplare sub-adulto di barbo comune. Il campionamento effettuato nel maggio del 2013 dalla Soc. Coop. Bioprogramm (Turin *et al.*, 2014), sempre per il sito di Bussi Officine (PE), aveva evidenziato, al contrario, un popolamento di trote abbastanza ben strutturato e la presenza occasionale di spinarello, cavedano, barbo, rovella e lampreda di ruscello. Il sito di Manoppello (PE) è quello nel quale sono stati catturati il maggior numero di esemplari e nel quale sono stati pescati i pesci di taglia maggiore (carpa regina di circa 3 kg, trota iridea di circa 1 Kg). Le specie predominanti in questo sito sono state il barbo comune e il cavedano, così come osservato già nei tre monitoraggi precedenti. Quindi, rispetto al sito di Manoppello (PE), il presente studio ha confermato la presenza di barbo, cavedano e trota fario, ha aggiunto la carpa e la trota iridea, mentre non ha comprovato le catture di rovelle, barbi canini, lamprede di ruscello, scardole e anguille.

Nella zone indagate sono state rilevate, o segnalate in studi precedenti, specie ittiche autoctone di alto interesse conservazionistico e più o meno minacciate, che sono state classificate dalla IUCN (International Union for Conservation of Nature) (Bianco *et al.*, 2012) nel modo seguente:

- lampreda di ruscello o minore (*L. planeri*) (VU = vulnerabile);
- barbo italico o comune (*B. plebejus*) (VU = vulnerabile);
- barbo canino (*B. plebejus*) (EN = in pericolo)
- rovella (*R. rubilio*) (NT = quasi minacciata);
- trota di torrente ceppo Mediterraneo versante adriatico (*S. ghigii*) (CR = pericolo critico);
- anguilla (*A. anguilla*) (CR = pericolo critico).

Mettendo insieme tutti i dati menzionati, dal punto di vista dell'integrità faunistica, l'Aterno-Pescara apparirebbe in

discrete condizioni, ma a preoccupare è la struttura delle popolazioni. In tutti gli studi effettuati, sono stati evidenziati alcuni segnali di alterazione strutturale e funzionale come il basso numero di esemplari catturati per specie e un ridotto numero di classi di taglia. Dal punto di vista della biologia riproduttiva, l'unico pesce indagato non ha mostrato, invece, alcun tipo di anomalia ma, al contrario, è risultata una femmina che si trovava in uno stadio avanzato di maturazione, che non presentava alcun segno di stress, come la presenza di forme degenerative degli oociti (fase di atresia follicolare), ma anzi possedeva un elevato valore di IG% e di oociti in avanzata vitellogenesi. Chiaramente una singola osservazione non ci consente di generalizzare e su tali aspetti sono necessari ulteriori indagini per valutare con esattezza l'effetto delle sostanze rilasciate dal sito SIN di Bussi Officine sulle dinamiche riproduttive dei pesci (maturazione, fecondità, schiusa, sopravvivenza delle fasi giovanili, taglia di prima maturità).

Più in generale, le alterazioni nelle comunità ittiche possono essere generate dalle pressioni antropiche che incidono sia direttamente sia indirettamente sui popolamenti ittici (Zerunian, 2002).

Il fiume Aterno-Pescara è, infatti, soggetto a diverse pressioni generate dalle attività umane, come:

- inquinamento chimico diffuso, legato anche alla presenza delle discariche abusive di Bussi Officine, di Piano d'Orta e a valle di Alanno (PE), considerate tra le più grandi di Europa;
- l'alterazione delle caratteristiche idromorfologiche, dovute alla presenza di numerose dighe e traverse nel tratto Bussi Officine (PE) - Pescara (Bussi Officine (I salto), Tocco da Casauria (II salto), diga di Alanno (PE) (III salto), diga e traversa di Manoppello (PE), restituzione di Triano (CH), centralina di San Giovanni Teatino (CH), centralina di Santa Teresa di Spoltore (PE));
- l'isolamento biologico dei tratti fluviali separati da opere di derivazione e sbarramento;
- la captazione delle acque per uso potabile e irriguo e per la produzione di energia elettrica che ha portato una forte riduzione della portata in alveo, inferiore al Deflusso Minimo Vitale (DMV);
- inquinamento organico diffuso dovuto al mancato funzionamento dei depuratori.

A queste pressioni vanno poi sommate le introduzioni di specie alloctone, come la trota fario, che, una volta acclimatata, hanno evidentemente interagito con quelle autoctone, entrando in competizione e modificando la biodiversità originaria, già fortemente minacciata dalle alterazioni delle caratteristiche ecologiche originarie sopramenzionate.

I popolamenti locali più integri, dal punto di vista faunistico, sono quelli rilevati nel sito di Molina (AQ) e Vittorito (AQ), dove prevalgono quasi esclusivamente *taxa* endemici e sub endemici, non a caso i due siti a monte degli sbarramenti citati. Sicuramente, tra le pressioni antropiche sulla fauna ittica e sull'ecosistema acquatico, come evidenziato in altri contesti ambientali (Pini Prato, 2001, 2007), quella generata da dighe e sbarramenti di varia natura che interrompono la continuità fluviale è una tra le più impattanti.

Tali opere generano anche un'alterazione delle caratteristiche morfologiche, idrodinamiche e sedimentologiche lungo tutta l'asta fluviale e rappresentano gli elementi di frammentazione principali del corso d'acqua. Gli sbarramenti fluviali non sono dotati di specifici "passaggi per pesci", cosa che impedisce i liberi spostamenti delle popolazioni migranti lungo i profili longitudinali dei corsi d'acqua, limitando la capacità di sopravvivenza e la riproduzione. Ciò provoca contrazione dell'habitat, eccessivo confinamento spaziale delle popolazioni naturali, aumento dello stress e delle malattie, aumento della mortalità, soprattutto degli adulti nella fase di migrazione riproduttiva. Inoltre, i pesci di piccola taglia possono passare tra le maglie delle griglie delle opere di derivazione ed essere "turbinati", cioè entrare attraverso l'acqua captata nelle condotte forzate e arrivare alle turbine per la produzione di energia elettrica. In aggiunta, gli sbarramenti generano impoverimenti ittici per drift a seguito di piene, ma anche estinzioni locali di specie ittiche migratrici anadrome, come l'alosa (*Alosa fallax*) e le lamprede di mare (*Petromyzon marinus*) e di fiume (*Lampetra fluviatilis* e *Lampetra planeri*). A queste specie va aggiunta l'anguilla (*Anguilla anguilla*), catadroma, che migra su lunghe distanze all'interno dei bacini fluviali, colonizzando anche le porzioni collinari, per poi andare a riprodursi nel Mar dei Sargassi. Attualmente, questa specie è considerata a forte rischio di estinzione, su scala nazionale ed internazionale (cfr. International Union for Conservation of Nature, 2007 e IUCN-Italia 2012). Il rischio di estinzione per l'anguilla è stato considerato così grave che l'Unione Europea ha emanato apposito regolamento (Regolamento (CE) N. 1100/2007) che istituisce misure per la ricostituzione dello stock di anguilla europea, finalizzato alla conservazione e gestione sostenibile della specie mediante l'elaborazione di uno specifico "Piano di gestione".

11.3 Test del Micronucleo

Il fiume Aterno-Pescara scorre attraverso una zona altamente antropizzata della regione Abruzzo, con diversi insediamenti urbani e industriali. Proprio gli effluenti urbani e industriali sono le principali fonti di inquinamento per gli ambienti acquatici che possono indurre effetti genotossici nei Pesci (Grisolia & Cordeiro, 2000; Konen & Cavas, 2008; Rocha *et al.*, 2009; Bolognesi & Hayashi, 2011).

L'esposizione ai composti genotossici non è di per sé letale per gli organismi acquatici, tuttavia può innescare meccanismi di selezione che con il tempo portano alla riduzione della vitalità, della salute e del successo riproduttivo degli individui (Da Silva Souza & Fontanetti, 2006; Gravato & Santos, 2002). In ambienti cronicamente contaminati questo fenomeno può provocare a lungo andare la perdita della diversità genetica (Serrano-García & Montero-Montoya, 2001). Nel 2007, all'altezza di Bussi Officine è stata scoperta la più grande discarica abusiva di rifiuti tossici d'Europa. Altre due discariche sono state individuate a Piano d'Orta e a valle di Alanno (PE).

