

Uso degli indicatori istopatologici, in cavedano (*Leuciscus cephalus*) e trote (*Salmo trutta fario*), nel monitoraggio di un ecosistema fluviale

A.Paolini, M.Berti, A.D'Angelo & C.Giansante

Riassunto

Lo studio, costituito da un monitoraggio multidisciplinare effettuato in due fiumi abruzzesi, sottolinea l'importanza dell'istopatologia nella valutazione ambientale degli ecosistemi fluviali. Trote fario (*Salmo trutta fario*) del fiume Aterno e cavedani (*Leuciscus cephalus*) del fiume Vomano, sono stati campionati in inverno ed in primavera. Le indagini istopatologiche hanno riguardato branchie, reni e fegato ed hanno messo in evidenza lesioni infiammatorie e degenerative, interpretate come segno precoce di stress ambientale. Le lesioni, valutate in maniera semiquantitativa secondo una scala di gravità prestabilita, sono state confrontate con i risultati degli esami effettuati sui campioni di acqua e sui macroinvertebrati (Indice Biotico Estesio) raccolti negli stessi fiumi, esami che hanno confermato alterazioni dell'ecosistema osservato.

Parole chiave

IBE - Inquinamento - Istologia - Pesce.

Introduzione

I pesci sono spesso esposti ad acque pesantemente inquinate a causa degli scarichi industriali, agricoli ed urbani, specialmente in aree dove la portata del corso d'acqua è relativamente modesta o comunque insufficiente ad assicurare la diluizione e la depurazione delle sostanze tossiche introdotte.

Gli effetti nocivi sono particolarmente evidenti quando i contaminanti sono poco o affatto biodegradabili, hanno un elevato potere biologico, notevole potere di accumulo o si influenzano reciprocamente in un meccanismo sinergico.

In Abruzzo ed in Molise si verificano episodi di mortalità di fauna ittica nelle acque libere; in questo studio sono state effettuate indagini su campioni di pesci, macroinvertebrati ed acqua, allo scopo di individuare eventuali segnali precoci di inquinamento e di precorrere gli episodi di moria.

L'indagine istologica permette l'osservazione della struttura cellulare e la rilevazione di danni che non sempre è possibile individuare macroscopicamente. Rappresenta pertanto un utile strumento per determinare gli effetti sub-letali e cronici dovuti ad inquinamento (22, 23, 24, 25).

L'indagine istologica può essere quindi considerata un indicatore di esposizione a contaminanti o biomarker, intendendo con questo termine un indicatore delle modificazioni apportate da una sostanza xeno-biotica ad una funzione, ad un organo, ad un organismo o ad una popolazione (17).

Lo scopo del metodo IBE (Indice Biotico Estesio) è quello di formulare diagnosi sulla qualità ambientale

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo & del Molise «G. Caporale» (IZSA&M), Teramo - Italia
a.paolini@izs.it

di acque correnti sulla base delle modificazioni nella composizione delle comunità di macroinvertebrati, indotte da fattori di inquinamento delle acque e dei sedimenti o da significative alterazioni fisiche dell'alveo bagnato. Il metodo si fonda sulla diversa sensibilità agli inquinanti di alcuni gruppi faunistici e sulla ricchezza in Taxa della comunità complessiva. Gli indicatori sono costituiti da popolamenti macrozoobentonici che colonizzano tutti i substrati presenti nei corpi idrici. Sono rappresentati da Specie con una vasta gamma di adattamenti e di resistenze, che occupano pressochè tutti i livelli trofici, esercitando un ruolo importante nello sminuzzamento del detrito e costituendo essi stessi alimento per i pesci; hanno mediamente lunghi cicli vitali (in genere annuali) e vivono almeno parte della loro vita legati ai substrati. Tutte queste caratteristiche rendono questi organismi particolarmente adatti a funzionare da indicatori della qualità dell'ambiente in cui vivono(4).

Materiali e metodi

Punti di campionamento

Sono stati effettuati campionamenti di pesci, macroinvertebrati ed acqua sul fiume Aterno a Popoli (Pescara) e sul fiume Vomano a Villa Vomano (Teramo) (Figura 1).

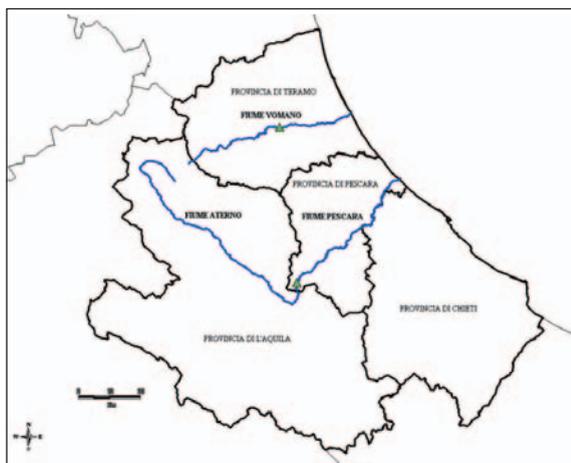


Figura 1
Regione Abruzzo - Δ Punti di prelievo: fiume Vomano a Villa Vomano (Teramo), fiume Aterno a Popoli (Pescara)

