

biologia ambientale

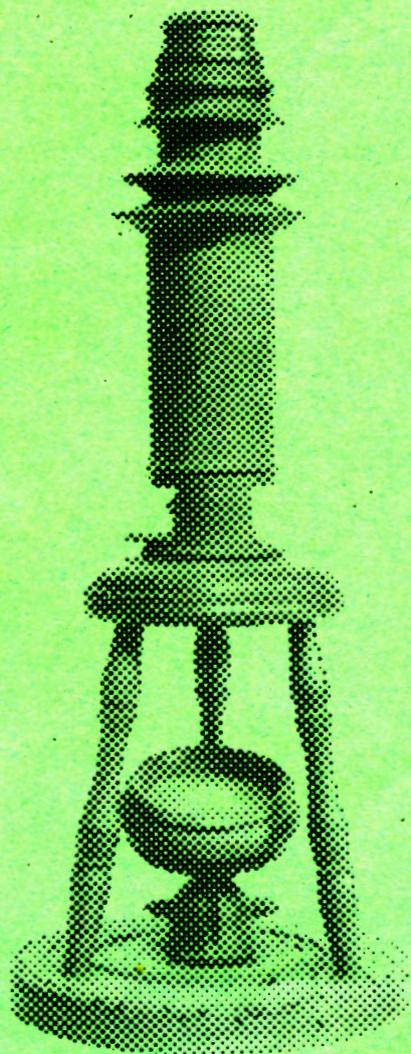
1

gennaio
1989

BOLLETTINO **C.I.S.B.A.** anno III n. 8

INSERTO SPECIALE:
C.I.S.B.A.

SOMMARIO



AI LETTORI	3
EDITORIALE	4
METODI	6
Toxicity of leachates <i>by J.L. Epler, F.W. Larimer et AL</i>	
ATTUALITA'	22
Programma di rilevamento dei fenomeni eutrofici delle acque di mare <i>di G. Damiani</i>	
IGIENE URBANA	25
Controllo guidato di topi e ratti nelle aree urbane e suburbane <i>di P. Malfatti</i>	
ABSTRACTS	29
Monografia sull' ingegneria fluviale	
SEGNALAZIONI	39
NOTIZIE	43
PAGINE APERTE	44
APPUNTAMENTI	46



biologia ambientale

Bollettino C.I.S.B.A. n. 1/1989

direttore responsabile
Paolo Carta

REDAZIONE

Rossella Azzoni responsabile di redazione
Giuseppe Sansoni responsabile grafico
Roberto Spaggiari responsabile di segreteria

Hanno collaborato a questo numero:

Rossella Azzoni
Giovanni Damiani
Paolo Malfatti
Giuseppe Sansoni
Roberto Spaggiari

Numero chiuso in redazione il 29/3/1989

Il **C.I.S.B.A.** - Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale - si propone di:

- divenire un punto di riferimento nazionale per la formazione e l'informazione sui temi di biologia ambientale, fornendo agli operatori pubblici uno strumento di documentazione, di aggiornamento e di collegamento con interlocutori qualificati
- favorire il collegamento fra il mondo della ricerca e quello applicativo, promuovendo i rapporti tecnico-scientifici con i Ministeri, il CNR, l'Università ed altri organismi pubblici e privati interessati allo studio ed alla gestione dell'ambiente
- orientare le linee di ricerca degli Istituti Scientifici del Paese e la didattica universitaria, facendo della biologia ambientale un tema di interesse nazionale
- favorire il recepimento dei principi e dei metodi della sorveglianza ecologica nelle normative regionali e nazionale concernenti la tutela ambientale.

Per iscriversi al **C.I.S.B.A.** o per informazioni scrivere al *Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale, cas. post. Succursale 1, 42100 Reggio Emilia* o telefonare al Segretario: **Roberto Spaggiari: 0522-42941.**

Quote annuali di iscrizione al Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale: socio ordinario: £ 50.000; socio collaboratore £ 30.000; socio sostenitore £ 200.000.