La ricerca dei micronuclei (MN), attraverso il Test del Micronucleo, è un utile strumento negli studi che utilizzano gli organismi acquatici come bioindicatori e consente di capire se, in un determinato sito, siano presenti sostanze genotossiche (Ossana *et al.*, 2010; Wirz *et al.*, 2005). Questo metodo è stato applicato al fine di conoscere lo stato di salute dell'ecosistema del fiume Pescara a monte e a valle del sito SIN di Bussi Officine. Tutte le analisi condotte con questo test hanno indicato la presenza di una frequenza di micronuclei significativamente maggiore nei siti a valle ($p < 0,05$), sia quando sono state confrontate le singole specie, catturate sia a monte sia a valle (trota e cavedano), sia quando il confronto è avvenuto tra tutti i pesci catturati nei siti a monte (cavedani, rovelle, trote) con quelli a valle (cavedani, barbi, trote).

Il sito nel quale sono stati catturati pesci con la frequenza media di micronuclei più alta (1,5 ‰) è stato quello di Bussi Officine, situato proprio sotto l'omonima discarica, seguito dal sito di Manoppello (0,8 ‰) sempre a valle della discarica. I siti a monte della discarica (Molina e Vittorito) hanno mostrato delle frequenze medie di MN pari rispettivamente a 0,15 ‰ e 0,2 ‰, significativamente inferiori rispetto al sito di Bussi Officine. Questi dati fanno ritenere che a valle della discarica siano presenti sostanze con effetto genotossico cronico: gli stessi pesci analizzati, dopo un mese di depurazione in acqua di sorgente, hanno ridotto in modo significativo la loro frequenza media di micronuclei fino a 0,3 ‰. Un risultato analogo è stato ottenuto da Tancioni *et al.* (2014) che, sul fiume Sacco, nel sito più inquinato, hanno osservato frequenze di micronuclei fino a 3,1 ‰ nei barbi e gobioni e fino a 1,5 ‰ nelle rovelle e cavedani.

Sempre nello stesso studio, dopo 30 giorni di depurazione, le frequenze dei micronuclei sono scese a un valore massimo di 0,9 ‰. La frequenza media dei micronuclei nei siti a valle è risultata pari a 1 ‰, un valore più basso rispetto a quello riscontrato da Piccoli *et al.* (2008) che hanno contato una frequenza media di 1,9 ‰ MN nel sangue di cavedani catturati sul fiume Pescara, all'altezza del sito di Manoppello. Rispetto al 2008 sembra quindi che l'effetto genotossico sia diminuito, visto che la frequenza media dei cavedani del sito di Manoppello è stata di 0,6 ‰, ma comunque ancora presente.

La frequenza media dei micronuclei nei siti di monte è risultata poco elevata (0,2 ‰), paragonabile a valori fisiologici osservati in altri studi ed effettuati su trote (Kim & Hyun, 2006), su carassi (Arkhipchuk & Garanko, 2005) e su spigole (Gravato & Santos, 2003).

La trota è risultata la specie che, a parità di sito, ha mostrato le più alte frequenze di micronuclei, quindi una sensibilità maggiore rispetto alla presenza di sostanze genotossiche. Questi dati confermano quanto già dimostrato da altri autori sull'utilizzo delle trote come buoni bioindicatori tramite il test dei micronuclei (Rodriguez-Cea *et al.*, 2003).

Questo studio ha dimostrato che, a seguito di depurazione, i micronuclei non sono più riscontrabili e ha confermato che il numero di micronuclei, e quindi dei danni al DNA, sia vicino a zero in condizioni di naturalità. Il loro aumento, facilmente evidenziabile, può essere utilizzato come buon indicatore della presenza di inquinanti e dello stato di salute (benessere) di una popolazione ittica.

Unico inconveniente è che tale alterazione eritrocitaria avviene generalmente in maniera non repentina, poiché necessita di qualche giorno per appalesarsi: un esame effettuato troppo precocemente non fornirebbe quindi risultati positivi.

11.4 Inquinamento chimico da metalli pesanti, diossine e PCB

I metalli pesanti si trovano naturalmente negli ambienti acquatici in bassissime quantità, alcuni di essi sono considerati essenziali per la vita degli organismi viventi (Fe, Al, Zn, Cu, Cr), altri sono tossici anche a concentrazioni in tracce (Cd, Hg, Pb e Ni) (Perugini *et al.*, 2014). Tutti i metalli, compresi quelli essenziali, però, se presenti in concentrazioni troppo elevate, possono diventare pericolosi per gli organismi viventi. Processi di origine antropica possono rilasciare grandi quantitativi di metalli che vanno ad accumularsi nel suolo, nei sedimenti e nelle acque, determinando forme di inquinamento ambientale più o meno gravi (Nriagu, 1989). La loro presenza in elevate concentrazioni è quindi di per sé un buon indicatore di inquinamento di origine antropica (Goodyear & McNeill, 1999). Conoscere la concentrazione di metalli negli ambienti acquatici, spesso però, non è sufficiente per valutare il reale livello di inquinamento ambientale e il generale stato di salute degli organismi presenti, dal momento che un certo numero di altre variabili (come la biodisponibilità, le interazioni, le miscele) possono svolgere un ruolo chiave sugli effetti biologici (Lopez-Doval *et al.*, 2012]. Per tale ragione, i metalli sono ricercati anche negli organismi viventi, oltre che nel sedimento e nell'acqua. Per alcuni di essi, considerati alimenti, sono stati stabiliti dei livelli di concentrazione massima ammissibili nelle carni e sono stati inclusi nei regolamenti dell'Unione Europea per contaminanti nei prodotti alimentari (CE 2006, 2008, 2011). Le diossine e i PCB sono inquinanti di origine industriale. Queste molecole sono molto stabili e persistenti nell'ambiente, inoltre si diffondono facilmente in quanto aderiscono al particolato organico e sono trasportate a grandi distanze dal vento e dall'acqua. Un'altra caratteristica è quella di essere fortemente liposolubili e quindi, nel tempo, si accumulano nei tessuti grassi degli organismi (bioaccumulo) e risultano maggiormente concentrate salendo nella catena trofica (biomagnificazione). Anche per le diossine e PCB, come per i metalli, sono stati stabiliti dei livelli di concentrazione massima ammissibile nelle carni per definire il rischio sanitario. La valutazione di questi rischi è compito di organizzazioni preposte alla sicurezza alimentare, come l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), che forniscono indicazioni indipendenti tra loro sui problemi della sicurezza dei cibi, derivanti da consultazioni in commissioni competenti.

In questo studio la presenza di metalli pesanti, diossine e PCB è stata ricercata in quattro siti del fiume Aterno-Pescara caratterizzati da impatti antropici differenti, analizzando due matrici diverse: Macroinvertebrati della Famiglia dei Gammaridae e Pesci. Questi due taxa sono stati scelti in quanto hanno cicli di vita, aspetti fisiologici e ruoli ecologici molto differenti tra loro e la lettura integrata dei risultati ottenuti su queste due matrici può fornire un'idea più completa dello stato di salute ambientale.

Per l'interpretazione dei risultati, per quanto riguarda i Pesci, per prima cosa è stata cercata una correlazione tra la lunghezza totale del pesce e la concentrazione dei metalli pesanti, diossine e PCB nel muscolo. È stata scelta la lunghezza totale in quanto tale misura è generalmente utilizzata come surrogato dell'età (Sonesten, 2003). In tutte le specie esaminate non è stata trovata una correlazione significativa, né positiva né negativa, tra la taglia e la concentrazione di arsenico, cadmio, piombo, cromo, diossine e PCB. Correlazioni negative tra la taglia di alcuni pesci marini e la concentrazione di metalli pesanti come il cadmio, cromo, piombo, arsenico e zinco, invece, sono state osservate e associate alla maggiore attività metabolica degli individui giovani rispetto agli adulti (Heath, 1987; Langston, 1990; Roesijadi & Robinson, 1994). In questo studio sono mancate totalmente le forme giovanili e sono stati catturati un numero relativamente ridotto di sub-adulti e adulti che non differivano troppo tra loro per taglia e questo può aver contribuito a non far emergere le suddette correlazioni. In generale, il fattore più importante che determina l'accumulo di metalli pesanti o di diossine e PCB nell'organismo è il risultato della differenza tra il processo di assorbimento e quello di depurazione, che negli organismi giovani è stato dimostrato essere più alto rispetto agli individui più vecchi (Elder & Collins, 1991; Douben, 1989; Canli & Furness, 1993; Nussey *et al.*, 2000; Widianarko *et al.*, 2000). Quando, però, le concentrazioni delle sostanze chimiche nell'ambiente sono molto alte, è possibile che il processo di depurazione non sia sufficientemente veloce e quindi si osservano correlazioni positive tra la taglia e le concentrazioni delle sostanze chimiche (Canli & Atli, 2003). È stato osservato anche che il rapporto tra la taglia dei pesci e la concentrazione delle sostanze chimiche può fortemente variare in base alla specie, al sito di campionamento e al tipo di elemento chimico e, inoltre, può dipendere da differenti tassi metabolici dovuti alla crescita e dalla reale biodisponibilità delle diverse sostanze chimiche nei siti indagati (Merciai *et al.* 2014). In questo studio, il mercurio è stato l'unico elemento chimico per il quale