Pesci

Nel periodo che va dal 13 novembre 2000 al 4 giugno 2001 sono stati effettuati campionamenti di trote fario (*Salmo trutta fario*) sul fiume Aterno e di cavedani (*Leuciscus cephalus*) sul fiume Vomano. In entrambi i fiumi i prelievi, effettuati con le comuni tecniche di pesca sportiva, sono stati eseguiti in inverno e poi ripetuti in primavera; ad ogni campionamento sono stati pescati 10 pesci. Ogni esemplare, immediatamente dopo la pesca, è stato sacrificato mediante enervazione. Rapidamente, per evitare l'interferenza delle alterazioni post-mortali (16, 19), sono stati prelevati gli organi da osservare istologicamente: fegato, rene e branchie. Da ogni organo sono stati prelevati, in punti diversi, 3 pezzetti fissati in formalina al 10% tamponata neutra ed in seguito processati in laboratorio secondo le comuni tecniche istologiche (3). Sono state esaminate complessivamente 360 sezioni d'organo.

Sugli esemplari è stato effettuato inoltre uno screening-diagnostico - esame anatomopatologico, parassitologico (18) e batteriologico (1) - con lo scopo di monitorare la presenza di malattie infettive e parassitarie e quindi valutare l'interferenza dei danni istologici eventualmente causati da queste con i danni causati dall'inquinamento (22).

Le lesioni istopatologiche osservate (11, 19, 26) hanno permesso una valutazione complessiva dell'organo espressa con un punteggio da 1 (assenza di lesioni) a 3; ad un punteggio maggiore corrisponde una maggiore gravità della tipologia e/o della estensione delle lesioni osservate (2, 23).

Macroinvertebrati

Sono stati eseguiti campionamenti di macroinvertebrati nei due differenti regimi idrologici di "Morbida" (autunno/primavera) e di "Magra" (inverno/estate). Il regime idrologico di "Morbida" corrisponde alla fase di maggiore disponibilità idrica e corrisponde generalmente al periodo di

Tabella I

Sintesi delle lesioni istologiche osservate nei pesci pescati nel fiume Vomano (prelievo invernale 8 marzo 2001).

Esemplare	Branchie		Rene		Fegato	
	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio
1	II V L F P M	3	R	1.5		1
2	I S L	3	V	1.5		1
3	S L P	3	V L	2.5		1
4	S	2	V L	2.5	C	1.5
5	S V	2.5	V L	2.5	C	1.5
6	V	2	V L	2.5	C	1.5
7	S	2	V L	2.5		1
8	V S	2.5	V	1.5		1
9	S L P	3	R	1.5	C	1.5
10	S V	2.5	V L	2		1
MEDIA		2.5		2		1
DEV. ST.		0.43		0.49		0.25

I ipertrofia, II iperplasia, F fusione delle lamelle secondarie, V degenerazione vacuolare, E emorragie, P picnosi, N necrosi, T telengectasia, S sollevamento dell'epitelio, L infiltrazione leucocitaria, M iperplasia cellule mucose, m aumento del numero dei macrofagi, D aumento depositi di granuli (melanina ed emosiderina), R rigenerazione, C congestione, p parassiti, b batteri, r rottura

scioglimento delle nevi e con i periodi più piovosi. Nei corsi d'acqua a regime appenninico, come l'Aterno e il Vomano, la dipendenza dalle condizioni meteorologiche è stretta. Effettuata la raccolta degli invertebrati nell'alveo mediante un retino (21 maglie/cm) si opera la separazione, effettuata in campo, degli organismi dal detrito. In laboratorio gli organismi sono identificati allo stereomicroscopio. Come previsto dalla procedura per il calcolo dell'indice, l'identificazione deve arrivare, a seconda degli organismi, alla Famiglia o al Genere, definiti Unità sistematiche o Taxon.

La presenza o meno di determinate Taxa permette di classificare la Classe di Qualità biologica del corso d'acqua. Per ciascun Taxon è fissato il numero minimo di soggetti presenti nel materiale campionato necessario per poter considerare l'organismo catturato come appartenente in modo stabile alla comunità. Al di sotto di questo valore di presenze si ritiene che l'organismo catturato sia di drift (deriva) e quindi solo occasionalmente e temporaneamente presente nel materiale campionato. In questo caso il Taxon non viene conteggiato ai fini del calcolo dell'indice (4).

Acqua

I campioni d'acqua sono stati prelevati mensilmente

per un anno (aprile 2000-marzo 2001) e sono stati analizzati i seguenti parametri: pH, ossigeno disciolto, materiali in sospensione (solidi sospesi), BOD5, fosforo totale, nitriti, composti fenolici, idrocarburi di origine petrolifera, ammoniaca non ionizzata, ammoniaca totale, cloro attivo totale, tensioattivi anionici, arsenico, cadmio, cromo, mercurio, nichel, piombo, rame e zinco, pesticidi clorurati (Aldrin, Dieldrin, Endosulfan α , Endosulfan β , Esaclorobenzene, HCH α , HCH β , Eptachlor, Eptachlor epoxide, Lindane, Methoxychlor, Mirex, o-pDDD, o-pDDE, o-pDDT, p-pDDD, p-pDDE, p-pDDT), pesticidi fosforati (Azinphos ethyl, Azinphos methyl, Diazinon, Dimethoat, Phenthion, Matathion, Mevinphos, Parathion ethyl, Parathion methyl, Phorate, Ronnel).