I soci ricevono il bollettino *Biologia Ambientale* e vengono tempestivamente informati sui corsi di formazione e sulle altre iniziative del **C.I.S.B.A.**

Gli articoli originali e altri contributi vanno inviati alla Redazione:
Rossella Azzoni Gastaldi, via Cola di Rienzo, 26 - 20144 Milano.

I dattiloscritti, compreso il materiale illustrativo, saranno sottoposti a referee per l'approvazione e non verranno restituiti, salvo specifica richiesta dell'Autore all'atto dell'invio del materiale.

Le opinioni espresse dagli autori negli articoli firmati non rispecchiano necessariamente le posizioni del **C.I.S.B.A.**

AI LETTORI



Fin dalla sua nascita, tre anni fa, il CISBA ha ravvisato la necessità di dotarsi di uno strumento che fungesse da collegamento fra il Consiglio di Amministrazione ed i Soci e che fosse, nel contempo, una tribuna aperta ove i biologi ambientalisti potessero esprimere le loro opinioni, sollecitare il dibattito su temi di lavoro e mantenere vivo quel rapporto di "scientifica amicizia" che irrimediabilmente nasce fra i partecipanti alle nostre iniziative.

L'intensità di lettura del nostro pur travagliato Notiziario ci spinge oggi a tentare di renderlo più rispondente alle esigenze di quanti ci seguono.

Ci piace pensare che il nuovo titolo sia un impegno per raggiungere gli obiettivi CISBA e che la rinnovata veste grafica ed i nuovi temi affrontati, assieme ad una maggiore frequenza di pubblicazione, siano il segno corrispondente alla maturata esperienza ed alla crescita del Centro Studi.

Confidiamo di dare altri segni di miglioramento nella fase della progettazione e della distribuzione di quello che riteniamo uno dei più preziosi strumenti di coesione fra i Soci, ai quali va un rinnovato invito alla collaborazione.

La Redazione



EDITORIALE



L sensibile deterioramento della qualità degli ambienti fluviali è stato storicamente attribuito alla concentrazione degli scarichi civili conseguente ai vistosi processi di urbanizzazione ed al forte incremento degli scarichi industriali.

Scarsa attenzione è stata invece prestata alle alterazioni degli ambienti fluviali derivanti da molte opere di ingegneria fluviale: eppure l'alterazione morfologica, la riduzione della varietà dei microambienti e la modifica del regime idrologico da esse determinate esplicano un impatto negativo sulla qualità biologica ed ambientale dei corsi d'acqua spesso superiore a quello derivante da scarichi inquinanti.

Adottando una concezione allargata del concetto di inquinamento - che comprenda tutti i processi che conducono ad un deterioramento della qualità ambientale - anche le dighe, le briglie, le arginature, le derivazioni, le canalizzazioni, perdono il loro status di opere utili

- per lo sfruttamento delle acque o per la difesa da esse - e cadono al rango di opere permanentemente inquinanti, pur non rilasciando alcuno scarico.

Biologi, geomorfologi ed ingegneri, per vie proprie ma convergenti, sono giunti alla conclusione che buona parte delle opere fluviali risulta complessivamente controproducente per un insieme di ripercussioni di ordine idraulico, geomorfologico, biologico, paesaggistico ed economico.

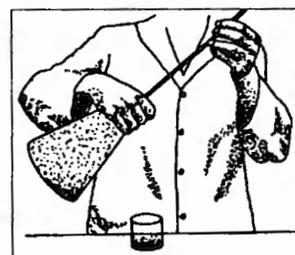
Sorgono quindi le scuole della river renovation, della river restoration e del "progettare con la natura": le prime si pongono l'obiettivo della rinaturalizzazione dei corsi d'acqua mentre l'ultima è ispirata dal principio che le forze e le tendenze evolutive dei corsi d'acqua vanno studiate, comprese, assecondate e utilizzate per progettare gli insediamenti umani in armonia con esse. Ciò fornisce la miglior garanzia di sicurezza idraulica e di un elevato livello di qualità ambientale.

A risultati convergenti giungono le discipline dell'architettura del paesaggio e della pianificazione territoriale. Le motivazioni addotte per giustificare la sottrazione di spazio agli ambienti fluviali sono infatti - nella società moderna - venute meno, mentre diviene sempre più pressante la domanda di riqualificazione ambientale e di spazi ricreativi naturali.