è stata osservata una correlazione positiva in tutte le specie (ad eccezione della rovello, per la quale, però, la bassa unità campionaria ha reso poco attendibile l'interpretazione dei risultati), ma significativa ($p < 0.05$) solo nella trota. Questa correlazione positiva tra il mercurio e la taglia dei pesci è ben documentata in letteratura (Barak & Mason, 1990; Monteiro & Lopes, 1990; Sonesten, 2003; Yi & Zhang 2012, Perugini *et al.*, 2014) ed è principalmente dovuta al fatto che le specie ittiche, una volta assorbito il mercurio, lo eliminano molto lentamente. Cubadda *et al.* (1998) hanno osservato che i tempi di dimezzamento del metilmercurio, vanno da sei mesi per mitili a due anni per il luccio. Questo dato è confermato da questo studio in quanto dopo 30 giorni di depurazione, sia per i pesci a monte sia per i pesci a valle del sito SIN di Bussi Officine (PE), non è stato osservato un abbassamento significativo delle concentrazioni di mercurio. Anche per il cadmio, cromo, diossine e PCB è stato registrato lo stesso risultato, mentre una riduzione della concentrazione di piombo e arsenico significativa è stata osservata nei pesci depurati e catturati a monte del sito SIN di Bussi Officine (PE), ma non in quelli catturati a valle.

L'assunzione delle sostanze chimiche da parte degli organismi acquatici (bioaccumulo) dipende fortemente dalla concentrazione di queste sostanze nell'ambiente acquatico (bioconcentrazione), dal trasferimento nelle reti trofiche (bio-disponibilità) e, per alcune sostanze lipofile, dalla percentuale di contenuto in grasso dell'organismo. Un altro fattore che può influenzare il contenuto di metalli, diossine e PCB è determinato dalla specie analizzata (Kljaković Gašpić *et al.*, 2002), in quanto soprattutto l'ecologia trofica di ciascuna specie determina il diverso assorbimento delle sostanze chimiche che sono disponibili in differente maniera nell'ambiente. In questo studio sono state analizzate quattro specie, tre delle quali appartenenti alla Famiglia dei Ciprinidi, ciascuna con un'ecologia trofica leggermente differente: il barbo, specie prettamente bentivora, che si nutre prevalentemente di invertebrati; la rovello, più planctivora ed erbivora, che si nutre di alghe e del periphyton che cresce sui substrati duri; il cavedano, con dieta onnivora, anche se gli adulti si cibano soprattutto di pesci. L'ultima specie analizzata, appartenente alla Famiglia dei Salmonidi, è la trota, predatore molto vorace, la cui dieta è costituita da Insetti, Crostacei, Pesci, Anfibi e vermi. Tra queste specie non sono state osservate differenze significative nella concentrazione di arsenico, cadmio, cromo e piombo, mentre, per quanto riguarda il mercurio, la trota è stata la specie che ne ha accumulato significativamente meno ($p < 0,05$) rispetto a tutte le altre. Questo dato, seppure incoerente con la teoria secondo la quale i metalli pesanti, ed in particolar modo il mercurio, si accumulano in elevate quantità negli organismi al vertice della catena alimentare, come la trota nei fiumi o i tonni e i pesci spada nel mare (Monterio e Lopes, 1990), è invece in accordo con altri studi che indicano i pesci bentonici come quelli che presentano più alte concentrazioni di metalli pesanti rispetto ai pesci pelagici (Kljaković Gašpić *et al.* 2002; Saei-Dehkordi *et al.* 2010, Monikh *et al.*, 2013). Non a caso in questo studio i barbi, maggiormente legati ad una vita bentonica, hanno mostrato i valori medi più alti di cromo ($0,66 \pm 0,7$ mg/kg), piombo ($0,04 \pm 0,02$ mg/Kg) e mercurio ($0,56 \pm 0,4$ mg/Kg).

Caracciolo *et al.* (1972) hanno riscontrato concentrazioni ancora più elevate di mercurio totale pari a 2,298 mg/kg come valore medio per i campioni di pesce prelevati alla foce del fiume Pescara, con un valore massimo 15,650 mg/kg, mentre per i pesci prelevati in mare, il valore medio è stato di 0,707 mg/kg e 4,405 mg/kg per due specie bentoniche. In Perugini *et al.* (2014) sono stati riscontrati i seguenti valori medi di mercurio totale in pesci catturati con reti a strascico nell'Adriatico centrale (mg/kg):

- astici	0,97
- triglia di fango	0,48
- nasello	0,59
- melù	0,38
- sgombro	0,36
- calamari	0,25

Queste informazioni potrebbero essere utili per un confronto successivo, ottenuto soprattutto ripetendo lo studio di Caracciolo *et al.*, per verificare l'evoluzione, dal 1972 ad oggi, del tasso di inquinamento da mercurio nella Val Pescara fino alla foce del fiume, aggiungendo, come riportato nel suddetto lavoro, anche la determinazione del mercurio nei capelli dei pescatori.

Per quanto riguarda le diossine e i PCB, la rovello è risultata la specie che ha bioaccumulato maggiormente queste tipo di sostanze chimiche. Le concentrazioni medie di diossine WHO-TEQ-05, diossine+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05, PCB WHO-TEQ-05 e PCB non diossina-simili ICES-6 sono risultate tutte più alte in questa specie rispetto alle altre, nella maggior parte dei casi, anche in modo significativo. Le altre specie, tra loro, non hanno mostrato differenze significative (Tabella 10.2).

Tabella 10.2 Valori medi \pm deviazioni standard delle concentrazioni di diossine e PCB rilevate in ciascuna specie dello studio. Tra parentesi () è stato riportato il numero di esemplari analizzati, l'asterisco * indica la presenza di una differenza significativa, calcolata mediante il test di Mann-Whitney, tra i valori delle concentrazioni delle rovelle e i valori delle altre specie.

Specie	DIOSSINE WHO-TEQ-05 diossina-simili (pg-TE/g)	DIOSSINE+PCB i WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)	PCB WHO-TEQ-05 (pg-TE/g)	PCB NON DIOSSINA-SIMILI ICES-6 (ng/g)
Rovella (3)	0,47 \pm 0,13	5,32 \pm 1,43	4,86 \pm 1,31	52,3 \pm 15,5
Barbo (6)	0,21 \pm 0,09	1,27 \pm 0,81*	1,06 \pm 0,74*	13,1 \pm 11,1
Cavedano (15)	0,13 \pm 0,09*	1,02 \pm 0,48*	0,89 \pm 0,41*	10,4 \pm 5,2*
Trota (10)	0,22 \pm 0,25	1,46 \pm 0,94*	1,24 \pm 0,73*	15,7 \pm 8,3*

Le norme europee (CE 2006; 2008), per i prodotti della pesca stabiliscono la concentrazione massima di 0,5 mg/kg per il mercurio, 0,3 mg/kg per il piombo, 0,05 mg/kg per il cadmio, 3,5 pg/g per diossine WHO-TEQ-05, 6,5 pg/g per diossine+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 e 125 ng/g per PCB non diossina-simili ICES. In questo studio tutti i pesci analizzati sono risultati con concentrazioni di piombo e cadmio al di sotto dei limiti di legge, mentre per il mercurio il 66,6% dei barbi e 13,3% dei cavedani hanno ecceduto detti limiti. Tutti gli esemplari che hanno superato i limiti per tali sostanze sono stati pescati a valle del sito SIN di Bussi Officine (PE), dove sembra esserci quindi un maggiore inquinamento. Per le diossine e i PCB i valori riscontrati sono risultati tutti ampiamente al di sotto dei limiti di legge, ad eccezione di un valore delle diossine+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 riscontrato in una rovello catturata nel sito di Molina (AQ), che, seppur di poco, ha superato detti limiti. Il grado di inquinamento delle diverse sostanze tra i siti a valle e a monte del sito SIN di Bussi Officine (PE) è stato valutato anche utilizzando i valori delle trote e dei cavedani, uniche specie pescate in entrambi i siti. Le concentrazioni di cromo, mercurio e piombo per entrambe le specie sono risultate mediamente superiori nei siti di valle, mentre il cadmio è risultato mediamente più alto nei pesci di monte, ma non in modo significativo.