Per tutte le prove chimiche sono stati utilizzati i metodi I.R.S.A. - C.N.R. (13) tranne che per i metalli per i quali sono stati utilizzati i metodi UNICHIM (15) e per i pesticidi, per i quali è stato usato il metodo gascromatografico con estrazione in metanolo. Inoltre è stata effettuata la determinazione dei coliformi fecali, degli streptococchi fecali e la ricerca della salmonella con i metodi I.R.S.A. - C.N.R. (12).

Tabella II
Sintesi delle lesioni istologiche osservate nei pesci pescati nel fiume Vomano (prelievo primaverile 18 maggio 2001)

Esemplare	Branchie		Rene		Fegato	
	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio
1	TSE	3	LVp	2	L	1.5
2	IVFL	3	LV	2.5	L	1.5
3	IIVSTM	3	LVb	2.5		1
4	VS	2.5	LVp	2.5		1
5	VS	2.5	LVr	3		1
6	IIIMLp	2.5	LRp	2.5	N	2
7	SIM	3	LV	2.5		1
8	TES	3	LV	3	L	1.5
9	VS	2.5	LV	2.5	N	2
10	IIIL	2.5	LRp	3	L	1.5
MEDIA		2.7		2.6		1.4
DEV. ST.		0.26		0.31		0.39

I ipertrofia, II iperplasia, F fusione delle lamelle secondarie, V degenerazione vacuolare, E emorragie, P picnosi, N necrosi, T telengectasia, S sollevamento dell'epitelio, L infiltrazione leucocitaria, M iperplasia cellule mucose, m aumento del numero dei macrofagi, D aumento depositi di granuli (melanina ed emosiderina), R rigenerazione, C congestione, p parassiti, b batteri, r rottura

I risultati sono stati interpretati considerando, per gli esami chimici, i limiti fissati dal D.L.vo n.152/99, Allegato 2, Sezione B: Criteri generali per il rilevamento delle caratteristiche qualitative per la classificazione della conformità delle acque dolci superficiali idonee alla vita dei pesci salmonicoli e ciprinicoli (8), e, per gli esami batteriologici, non esistendo criteri specifici per i pesci, il D.P.R. n.470/82, relativo alla qualità delle acque di balneazione (6).

Risultati

Pesci

Le lesioni istologiche riscontrate sono sintetizzate nelle tabelle I-IV.

Cavedani pescati nel fiume Vomano

- branchie: quadro molto articolato in cui predominano sollevamento dell'epitelio (edema della lamella secondaria) e vacuolizzazione che, per l'estensione delle lesioni, porta ad

Tabella III
Sintesi delle lesioni istologiche osservate nei pesci pescati nel fiume Aterno (prelievo invernale 11 gennaio 2001)

Esemplare	Branchie		Rene		Fegato	
	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio
1	IT	2	m	1.5	L	1.5
2	I	1.5	m	1.5	L	2
3	I	1.5	D	2	L	1.5
4	I	1.5	m	1.5	L	2
5	ILT	1.5	D	2		1
6	I	1.5	m	1.5	L	2
7	M	1.5	DL	2	L	2
8	T	2	m	1.5		1
9	M	1.5	m	1.5	L	1.5
10	I	1.5	m	1.5		1
MEDIA		1.6		1.6		1.5
DEV. ST.		0.21		0.24		0.43

I ipertrofia, II iperplasia, F fusione delle lamelle secondarie, V degenerazione vacuolare, E emorragie, P picnosi, N necrosi, T telengectasia, S sollevamento dell'epitelio, L infiltrazione leucocitaria, M iperplasia cellule mucose, m aumento del numero dei macrofagi, D aumento depositi di granuli (melanina ed emosiderina), R rigenerazione, C congestione, p parassiti, b batteri, r rottura.

Tabella IV

Sintesi delle lesioni istologiche osservate nei pesci pescati nel fiume Aterno (prelievo primaverile 16 aprile 2001)

Esemplare	Branchie		Rene		Fegato	
	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio	Lesioni	punteggio
1	SIVP	2.5	L m	1.5	L	1.5
2	SI I L	2	L m p	1.5	L	2
3	IVSP	2.5	L m p	1.5		1
4	MI	2	RP m p	2		1
5	II V	2.5	m	1.5	L	2
6	SV	2	LR V	2		1
7	V	2.5	LR V	2.5	LP	2
8	IM V	2.5	RP	2.5	L	1.5
9	VISP	3	L m	1.5	L	2
10	SI I L	2.5	LR m	2.5	L	1.5
MEDIA		2.4		1.9		1.5
DEV. ST.		0.31		0.45		0.43