Sussistono quindi, oggi, le condizioni culturali e materiali per dare concreta espressione alle potenzialità dirompenti dell'applicazione delle nuove acquisizioni e per avviare un processo generalizzato di restauro ambientale e di miglioramento della qualità complessiva dei corsi d'acqua italiani.

Come primo contributo a tale processo viene proposta in questo numero una rassegna monografica di Abstracts, tratti dalla letteratura internazionale, che toccano vari aspetti della problematica. Nella rubrica Segnalazioni vengono proposti un volume sulla rinaturalizzazione dei corsi d'acqua olandesi e tre volumi che riguardano più da vicino la realtà italiana, mentre la rubrica Notizie riporta la proposta di costituzione di un gruppo di lavoro internazionale sulla conservazione e gestione dei corsi d'acqua di pianura. La rubrica Pagine Aperte, infine, riporta una positiva esperienza di difesa di un intero bacino fluviale italiano (f. Magra, 1650 km²).

METODI



E.P.A. - 600/2-80-057

March 1980

TOXICITY OF LEACHATES

by J.L. Epler, F.W. Larimer et al.
OAK RIDGE NATIONAL LABORATORY

a cura di Rossella Azzoni

Sebbene la recente normativa nazionale relativa allo smaltimento dei rifiuti abbia sancito che la tossicità e la nocività siano valutabili mediante un criterio di presenza/assenza di una serie ampia -ma pur sempre finita- di molecole, riteniamo sia necessario stimolare l'interesse dei gestori dei problemi ambientali sulle potenzialità discriminative di test tossicologici opportunamente congegnati. Un tossico è, per definizione, una sostanza nociva agli esseri viventi ed è fonte di continua sorpresa dover constatare come questo aspetto venga tanto trascurato dal legislatore. Riteniamo utile, quindi, proporre il volume "Toxicity of leachates" pubblicato dall'Environmental Protection Agency nel 1980.

Il volume rappresenta il risultato di una ricerca multidisciplinare tesa a produrre il protocollo di base per la valutazione della tossicità degli estratti da rifiuti solidi di varia tipologia industriale. Nel 1976, infatti, attraverso il Resource Conservation and Recovery Act, l'E.P.A. ha ricevuto l'incarico di proporre procedure di gestione dei rifiuti pericolosi, sviluppando metodologie per caratterizzare ed identificare quei rifiuti che possono rappresentare un potenziale pericolo per la salute umana e per l'ambiente. Il volume, oltre al commento critico delle pro-

cedure proposte e dei risultati, presenta le metodologie sperimentali consigliate.

La Redazione ritiene di rendere un servizio utile ai propri lettori proponendo i testi integrali dei metodi biologici ed un breve riassunto della discussione generale. Chi fosse interessato ad ottenere copia fotografica del testo di capitoli non stampati dovrà rivolgersi alla Segreteria del C.I.S.B.A., specificando al meglio la richiesta in base all'indice del volume.

Con l'obiettivo di produrre un protocollo operativo per giudicare la pericolosità di un rifiuto, e quindi le modalità di smaltimento più idonee, è stato concordato un piano di ricerca da sviluppare seguendo quattro direttrici:

- 1- sperimentare le tecnologie più idonee per la procedura di estrazione;
- 2- individuare i parametri chimici e le metodologie più idonee per caratterizzare gli estratti;
- 3- sperimentare la procedura di estrazione (EP)

su svariati rifiuti industriali per verificare l'applicabilità del metodo;

- 4- individuare i saggi di laboratorio più idonei per caratterizzare la mutagenicità, la fitotossicità e la tossicità acquatica degli estratti.

Sono stati utilizzati 17 fanghi rappresentativi di varie tipologie di rifiuti industriali (industria alimentare, tessile, galvanica; impianti per la produzione di energia elettrica o di gasificazione, ecc.); essi sono stati giudicati esclusivamente sulla base delle loro caratteristiche individuali rilevate durante il corso delle analisi.