Tra i siti di monte ed i siti di valle, per le trote è stata osservata una differenza significativa solo per il cromo, mentre nel cavedano differenze significative sono state evidenziate anche per il mercurio e il piombo. Per quanto concerne le diossine e i PCB, le concentrazioni non hanno mostrato differenze significative tra i siti di monte e di valle né nel cavedano né nella trota, ad eccezione dei PCB non diossina-simili ICES che sono risultati significativamente più alti, in entrambe le specie, nei siti di monte. Questi dati mostrano come l'inquinamento per queste tipologie di sostanze sia ampiamente diffuso.

Concludendo, i pesci campionati a monte del sito SIN di Bussi Officine (PE), hanno concentrazioni di arsenico, cadmio, diossine e PCB maggiori (in modo significativo, solo per il cadmio, diossine+PCB diossina-simili WHO-TEQ-05 e PCB non diossina-simili ICES), mentre i pesci catturati a valle hanno concentrazioni di cromo, piombo e mercurio significativamente più alte.

Infine, il confronto delle concentrazioni delle sostanze chimiche tra i valori medi dei Pesci e i valori dei Gammaridi per ciascun sito ha mostrato che i Macroinvertebrati hanno accumulato maggiori quantitativi di arsenico, cadmio, piombo e cromo, mentre mercurio, diossine e PCB, che sono molecole lipofile e stabili, sono risultate più abbondanti nei Pesci. Questo dato non sorprende in quanto è già stato dimostrato che specie differenti, pur vivendo nello stesso sito, possono bioaccumulare concentrazioni diverse di metalli pesanti (Luoma & Rainbow, 2005), a causa della loro differente fisiologia e dei diversi meccanismi di detossificazione (Hare, 1992). Tassi differenti di eliminazione dei metalli sono stati osservati anche tra specie diverse di Macroinvertebrati (Buchwalter & Luoma 2005). Comunque, la dieta è la via

principale con la quale gli organismi vengono in contatto con i metalli pesanti e il bioaccumulo può dipendere dalla frequenza di alimentazione, da un'alta efficienza di assimilazione o da bassi tassi di detossificazione (Luoma & Fisher, 1997). La lettura di questi dati suggerirebbe che i Pesci, per la maggior parte dei metalli pesanti, abbiano dei sistemi di detossificazione migliori dei Macroinvertebrati, oppure che, in rapporto alla massa corporea, assumano una concentrazione minore di tali sostanze o che si alimentino con una minore frequenza rispetto ad essi. E' da considerare, comunque, che i Gammaridi, generalmente classificati come erbivori frammentatori (Cummins & Klug, 1979), e anche come predatori verso diverse specie di Macroinvertebrati (Kelly *et al.*, 2002; Dick *et al.*, 2002), sono animali stigofili, ossia in grado di vivere anche nella zona interstiziale iporreica (ambienti acquatici sotterranei), e quindi potrebbero avere una maggiore esposizione a sedimenti contaminati e alla falda inquinata rispetto ai Pesci.

Sebbene questo studio non abbia individuato alcuna forma di correlazione significativa tra le concentrazioni di metalli nei Gammaridi e nei Pesci per i quattro siti analizzati, ha però dato delle prime indicazioni riguardo alle diverse modalità di bioaccumulo di metalli pesanti, diossine e PCB in due matrici tanto diverse. Ulteriori indagini di correlazione, quindi, andrebbero svolte per aumentare le unità campionarie e comprendere i reali rapporti di bioaccumulo rispetto agli inquinanti effettivamente presenti e biodisponibili.

Non è stata registrata alcuna contaminazione di pesticidi organoclorurati e organofosforati né nei Pesci né nei Macroinvertebrati analizzati, a conferma di quanto riportato da Piccoli *et al.*, 2010).

12. CONCLUSIONI

Questo studio ha preso in considerazione solo alcuni inquinanti, che comunque, nel tempo, dovranno continuare ad essere monitorati perché altamente tossici, ma ad essi devono essere sicuramente aggiunte altre molecole per comprendere pienamente la causa della formazione dei micronuclei negli eritrociti dei Pesci. Infatti non c'è stata concordanza tra i risultati del Test del Micronucleo e la concentrazione delle sostanze chimiche analizzate (metalli pesanti, diossine e PCB): dopo la depurazione i micronuclei sono diminuiti in modo significativo, mentre le concentrazioni delle sostanze chimiche restano pressochè invariate. Pertanto ne deriverebbe che le molecole cercate non siano quelle che determinano i danni genetici.

Sarebbe sicuramente utile, inoltre, approfondire lo studio della contaminazione chimica nei Gammaridi in modo da eleggerli come indicatori biologici, in quanto ciò consentirebbe di non dover sacrificare ulteriormente la fauna ittica che, come è stato osservato in questo studio, è ormai in sofferenza nei fiumi abruzzesi.

In conclusione, i risultati che emergono da questo studio, sebbene preliminari e quindi incrementabili, sembrano indicare che nei tratti di fiume indagati:

- la funzionalità fluviale è Mediocre, cioè l'ecosistema fluviale risente dell'impatto antropico, praticamente presente lungo tutta l'asta fluviale;
- i popolamenti ittici nel tempo hanno mostrato una discreta integrità faunistica, con la presenza di alcune specie attese come la rovello, il barbo, la lampreda, il cavedano e l'anguilla, ma le popolazioni sono poco abbondanti e poco strutturate nelle taglie di età;
- la presenza di sostanze tossiche nei Pesci rappresenta un problema per l'umano consumo e quindi sarebbe necessario vietare la pesca almeno da Bussi Officine in poi o consentire solo la pratica del catch and release;
- il benessere dei Pesci è minacciato, soprattutto a Bussi Officine e Manoppello, come dimostrano la presenza di micronuclei (danni genetici) negli eritrociti, dovuta all'esposizione a sostanze mutagene, e le maggiori concentrazioni di piombo, cromo e soprattutto mercurio (oltre i limiti di legge per l'umano consumo);
- i metalli pesanti, le diossine ed i PCB sono considerati distruttori endocrini che possono interferire nel normale sviluppo gonadico inducendo infertilità ed intersesso, con il rischio di abbassare il potenziale riproduttivo delle specie e, nel lungo periodo, determinarne l'estinzione nel tratto fluviale;
- la concentrazione di arsenico è rilevante in tutti i punti di campionamento ed è quindi necessario approfondire l'origine della contaminazione, soprattutto nella sua forma più tossica di arsenico inorganico;

- l'esposizione alle sostanze tossiche è cronica, poiché la presenza dei micronuclei non si manifesta più dopo la depurazione, e quindi potrebbe derivare o dalla falda inquinata o da scarichi non trattati ancora attivi con continuità;
- Macroinvertebrati e Pesci presentano concentrazioni dei metalli, diossine e PCB proporzionalmente distribuite in rapporto ai diversi siti, ma il bioaccumulo di ciascuna sostanza chimica risulta differente tra i due taxa animali, come ci si aspettava;
- sarebbe opportuno aumentare il deflusso a valle della traversa di Bussi Officine (PE) per migliorare lo stato ecologico del fiume (nel Piano di Tutela delle Acque della Regione Abruzzo a Bussi Officine ed a Manoppello è previsto $3 < DMV \text{ m}^3/\text{s} < 6,53$; è in corso di sperimentazione da parte di Enel Produzione SpA la verifica del rilascio ottimale);
- le traverse sono sprovviste di passaggi per pesci funzionali, cosa che impedisce la migrazione riproduttiva di molte specie ittiche.