: I ipertrofia, II iperplasia, F fusione delle lamelle secondarie, V degenerazione vacuolare, E emorragie, P picnosi, N necrosi, T telengectasia, S sollevamento dell'epitelio, L infiltrazione leucocitaria, M iperplasia cellule mucose, m aumento del numero dei macrofagi, D aumento depositi di granuli (melanina ed emosiderina), R rigenerazione, C congestione, p parassiti, b batteri, r rottura

assegnare ai prelievi invernali un punteggio (2.5) indice di stress; l'indice tende a peggiorare lievemente nei mesi primaverili (punteggio 2.7), ma non è valutabile quanto questo peggioramento sia dovuto alla situazione ambientale e quanto alla concomitante presenza in questo periodo di parassiti (Dattilogiri);

- reni: nel prelievo invernale si è osservata una vacuolizzazione dell'epitelio tubulare ed una infiltrazione linfocitaria e granulocitaria (Figura 2) abbastanza consistente (punteggio 2), che tende a peggiorare nel prelievo primaverile

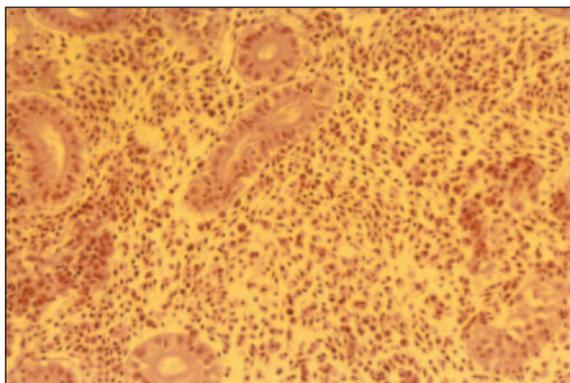


Figura 2
Rene di cavedano prelevato nel fiume Vomano (25x): vacuolizzazione dell'epitelio dei tubuli e infiltrazione linfo-granulocitaria.

(punteggio 2.6) anche per la concomitante presenza di parassiti (Sferosporidi);

- fegato: il quadro appare relativamente buono, salvo l'osservazione di cellule in necrosi; l'estensione della necrosi, osservata solo in due soggetti, è poco rilevante tanto da mantenere un punteggio di modesta gravità (punteggio 1.2 nel prelievo invernale e 1.4 nel prelievo primaverile).

Trote pescate nel fiume Aterno

- branchie: nel prelievo invernale si osservano fenomeni di ipertrofia e teleangectasia di entità contenuta (punteggio 1.6) la cui intensità tende a peggiorare in maniera consistente nel prelievo primaverile (punteggio 2.4) (Figura 3) dove si nota inoltre edema della lamella secondaria che determina sollevamento dell'epitelio;
- reni: nel prelievo invernale si osserva un quadro reattivo (aumento del numero dei macrofagi) (punteggio 1.6) che tende ad accentuarsi nel prelievo primaverile (punteggio 1.9) con infiltrazione linfocitaria e segni di rigenerazione dovuti anche alla presenza di parassiti (Sferosporidi);
- fegato: quadro di modesta gravità. L'infiltrazione

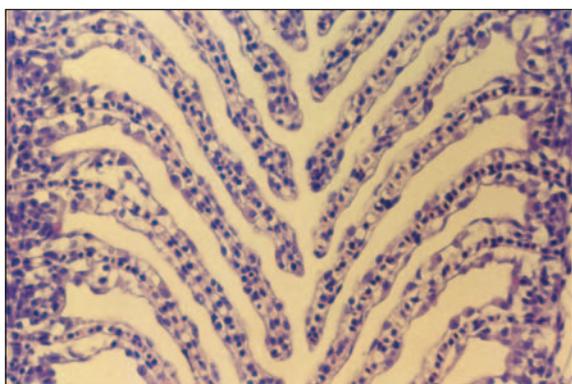


Figura 3
Branchie di trota prelevata nel fiume Aterno (25x): sollevamento dell'epitelio e vacuolizzazione

linfocitaria (Figura 4), pur presente, si manifesta in maniera non grave, con intensità sovrapponibile nei due prelievi (punteggio 1.5).

Macroinvertebrati

I macroinvertebrati campionati e i risultati derivanti dalla loro classificazione sono riportati nella tabella V. Il giudizio di qualità dei due tratti di Aterno e Vomano in magra e in morbida risulta essere rispettivamente:

- Aterno (Magra) Ambiente con moderati sintomi di inquinamento o di alterazione/ambiente inquinato o comunque alterato (Classe di Qualità: II/III);
- Aterno (Morbida) Ambiente con moderati sintomi di inquinamento o di alterazione (Classe di Qualità: II);