Poiché lo stato fisico dei campioni può variare fortemente -si passa dal polveroso al melmoso- non è stato possibile applicare un'unica procedura di sub-campionamento. Durante l'estrazione sono stati registrati il pH iniziale e finale, il volume di acido acetico 0.5 N necessario per portare inizialmente la soluzione a pH 5 e il volume aggiunto nelle 24 ore, e la conducibilità dell'estratto finale; la riproducibilità dell'estrazione è risultata, però, molto bassa. In base agli standard delle acque potabili ed agli elenchi dei principali inquinanti sono stati selezionati i costituenti potenzialmente tossici o mutageni per i quali effettuare la ricerca analitica: nell'elenco sono compresi alcuni elementi chimici, sostanze organiche volatili, organoalogenati e idrocarburi policiclici aromatici.

Per quanto concerne le prove tossicologiche, si è proceduto ad uno screening, con un test a breve termine, seguito da un saggio a lungo termine condotto con diluizioni simulanti condizioni ambientali reali.

La potenziale pericolosità degli estratti nei confronti dell'ecosistema acquatico viene valutata con *Daphnia magna*. Per i test a breve termine è stato stabilito un periodo di esposizione di 48 ore; per i test a lungo termine (28 giorni) è stato scelto di valutare l'esposizione continua alle diluizioni 1:100 e 1:1000 altera la capacità riproduttiva di *D. magna*; la diluizione 1:1000 è stata ritenuta ragionevolmente protettiva per gli organismi acquatici esposti ai percolati delle scariche di rifiuti. Per l'analisi statistica dei risultati è stata utilizzata l'analisi della varianza combinata con il Multiple Range Test di Duncan. Tutti gli estratti saggiati sono risultati più o meno tossici a breve termine; in due casi la LC_{50} -48h era pari allo 0.0005%, quindi duecento volte inferiore alla diluizione massima utilizzata nel test cronico. In linea di massima, non si sono registrati effetti a seguito dell'

esposizione a lungo termine. Il saggio su *Daphnia* si è dimostrato un test sensibile e riproducibile: l'unico problema incontrato è quello relativo all'effetto stimolante la riproduzione determinato da basse concentrazioni di acetato negli estratti.

Anche nel caso dei saggi per la determinazione degli effetti degli estratti sulle piante terrestri è stata seguita la duplice ipotesi di effetti a breve e a lungo termine, nella seconda delle quali i semi del gruppo "trattamento" sono stati posti a contatto con un estratto al 10% per simulare la diluizione che si presume avvenga durante il drenaggio delle discariche verso le acque di falda. Per tener conto delle differenze di sensibilità delle specie vegetali alle sostanze chimiche sono stati utilizzati semi di monocotiledoni e di dicotiledoni di grande importanza agronomica.

Il test di allungamento della radice è risultato un saggio affidabile; bisogna però porre attenzione alle interferenze determinate dall'acido acetico usato nella preparazione dell'estratto. Per i saggi a lungo termine è stata scelta la sabbia come supporto solido: ciò permette di evitare le interferenze sulla fitotossicità esercitate dai vari tipi di suolo; la ricerca si sta però orientando verso la coltura idroponica.

Nel protocollo di individuazione di un potenziale pericolo ambientale non possono mancare saggi per la determinazione di proprietà oncogene, mutagene e teratogene delle miscele complesse presenti nell'estratto dei fanghi. Nel protocollo E.P.A. sono perciò previsti saggi indicatori di mutagenicità e cancerogenicità; la batteria di saggi deve sempre essere eseguita al completo per ovviare le differenze "sistemiche" di reattività delle sostanze. Essa permette di rilevare agenti diretti e indiretti sia di mutazioni puntiformi che di danni generici al DNA.

Lo sviluppo di un protocollo di screening per sostanze potenzialmente pericolose è reso complicato dal fatto che dovrebbero essere utilizzate un gran numero di specie, data la diversa sensibilità di ciascuna di esse. Nonostante ciò, perfino con protocolli che utilizzano un numero limitato di specie e di condizioni, come in quello presentato, le molecole pericolose possono essere individuate e sottoposte ad ulteriori controlli. E' ragionevole, infatti, supporre che le sostanze che forniscono risultati significativamente diversi dai controlli in almeno un test di tossicità siano potenzialmente pericolose: il loro destino ambientale merita, quindi, di essere seguito più attentamente.