BIBLIOGRAFIA

1. Al-Sabti, K., Metcalfeb, C. D., 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. Volume 343, Issues 2–3, pp. 121–135
2. Angelier, E., 2003. Ecology of Streams and Rivers. Taylor & Francis Inc Hardback
3. APAT, 2005, Valutazione della genotossicità di inquinanti in ambienti acquatici: messa a punto di metodi per l'esecuzione del Test del Micronucleo in eritrociti di specie ittiche. Manuali e linee guida 32/2005
4. APAT, 2007. IFF 2007. Nuova versione del metodo revisionata e aggiornata. Manuale APAT
5. Arkhipchuk, V. V., Garanko, N. N., 2005. Using the nucleolar biomarker and the micronucleus test on in vivo fishfin cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 62, pp. 42–52
6. Ayllón, F., Suciú, R., Gephard, S., Juanes, F., Garcia-Vazquez, E., 2000. Conventional armament wastes induce micronuclei in wild brown trout *Salmo trutta*. *Mutation Research* 470, 169–176
7. Bahari, I. B., Noor, F.M., Daud, N.M., 1994. Micronucleated erythrocytes as an assay to assess actions by physical and chemical genotoxic agents in *Clarias gariepinus*. *Mutation Research* 313: 1-5
8. Barak, N.A., Mason, C.F., 1990. Mercury, cadmium and lead in eels and roach: the effects of size, season and locality on metal concentrations in flesh and liver. *Sci. Total Environ.* 92, 249–256
9. Barbour, M.T., Gerritsen, J., Snyder, B.D., Stribling, J.B., 1999. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, Second Edition. EPA 841-B-99-002. US Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.
10. Bianco, P.G., Caputo, V., Ferrito, V., Lorenzoni, M., Nonnis Marzano, F., Stefani, F., Sabatini, A., Tancioni L., 2012. *Salmo cettii* Rafinesque, 1810. In: IUCN-Italia 2012. IUCN Italia Red List of Threatened Species. Evaluator UZI – Unione Zoologica Italiana
11. Bolognesi, C., Hayashi, M., 2011. Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*; 26:205–213
12. Bolognesi, C., Perrone, E., Roggieri, P., Pampanin, D. M., Sciutto, A., 2006. Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquatic Toxicology* 78S, S93–S98
13. Bolognesi, C., Venier, P., 2003. Monitoraggio della genotossicità in matrici ambientali: acqua. In "Mutagenesi ambientale" di Autori vari pp. 263-280, Zanichelli. 63
14. Bonora, K., Rocco, R., 2003. Acqua e paesaggio. *Environmental, Ambiente e Territorio in Valle d'Aosta*, n. 23
15. Bosveld, A. T. C., Berg, M. V. D., 2002. Reproductive failure and endocrine disruption by organohalogenes in fish-eating birds. *Toxicology* 181:155-159
16. Bray, R.J., Curtis, J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecol Monogr* 27: 325–349
17. Brunner, W., Sutherland, F. H., Focht, D. D., 1985. Enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls in soil by analog enrichment and bacterial inoculation. *J. Environ. Qual.* 14:324-328
18. Buchwalter, D.B., Luoma, S.N., 2005. Differences in dissolved cadmium and zinc uptake among stream insects: Mechanistic explanations. *Environ Sci Technol.* 39, 498–504
19. Buffagni, A., Erba, 2007. Macroinvertebrati acquatici e Direttiva 2000/60/EC (WFD) - Parte A. Metodo di campionamento per i fiumi guadabili. *IRSA-CNR Notiziario dei Metodi Analitici*, (1): 2-27
20. Cairns, J. Jr., van der Schalie, W. H., 1980. Biological monitoring, Part I: Early warning systems. *Water Research* 14, 1179-1196
21. Cajaraville, M.P., Hauser, L., Carvalho, G., Hylland, K., Olabarrieta, I., Lawrence, A.J., Lowe, D.; Gokoyr, A., 2003. Chapter 2: Links between genetic damage by xenobiotics at the individual level and the molecular /cellular response to pollution. In: *Effects of Pollution on Fish: molecular effects and population responses*. AJ LAWRENCE & KL HEMINGWAY (eds.), Blackwell Science Ltd, Oxford, pp 14-82
22. Campana, M. A., Panzeri, A.M., Moreno, V.J., Dulout, F.N., 1999. Genotoxic evaluation of the pyrethroid lambda-cyhalothrin using the micronucleus test in erythrocytes of the fish *Cheirodon interruptus interruptus*. *Mutation Research* 438: 155-16
23. Canli, M., Atli, G., 2003. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.* 121, 129–136, [http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00194-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00194-X)
24. Canli, M., Furness, R.W., 1993. Toxicity of heavy metals dissolved in sea water and influences of sex and size on metal accumulation and

- tissue distribution in the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Mar. Environ. Res.* 36, 217–236
25. Caracciolo, S., Perna, A., Di Silvestro, C., 1972. Ricerche sul contenuto in mercurio totale di pesci e altri prodotti della pesca catturati alla foce del fiume Pescara e nel mare antistante Pescara. *Quaderni di Merceologia* 11, 1-11
26. Cavaş, T., Gözükar, S. E., 2005. Micronucleus test in fish cells: A bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. Volume 46, Issue 1, pages 64–70
27. Cubadda, F., Stacchini, P., Baldini, M., 1998. Microinquinanti organici e inorganici in specie marine eduli del Mare Adriatico: livelli di presenza e stima dell'assunzione potenziale da parte dell'uomo. *ISTISAN* 98/11
28. Cummins, K.W., Klug, M.J., 1979. Feeding Ecology of stream invertebrates. *Ann. Rev. Ecol. Sys.* 10: 147–172
29. Da Silva Souza, T., Fontanetti, C. S., 2006, Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. *Mutat. Res.*, 605: 87-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.02.010>
30. Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152: Norme in materia ambientale, G. U. 14 aprile 2006.
31. Decreto Legislativo del 2 febbraio 2001, n. 31. Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. G. U. 3 marzo 2001, n. 52, S.O.
32. Decreto Ministero Ambiente e Tutela del Territorio e del Mare (MATTM), 29 maggio 2008. Istituzione e perimetrazione del SIN-Bussi sul Tirino, Abruzzo. G. U. 24 luglio 2008
33. Decreto Ministero dell'Ambiente e Tutela del Territorio e del Mare. (MATTM), 8 novembre 2010, n. 260, Regolamento recante i criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali. Supplemento ordinario alla G.U. n. 30 del 7 febbraio 2011
34. Decreto Ministero dell'Ambiente e Tutela del Territorio e del Mare. (MATTM), 25 Ottobre 1999, n. 471, Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell'articolo 17 del decreto legislativo 5 febbraio 1997, n. 22, e successive modificazioni e integrazioni. G.U. 293 del 15-12-1999 S.O. 218
35. Della Croce, N., Cattaneo Vietti, R., Danovaro, R., 1997. *Ecologia e protezione dell'ambiente marino costiero*, UTET, 416 pp.
36. Di Molfetta, A., Fracassi, F., 2008. Consulenza tecnica sulla contaminazione in atto nell'area del polo industriale di Bussi, Procura della Repubblica presso il Tribunale di Pescara, procedimento n. 12/2006 R.G.N.R. mod. U
37. Dick, J.T.A., Platvoet, D., Kelly, D.W., 2002. Predatory impact of the freshwater invader, *Dikerogammarus villosus* (Crustacea: Amphipoda). *Can. J. Fish. aquat. Sci.* 59: 1048–1078
38. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque, G.U L 327 del 22/12/2000 pag. 0001 - 0073
39. Direttiva del 30-4-1992 n. 32. Direttiva del Consiglio recante settima modifica della direttiva 67/548/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose. Pubblicata nella G.U.C.E. 5 giugno 1992, n. L 154.
40. Douben, P.E., 1989. Lead and cadmium in stone loach (*Noemacheilus barbatulus* L.) from three rivers in Derbyshire. *Ecotox. Environ. Safe.* 18, 35–58
41. EFI+ CONSORTIUM, 2009. Manual for the application of the new European Fish Index – EFI+. A fish-based method to assess the ecological status of European running waters in support of the Water Framework Directive
42. Ehrich, M., 1998 - Organophosphates. In *Encyclopedia of Toxicology*. Ed. P. Wexler, pp. 467-461. San Diego, CA: Academic Press
43. Elder, J.F., Collins, J.J., 1991. Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 122, 37–79
44. EPA, 2003. Evaluation Guidelines For Ecological Indicators. EPA/620/R-99/005
45. Evans, H.J., Nearya, G. J., Williamson, F.S., 1959. The Relative Biological Efficiency of Single Doses of Fast Neutrons and Gamma-rays on *Vicia faba* Roots and the Effect of Oxygen. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine* Volume 1, Issue 3
46. Fernandez-Delgado, C., Hernando, J.A., Herrera, M. & Bellido, M., 1988. Life-history Patterns of the sandsmelt *Atherina boyeri*, Risso, 1810 in the Estuary of the Guadalquivir river, Spain. *Est., Coast. Shelf Sci.*, 27: 697-706
47. Forneris, G., Merati, F., Pascale, M., Perosino, G.C., 2007. Indice Ittico. *I.I. Biologia Ambientale*, 21 (I): 43 – 60