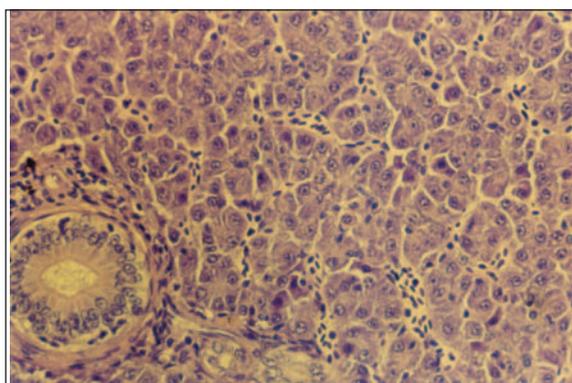


Figura 4
Fegato di trota prelevata nel fiume Aterno (25x): lieve infiltrazione linfocitaria

- Vomano (Magra) Ambiente molto inquinato o comunque molto alterato (Classe di Qualità: IV);
- Vomano (Morbida) Ambiente inquinato o comunque alterato (Classe di Qualità: III).

Acqua

I risultati degli esami eseguiti sui campioni d'acqua sono riportati nelle Tabelle VI-IX.

Le acque in alcuni campionamenti risultano non conformi ai requisiti previsti dal D.L.vo n.152/99, Allegato 2, Sezione B: Criteri generali per il rilevamento delle caratteristiche qualitative per la classificazione della conformità delle acque dolci superficiali idonee alla vita dei pesci Salmonicoli e Ciprinicoli.

La non conformità riguarda:

- per l'Aterno, la concentrazione dell'ammoniaca non ionizzata nel mese di maggio e dei solidi sospesi nel mese di aprile;
- per il Vomano la concentrazione dell'ammoniaca totale nel mese di novembre e dicembre, l'ammoniaca non ionizzata nei mesi di dicembre e marzo ed i solidi sospesi nel mese di novembre. La concentrazione dei nitriti, nel mese di settembre, presenta un valore idoneo per le acque ciprinicole, ma non per le salmonicole.

Le analisi batteriologiche mostrano una elevata concentrazione di indicatori di contaminazione fecale con presenza di Salmonelle (*S. typhimurium* nell'Aterno e nel Vomano, *S. newport* nel Vomano) e valori di coliformi fecali da 10 a 10.000 volte superiori a quelli previsti dal D.P.R. n.470/82 (6). Nel Vomano, in 6 campionamenti, è stata rilevata la presenza del Lindane, oltre ad altri pesticidi clorurati (Dieldrin ed Endosulfan) e fosforati (Ronnel e Diazinon). Nel tratto dell'Aterno è stata rilevata la presenza del Lindane in 2 campionamenti, oltre ad altri pesticidi clorurati (Esaclorobenzene e Dieldrin).

Tabella V
Risultati dell'Indice Biotico Esteso

Unità Sistematiche	Fiume Aterno		Fiume Vomano	
	Magra	Morbida	Magra	Morbida
PLECOTTERI (Genere)				
EFEMEROTTERI (Genere)				
Baetis	+	+	d	+
Caenis	d		d	d
Ecdyonurus		+		d
Rhithrogena		d		
Epeorus		+		
TRICOTTERI (Famiglia)				
Limnephilidae	+	+		+
Hydropsychidae	+	+		+
Rhyacophilidae		+		+
Sericostomatidae				+
COLEOTTERI (Famiglia)				
Haliplidae	d			d
Elmidae	d	+		+
Gyrinidae				+
ODONATI (Genere)				
Calopteryx	+	+		+
Onychogomphus				+
DITTERI (Famiglia)				
Simuliidae	+		+	d
Chironomidae	+	d	+	+
Limoniidae				+
ETEROTTERI (Famiglia)				
CROSTACEI (Famiglia)				
Asellidae	+		+	
Gammaridae	+	+	d	d
GASTEROPODI (Famiglia)				
Neritidae	+			
Bythiniidae	+	+		+
Planorbidae	+			
Lymnaeidae			+	
BIVALVI (Famiglia)				
TRICLADI (Genere)				
Dugesia	+	+		
Polycelis	+			
IRUDINEI (Genere)				
Dina	+	+		+
Glossiphonia		+	+	
Helobdella				
OLIGOCHETI (Famiglia)				
Lumbricidae	+	+	+	+
Naididae	+			
Tubificidae			+	
ALTRI GRUPPI				
TOTALE UNITA' SISTEMATICHE	16	14	7	14
VALORE I.B.E.	8 - 7	8	5	7
CLASSE DI QUALITA'	II - III	II	IV	III

+ = presenza; d = drift (deriva): non essendo raggiunto il numero minimo di presenze il taxon non viene conteggiato ai fini del calcolo dell'indice.

Discussione

Considerata l'assenza di lesioni riferibili a malattie infettive e la presenza non massiva di parassiti (Dattilogiri nelle branchie degli esemplari prelevati in primavera sul Vomano e Sferosporidi nei reni dei prelievi primaverili in entrambi i fiumi) è possibile affermare che gli aspetti infiammatori e degenerativi osservati sono causati da una situazione di stress ambientale, risultata più grave nel fiume Vomano. Questa osservazione è confermata dai risultati dell'Indice Biotico Esteso e di alcuni parametri delle analisi effettuate sui campioni d'acqua. Infatti anche lo studio delle comunità a macroinvertebrati rivela una situazione di squilibrio ambientale, lieve nel punto di prelievo sul fiume Aterno e più grave in quello sul fiume Vomano. Il quadro mostra di essere peggiore nei periodi di Magra, come frequentemente accade, probabilmente per una minore diluizione degli effluenti e una minor capacità autodepurativa del corso d'acqua.