E.P.A. - 600/2-80-057

March 1980

TOXICITY OF LEACHATES
by J.L. Epler, F.W. Larimer et al.
OAK RIDGE NATIONAL LABORATORY

CONTENTS

Foreword	III
Abstract	IV
List of Abbreviations	VI
Acknowledgment	VII
1. Introduction	1
2. Summary and Conclusions	2
3. Recommendations	5
4. Samples and Extraction	6
5. Chemistry	23
6. Aquatic Toxicity	44
7. Phytotoxicity	58
8. Mutagenicity	79
References	92
<u>Appendices</u>	94
A. Extraction Procedure	94
B. Extractor	96
C. Experimental Protocols for Chemistry	108
D. Materials and Methods for the Aquatic Toxicity Screening Tests	112
E. Radicle Length Assay	114
F. Seedling Growth Assay	117
G. <i>Salmonella</i> Mutagenicity Assay	118
H. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Gene Mutation Assay	127
I. Bacterial DNA Repair Assay	131

APPENDIX A

EXTRACTION PROCEDURE (EP)**(A) EQUIPMENT**

(I) An agitator which, while preventing stratification of sample and extraction fluid, also insures that all sample surfaces are continuously brought into contact with well-mixed extraction fluid.

(II) Equipment suitable for maintaining the pH of the extraction medium at a selected value.

(B) PROCEDURE

(I) Take a representative sample (minimum size 100 g) of the waste to be tested. Separate sample into liquid and solid phases. The solid phase is defined as that fraction which does not pass through a 0.45- μ m filter medium under the influence of either pressure, vacuum, or centrifugal force. Reserve the liquid fraction under refrigeration (1-5°C) for further use.

(II) The solid portion of the sample, resulting from the separation procedure above or the waste itself (if it is already dry), shall be prepared either by grinding to pass through a 9.5-mm (3/8 in.) standard sieve or by subjecting it to the structural integrity procedure.

(III) Add the solid material from paragraph II to 16 times its weight of deionized water. This water should include any water used during transfer operations. Begin agitation and extract the solid for 24 \pm 0.5 h. Adjust the solution to pH 5 and maintain that pH during the course of the extraction using 0.5 N acetic acid. If more than 4 ml of acid for each g of solid would be required to maintain the pH at 5, then once 4 ml per g of solid has been added, complete the 24-h extraction without adding any additional acid. Maintain the sample between 20-40°C during extraction.

(IV) At the end of 24-h extraction period, separate the sample into solid and liquid phases as in paragraph I. Adjust the liquid phase with deionized water so that its volume is 20 times that occupied by a quantity of water at 4°C equal in weight to the initial sample of solid (e.g., for an initial sample of 1 g, dilute to 20 ml). Combine this liquid with the original liquid phase of the waste. This combined liquid, including precipitate which later forms from it, is the Extraction Procedure extract.

APPENDIX D

**MATERIALS AND METHODS FOR
THE AQUATIC TOXICITY SCREENING TESTS**

The tests, in order of occurrence, were: (1) A preliminary 48-h acute toxicity determination; a few test concentrations over a wide range. (2) A definitive 48-h acute toxicity test; test concentrations over a narrower range than in (1). (3) A 28-day life-cycle,

chronic toxicity test; two dilutions (1:100 and 1:1000) of the extract. (4) A final 48-h LC₅₀ determination (this determined if the toxicity of the extract had changed during the 28-day life-cycle test).

ACUTE TOXICITY TESTS

Laboratory-cultured, first-instar *Daphnia magna*, less than 24 h old, were the test animals. Five organisms were exposed to 80 ml of extract solution in covered 100-ml glass beakers. Temperature was maintained at $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ in an environmental chamber with alternate light/dark periods of 12 h each. The dilution water used was well water with a pH of 7.8, an alkalinity of 119 mg/l, and a hardness of 140 mg/l. The extracts were neutralized to pH 7.0 with NaOH. The pH of the extract dilutions was measured at the beginning and conclusion of each test.