48. Fukuto, T. R., 1987 - Organophosphorus and carbamate esters: the anticholinesterase insecticides. In: J.W. Biggar & J. N. Seiber (Eds.), Fate of pesticides in the environment. Proceedings of a technical seminar (pp. 5-18). Oakland, CA: Agricultural Experiment Station, Division of Agriculture and Natural Resources, University of California
49. Gandolfi, G., Zerunian, S., Torricelli, P., Marconato, A., 1991. I pesci delle acque interne italiane. Istituto Poligrafico dello Stato, Roma. XVI, 617 pp.
50. Ghetti, P. F., Bonazzi, G., 1981. I Macroinvertebrati nella sorveglianza ecologica dei corsi d'acqua. Manuali di utilizzazione degli indicatori biologici di qualità delle acque. Collana del Progetto Finalizzato "Promozione della qualità dell'ambiente". CNR, pp 188 (AQ/1/27)
51. Ghetti, P.F., 1997. Manuale di applicazione: Indice Biotico Esteso (IBE). I Macroinvertebrati nel controllo della qualità degli ambienti di acque correnti. Trento: Provincia Autonoma di Trento. Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente
52. Giansante, C., 2008. Applicazioni di metodi ecoidraulici e metodi sperimentali complessi per la determinazione del Deflusso Minimo Vitale (DMV) nel fiume Pescara, Regione Abruzzo – IZSAM, Relazione finale
53. Goodyear, K.L., McNeill, S., 1999. Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: a review. *The Science of the Total Environment*. 229, 1-19
54. Gravato, C., Santos, M.A., 2002. Juveniles Sea Bass liver biotransformation and erythrocytic genotoxic responses to pulp mill contaminants. *Ecotoxicol. Environ Saf.*, 53: 104-112. <http://dx.doi.org/10.1006/eesa.2002.2196>
55. Gravato, C., Santos, M.A., 2003. Genotoxicity biomarkers' association with B(a)P biotransformation in *Dicentrarchus labrax* L. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 55: 352-358
56. Gray, J.S., 2002. Biomagnification in marine systems : the perspective of an ecologist. *Marine Pollution Bulletin*, Vol.45, 46-52 pp.
57. Grisolia, C. K., Cordeiro, C.M.T., 2000. Variability in micronucleus induction with different mutagens applied to several species of fish. *Genet. Mol. Biol.* 23:235-239
58. Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D., 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. 4, 1-9
59. Hare, L., 1992. Aquatic insects and trace metals: Bioavailability, bioaccumulation and toxicology. *Crit Rev Toxicol.* 22, 327-369
60. Heath, A. G., 1987. *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC press, 245 pp. Florida, USA
61. Hestermann, E. V., Stegeman, J. J., Hahn M. E., 2000. Serum alters the uptake and relative potencies of halogenated aromatic hydrocarbons in cell culture bioassays. *Toxicol. Sci.* 53, 316-325
62. Illies, J., Botosoneanu, L., 1963. Problèmes et méthodes de la classification et de la zonation écologique des eaux courantes, considérées surtout du point de vue faunistique. *Mitt. Int. Ver. Theor. Ang. Limnol.*, 12, 57 pp.
63. ISPRA, 2012. *Bioindicatori ed Ecotossicologia, sintesi e atti dei workshop 2008-2009*. ISPRA, ATTI
64. ISPRA, 2014. *Metodi biologici per acque interne. Manuali e linee guida 111/2014*
65. IUCN/UNEP/WWF, 1980. *Living Resource Conservation for Sustainable Development*. World Conservation Strategy
66. IZS TE B3.1.4 SOP087. *Metodi di riferimento per indagini chimiche su PCB NDL*. IZS TE
67. IZS TE B3.1.4 SOP119. *Metodi di riferimento per indagini chimiche su PCB DL*. IZS TE
68. Kamlesh, K. Y., Sunil, P. T., 2009. Sublethal exposure of heavy metals induces micronuclei in fish, *Channa punctata*. *Chemosphere* 77, 1495-1500
69. Kelly, D.W., Dick J.T.A., Montgomery, W.I., 2002. Predation on mayfly nymph, *Baetis rhodani*, by native and introduced *Gammarus* spp. (Amphipoda): direct effects and the facilitation of predation by salmonids. *Freshwat. Biol.* 47, 1257-1268
70. Kidd, K.A., Bootsma, H.A., Hesslein, R.H., Muir, D.C.G., Hecky, R.E. 2001. Biomagnification of DDT through the benthic and pelagic food webs of Lake Malawi, East Africa: importance of trophic level and carbon source. *Environ Sci Technol* 35:14-20
71. Kim, I.Y., Hyun, C.K., 2006. Comparative evaluation of the alkaline comet assay with the micronucleus test for genotoxicity monitoring using aquatic organism. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 64: 288-297.
72. Kiriluk, R.M., Servos, M.R., Whittle, M.D., Cabana, G., Rasmussen, J.B., 1995. Using ratios of stable nitrogen and carbon isotopes to characterize the bio-magnification of DDE, mirex, and PCB in a Lake Ontario pelagic food web. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52, 2660 - 2674