Gli esami sulle acque mostrano una pesante presenza di germi fecali, non patogeni per i pesci ma comunque indicatori di scarichi di natura fognaria non depurati nella zona. Da notare la presenza della *Salmonella thyphimurium* in entrambi i corsi d'acqua, ad indicare un potenziale rischio sanitario per l'uomo.

Parimenti allarmanti risultano i livelli dei pesticidi, la concentrazione di Dieldrin rilevata nel fiume Vomano supera il limite di $\leq 10 \mu\text{g/l}$ imposto agli scarichi dal D.Lgs. 152/1999 e successive modificazioni (8).

Jenkis *et al.* (14) indicano per l'Endosulfan nella carpa (*Cyprinus carpio*) una soglia di tossicità sub-acuta e acuta rispettivamente di $5 \mu\text{g/l}$ e $10 \mu\text{g/l}$; in questo studio sono stati rilevati nel fiume Vomano valori superiori a questa soglia.

La soglia di tossicità del Lindano, insetticida a largo spettro il cui uso è attualmente soggetto a restrizioni (7), è di $5,44 \mu\text{g/l}$ nel *Channa punctatus* (10); quantità che oltrepassano questa soglia sono

Tabella VI

Risultati degli esami chimico-fisici effettuati sui campioni d'acqua prelevati sul fiume Vomano

	Data	21/04/00	17/05	28/06	19/07	30/08	27/09	18/10	29/11	20/12	17/01/01	21/02	21/03
Ossigeno disciolto (mg/l)		9,2	10,5	8,9	7,6	6,6	8,5	7,3	9,4	11,0	11,2	11,7	11,0
PH		7,80	8,00	8,68	8,94	8,84	8,77	8,50	7,97	8,48	7,73	8,10	8,36
Ammoniaca non ionizzata (mg/l)		<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	0,025	<0,025	<0,025	0,025
Ammoniaca totale (mg/l)		0	0	0	0	0	0	0,37	1,01	1,11	0	0	0,54
Nitriti (mg/l)		0	0	0,04	0	0	0,92	0	0,08	0	0	0	0
Fosforo totale (mg/l)		0,03	0,30	0,15	2,63	0	0,02	0,02	0	0,05	0,03	0,04	0,01
BODS (mg/l)		0,23	2,08	1,73	1,71	0,1	1,17	0,85	0,71	1,27	2,64	1,38	1,01
Solidi sospesi (mg/l)		1,33	2	0,88	0,04	14,59	3,33	3,05	94,85	1,86	8,77	10,11	1,87
Fenoli (mg/l)		0	0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tensioattivi anionici (mg/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cloro attivo totale (mg/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Idrocarburi (ispezione visiva)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arsenico (ug/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cadmio totale (ug/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,48	0	0
Cromo (ug/l)		0	0	0	2,43	0	0	0	0	0	0	0	0
Mercurio totale (ug/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nichel (ug/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piombo (ug/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rame (ug/l)		0	0	0	0	0	0	0	13,6	0	0	1,7	0
Zinco totale (ug/l)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

In neretto i valori che superano i limiti fissati dalla Direttiva 91/271/CE (esami chimico-fisici) e dalla Direttiva 76/160/CE (esami batteriologici)

Tabella VII
Risultati degli esami chimico-fisici effettuati sui campioni d'acqua prelevati sul fiume Aterno

Data	5/04/00	10/05	21/06	12/07	23/08	20/09	25/10	22/11	18/12	31/01/01	14/02	28/03
Ossigeno disciolto (mg/l)	9,6	8,8	8,8	6,8	6,3	11,8	11,5	9,3	10,0	6,5	11,3	9,7
PH	8,10	8,40	7,40	8,10	8,67	8,53	8,56	7,91	7,71	8,10	8,13	8,00
Ammoniaca non ionizzata (mg/l)	<0,025	0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025	<0,025
Ammoniaca totale (mg/l)	0	0,53	0	0	0	0	0	0,57	0,59	0	0	0
Nitriti (mg/l)	0,47	0	0	0,85	0,53	0,83	0,19	0,15	0	0	0	0
Fosforo totale (mg/l)	2,5	2,77	0,01	1,97	3,58	0,06	0,17	0,11	0,1	0,11	0	0,15
BODS (mg/l)	2,5	2,08	1,52	2,52	2,33	2,73	1,59	1,72	2,23	2,44	3,04	3,95
Solidi sospesi (mg/l)	96,98	2	1,43	2,13	8,73	0,29	0,31	4,25	5,6	1,38	4,77	10,25
Fenoli (mg/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	10,11	0	0
Tensioattivi anionici (mg/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cloro attivo totale (mg/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Idrocarburi (ispezione visiva)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arsenico (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cadmio totale (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cromo (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mercurio totale (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nichel (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	18,7	0	0	3,01
Piombo (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rame (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	2,2	0	2,71	2,86
Zinco totale (ug/l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