73. Kljaković Gašpić, Z., Znovarić, T., Vrgoč, N., Odžak, N., & Barić, A., 2002. Cadmium and lead in selected tissues of two commercially important fish species from the Adriatic Sea. *Water Research*. 36, 5023–5028
74. Konen, S., Cavas, T., 2008. Genotoxicity testing of the herbicide trifluralin and its commercial formulation Treflan using the piscine micronucleus test. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 49(6):434-8
75. Kruskal, J. B., Wish, M., 1978. Multidimensional Scaling. Number 07-011 in Sage University Paper Series on Quantitative Applications in the Social Sciences. Sage Publications, Newbury Park.
76. Kruskal, W.H., Wallis, W.A., 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47 (260): 583–621
77. Kucklick JR, Baker JE. 1998. Organochlorines in Lake Superior's food web. *Environ Sci Technol* 32(9):1192-1198.
78. Langston, W. J., 1990. Toxic effects of metals and the incidence of marine ecosystems. In: *Heavy Metals in the Marine Environment* (eds Furness RW, Rainbow PS), 256 pp. CRC Press, N. Y.
79. Legge Regionale 22 dicembre 2010, n. 59, Disposizioni per l'adempimento degli obblighi della Regione Abruzzo derivanti dall'appartenenza dell'Italia all'Unione Europea. Attuazione delle direttive 2006/123/CE, 92/43/CEE e 2006/7/CE, BURA 2/2011
80. Lemos, C. T., Iraújo, F. A., Oliveira, N. C. D., Souza G. D., Fachel. J. M. G., 2008. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. *Science of the Total Environment*, 406: 337-343
81. Lemos, C. T., Rodel, P. M., Terra, N.R., Oliveira, N. C., Erdtmann, B., 2007. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66, 391–401
82. Lemos, C.T., Röedel, P.M., Terra, N.R., Erdtmann, B., 2001. Evaluation of basal micronucleus frequency and hexavalent chromium effects in fish erythrocytes. *Environ Toxicol Chem* 20(6):1320–4
83. López-Doval, J.C., De Castro-Català, N., Andrés-Doménech, I., Blasco, J., Ginebreda, A., Muñoz, I., 2012. Analysis of monitoring programmes and their suitability for ecotoxicological risk assessment in four Spanish basins. *Science of the Total Environment*. 440, 194–203
84. Luoma, S.N., Fisher, N.S., 1997. Uncertainties in assessing contaminant exposure from sediments. In: Ingersoll CG, Dillon T, Biddinger GR (eds) *Ecological risk assessment of contaminated sediments*. SETAC Press, Pensacola, FL, p 211–237
85. Luoma, S.N., Rainbow, P.S., 2005. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environ Sci Technol*. 39, 1921–1931
86. Mann, H.B., Whitney, D.R., 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Annals of Mathematical Statistics* 18: 50-60
87. Martini, P., 2010. Bioaccumulo di microinquinanti nella rete trofica marina. Quaderni ARPA Emilia-Romagna
88. Mearelli, M., Lorenzoni, M., Carosi, A., Corboli, M., Doerr, A.J.M., Giovinazzo, G., La Porta, G., Michele, M., Pedicillo, G., Natali, M., Bonavia, M., Dolciami, R., Mezzetti, A., Biscaro Parrini, A., 2002 Progetto pilota per la modernizzazione e razionalizzazione della pesca nel Lago Trasimeno. Ricerca per la messa a punto di un protocollo per l'uso della pesca elettrica. Provincia di Perugia, pp. 95
89. Merciai, R., Guasch, H., Kumar, A., Sabater, S., García-Berthou, E., 2014. Trace metal concentration and fish size: Variation among fish species in a Mediterranean river. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 107, 154–161
90. Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC
91. Ministero Ambiente, 2010. Priorità e obiettivi per la valutazione e gestione del rischio per la salute umana e la qualità ambientale da esposizione a Interferenti Endocrini. Proposta di Piattaforma AMBIENTE E SALUTE, Roma
92. Monikh, F.A., Safahieh, A., Savari, A., Doraghi, A., 2013. Heavy metal concentration in sediment, benthic, benthopelagic, and pelagic fish species from Musa Estuary (Persian Gulf). *Environ.Monit.Assess.* 185, <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-012-2545-9> (215–22)
93. Monterio, L.R., Lopes, H.D., 1990. Mercury content of swordfish, *Xiphias gladius*, in relation to length, weight, age and sex. *Mar. Pollut. Bull.* 21, 293–296
94. Moore, D. R. J., Sample, B. E., Suter, G. W., Parkhurst, B. R., Scott Teed, R., 1999. A probabilistic risk assessment of the effect of methylmercury and PCB on mink and kingfishers along east fork poplar creek, Oak ridge, Tennessee USA. *Environ. Toxicol. and Chem.* 18: 2941-2953
95. Munkittrick, K.R., McCarty, L.S., 1995. An integrated approach to ecosystem health management: top-down, bottom-up or middle-out? *J. Aquatic Ecosystem Health* 4:77-90 pp.

96. Munro, A.D., Scott, A.P., Lam, T.J., 1990. Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences
97. Nagpure, N.S., Srivastava, R., Kumar, R., Dabas, A., Kushwaha, B., Kumar, P., 2015. Assessment of pollution of river Ganges by tannery effluents using genotoxicity biomarkers in murrel fish *Channa punctatus*. *Indian Journ of Experim Biology* vol. 53, 2015, pp. 476-483
98. National Research Council, 2003. Bioavailability of contaminants in soils and sediments. Processes, tools, and applications. Washington: The National Academic Press; 2003. p. 420
99. Nepomuceno, J. C., Ferrari, I., Sanò, M.A., Centino, A.J., 1997. Detection of micronuclei in peripheral erythrocytes of *Cyprinus carpio* exposed to metallic mercury. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 30: 293-297
100. Nriagu, J.M., 1989. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals, *Nature*, 338, 47-49
101. Nussey, G., Van Vuren, J.H.J., du Preez, H.H., 2000. Bioaccumulation of chromium, manganese, nickel and lead in the tissues of the moggel, *Labeo umbratus* (Cyprinidae), from Witbank dam, Mpumalanga. *Water Sa.* 26, 269-284
102. Ossana, N.A., Castañé, P.M., Poletta, G.L., Mudry, M.D., Salibián A., 2010. Toxicity of waterborne copper in premetamorphic tadpoles of *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 84: 712-715. <http://dx.doi.org/10.007/s00128-010-0014-0>
103. Pagliuca, G., Gazzotti, T., Zironi, E., Sticca, P., 2005. Residues analysis of organophosphorus pesticides in animal matrices by dual column capillary gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Journal of Chromatography A*, 1071, 67-70 pp
104. Paynem, J. F., Fancey, L. L., Rahimtula, A.D., Porter, E.L., 1987. Review and perspective on the use of mixed-function oxygenase enzymes in biological monitoring. *Compar Biochem Physiol*, 86C: 233-245
105. Perugini, M., Visciano, P., Manera, M., Zaccaroni, A., Olivieri, V., Amorena, M., 2014. Heavy metal (As, Cd, Hg, Pb, Cu, Zn, Se) concentrations in muscle and bone of four commercial fish caught in the central Adriatic Sea, Italy. *Environ. Monit. Assess.* 186:2205-2213. DOI 10.1007/s10661-013-3530-7
106. Piccoli, F., Dragani, L. K., Vetti, C., Celli, N., Calabrese, R., Marchetti, R., Pantani, C., Pagliani, T., 2010. Indagine ecotossicologica del fiume Pescara (Abruzzo): genotossicità e bioconcentrazione in *Leuciscus cephalus* di idrocarburi policiclici aromatici e metalli pesanti. *Qualità Ambientale*, 04: 063-070
107. Pini Prato, E., 2001. Le scale di risalita per la tutela del patrimonio ittico. Progetto di intervento per i corsi d'acqua della Val di Sieve. Provincia di Firenze Assessorato Agricoltura, Caccia e Pesca, Dipartimento di Ingegneria Agraria e Forestale, 95 pp.
108. Pini Prato, E., 2007. Descrittori per interventi di ripristino della continuità fluviale: Indici di Priorità di Intervento. *Biologia Ambientale*, 21 (1): 9-1
109. Pomini, F.P., 1940. Ricerche sui *Salmo* dell'Italia peninsulare. La trota del Sagittario (Abruzzi): *Salmo ghigii*. *Atti Soc. It. Sc. Nat.*, 80: 33-48
110. Porto, J. I. R., Cleusa, A. S.O., Feldberg, E., 2005. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research* 97, 287-292
111. Powers, A., 1989. Fish as model system. *Science* Vol. 246 no. 4928 pp. 352-358
112. R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
113. Recchia, F., Luciani, G., Logiudice, R.L., Dees, A., Benedetti, S., Mordenti, O., Pennacchioni, G., Cicerale, A., Roncarati, A., Melotti P., Marconato, E., Busatto, T., De Majo T., Maio, G., Salviati, S., Frezza, V., Carotta, A., Bianco, P.G., Nonnis Marzano, F., Ketmaier, V., Colantoni, A., Basilavecchia, A., Zanghi, A., 2007. Carta ittica della Provincia di Pescara, proposte di gestione. Provincia di Pescara, COGECSTRE edizioni, 151 p
114. Regolamento 1100/2007/CE del 18 settembre 2007 che istituisce misure per la ricostituzione dello stock di anguilla europea. G.U. 248/17
115. Regolamento 1259/2011/CE del 2 dicembre 2011 che modifica il Regolamento 1881/2006/CE del 19 dicembre 2006 per quanto riguarda i tenori massimi per i PCB diossina-simili e i PCB non diossina-simili nei prodotti alimentari, G.U. 03.12.2011
116. Regolamento 1881/2006/CE del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, G.U. 20.12.2006
117. Regolamento 629/2008/CE del 2 luglio 2008 che modifica il Regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, G.U. 03.07.2008