In neretto i valori che superano i limiti fissati dalla Direttiva 91/271/CE (esami chimico-fisici) e dalla Direttiva 76/160/CE (esami batteriologici)

stati rilevati sia nel fiume Vomano che nel fiume Aterno. Per questo pesticida la LC50 a 7 giorni e la IC50 a 7 giorni (inibizione della crescita e della riproduzione), valutata nel Ciprinide *Pimephales promelas*, è risultata essere rispettivamente di 112 µg/l e di 58,5 µg/l (5). Il Lindano inoltre causa

anomalie morfologiche del tratto genitale esterno, riduzione della fertilità e alterazioni del comportamento in pesci, uccelli e mammiferi selvatici (27, 28). Questo studio multidisciplinare conferma pertanto l'utilità di indicatori biologici, in grado di individuare le impronte lasciate dalle

Tabella VIII
Esami batteriologici e dosaggi pesticidi effettuati sui campioni d'acqua del fiume Vomano

Data	Coliformi fecali	Streptococchi fecali	Salmonelle	Pesticidi clorurati	Pesticidi fosforati
12/04/2000	700 u.f.c./100 ml	100 u.f.c./100 ml	<i>S. newport</i>	N.R.	N.R.
17/05/2000	1700 u.f.c./100 ml	490 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
28/06/2000	1900 u.f.c./100 ml	1200 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Lindane 13 µg/l	N.R.
19/07/2000	450 u.f.c./100 ml	290 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Dieldrin 13 µg/l Lindane 13 µg/l	N.R.
30/08/2000	1300 u.f.c./100 ml	1100 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
27/09/2000	500 u.f.c./100 ml	400 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Lindane 9 µg/l	N.R.
18/10/2000	2200 u.f.c./100 ml	900 u.f.c./100 ml	<i>S. typhimurium</i>	Endosulfan 11 µg/l Lindane 8 µg/l	Ronnel 22 µg/l
29/11/2000	210 u.f.c./100 ml	3600 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Lindane 9 µg/l	N.R.
20/12/2000	3200 u.f.c./100 ml	3600 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
17/01/2001	2800 u.f.c./100 ml	2800 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
21/02/2000	1200 u.f.c./100 ml	2000 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Lindane 9 µg/l	N.R.
21/03/2000	3100 u.f.c./100 ml	2700 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	Diazinon 8 µg/l

In neretto i valori microbiologici che superano i limiti fissati dalla Direttiva 76/160/CE

Tabella IX
Esami batteriologici e determinazione dei pesticidi effettuati sui campioni d'acqua del fiume Aterno

Data	Coliformi fecali	Streptococchi fecali	Salmonelle	Pesticidi clorurati	Pesticidi fosforati
05/04/2000	9500 u.f.c./100 ml	400 u.f.c./100 ml	<i>S. typhimurium</i>	N.R.	N.R.
10/05/2000	Non effettuato	7000 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
26/06/2000	5500 u.f.c./100 ml	30000 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
12/07/2000	300 u.f.c./100 ml	1400 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
23/08/2000	14200 u.f.c./100 ml	2900 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
27/09/2000	3600 u.f.c./100 ml	3100 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
25/10/2000	3800 u.f.c./100 ml	1200 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Esaclorobanzene 4 µg/l Dieldrin 9 µg/l	N.R.
22/11/2000	9700 u.f.c./100 ml	1500 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
19/12/2000	2300 u.f.c./100 ml	1900 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Lindane 14 µg/l	N.R.
31/01/2001	9700 u.f.c./100 ml	4200 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
21/02/2000	191000 u.f.c./100 ml	6700 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	N.R.	N.R.
28/03/2000	19400 u.f.c./100 ml	2800 u.f.c./100 ml	Assenti/100 ml	Lindane 5 µg/l	N.R.

In neretto i valori degli esami batteriologici che superano i limiti fissati dalla Direttiva 76/160/CE

molecole tossiche (17). Il loro utilizzo permette di monitorare l'ambiente acquatico in maniera efficace e di operare scelte correttive in termini di gestione ambientale.

Ringraziamenti

Si ringrazia Julia Schwaiger del Department of Ecology- Bavarian State Agency for Water Resources – Wielenbach (Germany) per i preziosi consigli. Si ringraziano inoltre Claudio Belfiore, Flora Leone, Giuseppe Gatti, Silvana Salvatore e Gianni Zitti dell'IZSA&M «G. Caporale» per il contributo tecnico. Si ringrazia, per la collaborazione nel campionamento dei pesci, l'associazione FIPS sezione di Pescara (fiume Aterno) ed Enalpesca sezione di Teramo (fiume Vomano). Questo studio è stato eseguito con il finanziamento ex Legge Regione Abruzzo n°59/1982.

Bibliografia

1. Austin B. & Austin D.A. 2001. Bacterial fish pathogens. Ellis Horwood Ltd., Chichester.
2. Bernet D., Schmidt H., Meier W., Burkhardt-Holm P. & Wahli T. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *JFish Dis*, 22 25-34.
3. Bucke D. 1989. Histology *In* Methods for the microbiological examination of fish and shellfish (ed. B.Austin & D.A. Austin) 69-97 Ellis Horwood Ltd., Chichester
4. Campaioli S., Ghetti P.F., Minelli A. & Ruffo S. 1994. Manuale per il Riconoscimento dei Macroinvertebrati delle Acque Dolci Italiane Volume I e II. Ed. Provincia Autonoma di Trento.
5. Constable M. & Orr P. 1994. Lethal and sub-lethal toxicity of lindane to *Pimephales promelas* and *Ceriodaphnia dubia*. *Bull Environ Contam Toxicol*, 52 (2), 298-304 .
6. Decreto del Presidente della Repubblica n.470/1982 Attuazione della direttiva 76/160/CEE relativa alla qualità delle acque di balneazione.
7. Decreto Legislativo n.194/1995. "Attuazione della direttiva 91/414/CEE in materia di immissione in commercio di prodotti fitosanitari.
8. Decreto Legislativo n.152/1999 Disposizioni di tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque reflue urbane e della direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole.

9. Ghetti P.F. 1997. Manuale di Applicazione Indice Biotico Esteso (I.B.E.) – I Macroinvertebrati nel Controllo della Qualità degli Ambienti di Acque Correnti – Provincia Autonoma di Trento, Agenzia provinciale per la protezione dell'ambiente.
10. Gopal K., Ram M. D., Anand M. & Ray P. K. 1989. Toxicity and fate of lindane in fresh water fish *Channa punctatus*. *Environ Ecol*, **7**(3) 571-576.
11. Horsch C.M. 1999. Fish histology and histopathology. U.S. Fish & Wildlife service - National Conservation Training Center - CD rom.
12. Istituto per la Ricerca sulle Acque-Centro Nazionale Ricerche 1994. Quaderni I.R.S.A. - C.N.R. n. 59: 510.1, 520.1, 530.1, 540.1 (Tecnica con membrane filtranti).
13. Istituto per la Ricerca sulle Acque-Centro Nazionale Ricerche 1994. Metodi analitici per le acque Pubblicazione n. 2: 4100, 2050, 5100, 4090, 4030, 4010, 5150.
14. Jenkins F, Smith J., Rajanna B., Shameem U., Umadevi K., Sandhya V. & Madhavi R. 2003. Effect of sublethal concentrations of endosulfan on hematological and serum biochemical parameters in the carp, *Cyprinus carpio*. *Bull Environ Contam Toxicol*, **70**: 5, 993-997
15. Metodi Unichim 920, 910, 912, 922, 916, 917, 905 (1994).
16. Munday B.L. & Jaisankar C. 1998. Post-mortem changes in the gills of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in freshwater and in seawater. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*, **18** (4), 127-131.
17. Muñoz M.J., Castaño A., Ortiz J.A, Carbonell G., Blasquez T., Vega M. & Tarazona J.V. 1994. A holistic concept for toxicological diagnosis of sublethal processes in aquatic environments. *In Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater fish*. FAO Fishing News Book.
18. Noga E.J. 1996. Fish Disease Diagnosis and Treatment. Mosby-Year Book Inc.
19. Nowak B. & Bryan J. 1998. Introduction to fish gill histopathology. Aqua Education Launceston, Australia – Cdrom.
20. Overstreet R.M. 1988. Aquatic pollution problems, Southeastern U.S. coasts: histopathological indicators. *Aquat Toxicol*, **11** 213-239.
21. Schmidt H., Bernet D., Wahli T., Meier W. & Burkhardt-Holm P. 1999. Active biomonitoring with brown trout and rainbow trout in diluted sewage plant effluents. *J Fish Biol*, **54** 585-596.
22. Schwaiger J. 2001. Histopathological alterations and parasites infection in fish: indicators of multiple stress factors. *J Aquat Ecos Recov*, **12** 1-10.
23. Schwaiger J., Wanke R., Adam S., Pawert M., Honnen W. & Tribiskon R. 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J Aquat Ecos Recov*, **6** 75-86.
24. Swee J.T., Adams S.M. & Hinton D.E. 1997. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquat Toxicol*, **37** 51-70.
25. Wester P.W. & Canton J.H. 1991. The usefulness of histopathology in aquatic toxicity studies. *Comp Biochem Physiol*, **100** (1-2) 115-117.
26. Takashima F. & Hibiya T. 1995. An atlas of fish histology, normal and pathological features. Gustav Fisher Verlag Stuttgart.
27. Tyler C.R., Jobling S., Sumpter J.P. 1998. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Crit Rev Toxicol*, **28** 319-361.
28. Vos J.G., Dybing E., Greim H.A., Ladefoged O., Lambre C., Tarazona J.V., Brandt I. & Vethaak A.D. 2000. Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the european situation. *Crit Rev Toxicol*, **30** 71-133.