118. Rocha, P.S., Luvizotto, G.L., Kosmehl, T., Böttcher, M., Storch, V., Braunbeck, T., Hollert, H., 2009. Sediment genotoxicity in the Tietê River (São Paulo, Brazil): In vitro comet assay vs. in situ micronucleus assay studies. *Ecotoxicol Environ Saf.*; 72:1842–1848
119. Rodriguez-Cea, A., Ayllon, F., Garcia-Vazquez, E., 2003. Micronucleus test in freshwater fish species: an evaluation of its sensitivity for application in field surveys. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56 , 442–448
120. Roesijadi, G., Robinson, W. E., 1994. Metal regulation in aquatic animals: Mechanism of uptake, accumulation and release. In: *Aquatic Toxicology; Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*. (ed. Malins, D.C, Ostrander, G.K.) Lewis Publishers, London, pp. 539
121. Saei-Dehkordi, S. S., Fallah, A. A., Nematollahi, A., 2010. Arsenic and mercury in commercially valuable fish species from the Persian Gulf: influence of season and habitat. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2945–2950
122. Sanchez-Galan, S., Lin de, A.R., Ayllon, F., Garcia-Vazquez, E., 2001. Induction of micronuclei in Eel (*Anguilla anguilla* L.) by heavy Metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49: 139-143
123. Scardi, M., Cataudella, S., Di Dato, P., Fresi, E., Tancioni, L., 2007. An expert system based on fish assemblages for evaluating the ecological quality of streams and rivers. *Ecological Informatic*, vol. 3; p. 55-63, ISSN: 1574-9541
124. Serrano-García, L., Montero-Montoya, R., 2001, Micronuclei and chromatid buds are the results of related genotoxic events. *Environ. Mol. Mutagen.*, 38: 38-45. <http://dx.doi.org/10.1002/em.1048>
125. Siligardi, M., 2009. La nuova carta ittica della provincia di Lodi. Convegno APPA, Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente di Trento 2009
126. Snyder, M. J., 2000. Cytochrome P450 enzymes in aquatic invertebrates: recent advances and future directions. *Aquat Toxicol. Apr* 1;48(4):529-547
127. Sonesten, L., 2003. Fish mercury levels in lakes—adjusting for mercury and fish-size covariation. *Environmental Pollution*. 125, 255–265
128. Strahler, A.N., 1964. Quantitative geomorphology of drainage basins and channel networks. In. *Handbook of Applied Hydrology*, McGraw Hill Book Company, New York, Section 4II
129. Tancioni, L., Caprioli, R., Dawood Al-Khafaji, A.H., Mancini, L., Boglione, C., Ciccotti, E., Cataudella, S., 2015. Gonadal Disorder in the Thinlip Grey Mullet (*Liza ramada*, Risso 1827) as a Biomarker of Environmental Stress in Surface Waters. *International Journal of Environmental Research and Public Health* (12), 1817-1833
130. Tancioni, L., Iori, R., Gustavino, B., Boglione, C., Caprioli, R., Mancini, L., Scardi, M., Cataudella, S., 2014. Assessing effects of anthropogenic stress on aquatic ecosystems using a multilevel indicators approach: the case study of Sacco River (Latium, Italy). *Scientific Symposium "Small solutions for big water-related problems - Innovative microarrays and small sensors to cope with water quality and food security"* 26-28 October, Rome, Italy
131. Tancioni, L., Scardi, M., Cataudella, S., 2005. Fish-based assessment methods for the ecological status of aquatic systems. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 41(3), 399-402
132. Tancioni, L., Scardi, M., Cataudella, S., 2006. Riverine fish assemblages in temperate rivers. In: Ziglio, G., Siligardi, M., Flaim, G (eds.), *Biological Monitoring of Rivers: Applications and Perspectives*. Wiley, London: 47-69
133. Torreti, L., Simonella, A., Falgiani, A., Filipponi, C., Gramenzi F., 1987. Rapid determination of organochlorine pesticide residues in feeds by capillary gas chromatography. *Journal of HRC& CC*, 10 510-515
134. Turin, P., Zanetti, M., Bellio, M., 2014. Servizi relativi a rilievi, misure, indagini ed analisi per l'effettuazione delle caratterizzazione ambientale dei bacini idrici e degli alvei dei fiumi presso gli impianti di Enel Green Power S.p.a. *Bioprogramm Soc. Coop.*, 94 p
135. Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Rev. Fish. Sci.* 6: 287–318.
136. US EPA, 1980. Ambient water quality criteria for chromium. EPA 440/5-80-035. Office of water regulations and standards criteria and standards division, Washington, DC
137. US EPA, 1997. Mercury study report to congress. Volume VI. EPA-452/R-97-008. Office of Air Quality Planning and Standards and Office of Research and Development 1997, Washington, DC
138. US EPA, 2004. Guidelines for Water Reuse. EPA/625/R-04/108
139. Van der Putte, I., Brinkhorst, M. A., Koeman, J. K., 1981. Effect of pH on the acute toxicity of hexavalent chromium to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquat. Toxicol.* 1: 129-142

140. Van Gestel, C. A. M., Van Brummelen, T. C., 1996. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*, Volume 5, Issue 4, pp 217-225
141. Vannote, R. L., Minshall G. W., Cummins K. W., Sedell J. R., Cushing C. E., 1980. The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37:130-137
142. Wallace, R.A., Selman, K., 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Amer.Zool.* 21: 325-343.
143. Walters, D. M., K. M. Fritz, B. R. Johnson, J. M. Lazorchak, and F. H. McCormick, 2008. Influence of trophic position and spatial location on polychlorinated biphenyl (PCB) bioaccumulation in a stream food web. *Environmental Science and Technology* 42:2216-2223
144. Ward, J. V., 1989. The Four-Dimensional Nature of Lotic Ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society* Vol. 8, No. 1 (Mar., 1989), pp. 2-8
145. Widianarko, B., Van Gestel, C.A.M., Verweij, R.A., Van Straalen, N.M., 2000. Associations between trace metals in sediment, water, and guppy, *Poecilia reticulata* (Peters), from urban streams of Semarang, Indonesia. *Ecotox. Environ. Safe.* 46, 101-107
146. Wilcoxon, F., 1945. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics* 1: 80-83
147. Wirz, M.V.M.A., Saldivia, P.H., Freire-Maia, D.V., 2005. Micronucleus test for monitoring genotoxicity of polluted river water in *Rana catesbeiana* tadpoles. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 75: 1220-1227. <http://dx.doi.org/10.007/s00128-005-0879-5>
148. Woodiwiss, F.S., 1978. Comparability study of biological-ecological assessment methods. Second Technicals Seminar on River Trent and tributaries. Commission of the European Communities
149. Yi, Y.J., Zhang, S.H., 2012. Heavy metal (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) concentrations in seven fish species in relation to fish size and location along the Yangtze River, *Environ.Sci.Pollut.R.* 19, 3989-3996 <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-012-0840-1>
150. Zanetti, M., 2015. Gruppo di lavoro Salmonidi. Associazione Italiana Ittiologi Acque Dolci. Pag. 1-66; [http://www.unpem.net/site/files/AllAD%20Salmonidi%20Relazione%20Finale%20\(2\).pdf](http://www.unpem.net/site/files/AllAD%20Salmonidi%20Relazione%20Finale%20(2).pdf)
151. Zerunian, S., 2002. Condannati all'estinzione? Edagricole, pgg. 220
152. Zerunian, S., 2004. Pesci delle acque interne d'Italia. Quaderni di Conservazione della Natura, N. 20, ISPRA
153. Zerunian, S., 2007. Problematiche di conservazione dei Pesci d'acqua dolce italiani, *Biologia Ambientale*, 21 (2): 49-55
154. Zerunian, S., Goltara, A., Schipani, I., Boz B., 2009. Adeguamento dell'Indice dello Stato Ecologico delle Comunità Ittiche alla Direttiva Quadro sulle Acque 2000/60/CE. *Biologia Ambientale*, 23 (2): 15-30
155. Zerunian, S., Ruggeri, L., 2007. Prime considerazioni sulla popolazione del genere *Salmo* presente nella Riserva Naturale Regionale Gole di San Venanzio (Fiume Aterno; Abruzzo). *Biologia Ambientale*, 21(2): 119-125
156. Zeurian, S., 1982. Una proposta di classificazione della zonazione longitudinale dei corsi d'acqua dell'Italia centro-meridionale. *Atti XLIX Conv. U.Z.I., Bari , Boll. Zool.*, 49 (suppl.): 200

Siti consultati

http://www.gruppohera.it/binary/hr_canale_acqua/interventi_endocrini/Report_Interferenti_Web.1316597614.pdf

<http://www.ing.unitn.it/~colombo/Contaminazioni.htm>

http://www.ing.unitn.it/~colombo/metalli_pesanti/

<http://www.iucn.it/dettaglio.php?id=29075>

<http://www.lenntech.it/faq-inquinanti-idrici.htm>

http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1981_allegato.pdf

<http://www.silvae.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/92>

<https://bio.unipg.it/download/Volumi/Fauna%20ittica%20dell'Umbria/Fauna%20ittica%20dell'Umbria.pdf>

Finito di stampare nel mese di giugno 2016
da EditPress srl - Castellaio (TE)