Serial geometric dilutions with well water were made for each extract. The concentration of each extract solution was 60% of the preceding one. The range of dilutions was select to bracket 48-h LC_{50} values obtained from preliminary toxicity tests. Controls consisted of animals exposed to: (1) well water without extract, or (2) neutralized hydrochloric or acetic acid equal to highest concentration of acid used in the acute toxicity test. All tests were done in triplicate. The range of dilutions was select to bracket 48-h LC_{50} values predicted from preliminary toxicity determinations. Additional control beakers were included containing a concentration of neutralized acetic acid equal to the highest concentration used in the acute toxicity tests. Control beakers of

dilution water without added extract were also included. Values for 48-h LC_{50} and 95% fiducial intervals were obtained by computerized PROBIT analytical procedures.

CHRONIC TOXICITY TESTS

The test animals were first-instar *D. magna* less than 24 h old. They were exposed individually to 50 ml of either 1:100 or 1:1000 dilution of the extract in covered 100-ml beakers. Temperature and lighting conditions were the same as for the acute test. In each test, 40 animals were used as follow: 10 were exposed to each test dilution, 10 to well water only, and 10 to neutralized acetic or hydrochloric acid at the same concentration as used in the 1:100 dilution (acid was used in the EP, therefore an appropriate control was necessary). The animals were transferred to freshly prepared test solutions three times a week, and at those times they were fed 2 mg of prepared trout chow. At the time of transfer, the number of young and number of broods present in each beaker were counted. The pH of the test solutions was measured at the beginning and end of each test. The tests lasted 28 days, or less if all animals had died before that time.

APPENDIX E

RADICLE LENGTH ASSAY

Two level of tests were completed on 17 solid waste extracts by use of the EP. Of these, 11 were from coal processing plants and 6 were from various types of industrial plants. One test was run on arsenic-contaminated groundwater taken from a well near a disposal site. Level one studies consisted of a root elongation bioassay of radish (*Raphanus sativus* L. c.v. Early Scarlet Globe) and sorghum (*Sorghum vulgare* var. saccharatum c.v. Sugar Drip) seeds. In previous tests, seeds were germinated in petri dishes and root (radicle) lengths of treatment and controls were compared. However, the time required to

measure root lengths was so great due to their coiled growth pattern that it was not practical to use enough seeds for good statistical comparisons. Therefore, we developed special vertical germination chambers which took advantage of the geotropic growth response of plants, resulting in straight hypocotyl growth and a tenfold reduction in measurement time.

One approach to reduce variability was to sieve seeds to separate them into size categories. U.S.A. standard testing sieves numbers 8, 10 and 12 openings (in mm) of 2.36, 2.00, and 1.70, respectively, were

used for separation. Within a test only one seed size was used for controls and test dilutions. Although 200 seeds were used for each treatment, only 150 seeds were actually measured. The excess allowed for exclusion of nongerminating seeds and for radicles which were less than 5 mm long.

The germination chambers were constructed of 3-mm-thick Plexiglas (Figure E-1) with inside dimensions of 10 cm high x 1.5 cm wide x 71 cm long. The size of the chambers was determined by the size of the incubator in which they were to be used. Chambers were mounted on a Plexiglas base support. Two pieces of 3-mm-thick Plexiglas were cut to an appropriate size to fit inside a chamber but extended above the chamber sides about 3 cm for convenience in handling. One hundred depressions (drilled with an electric drill and bit) spaced at 2-cm intervals in staggered rows 2 cm apart across one of the Plexiglas sheets served as seed counters, seed spacers, and to help hold the seeds in place. Seeds were placed on the Plexiglas sheet and brushed into the depression. A piece of blotter paper was saturated with the solution to be tested and pressed firmly against the seeds until impressions were seen. Additional test solution, up to a total of 100 ml for 48-h tests and 125 ml for 72-h tests, was added to the germination chambers. We recommend that initially the blotter paper be saturated with the extract in a flat tray rather than standing on edge in the chambers, since standing on edge could result in differential movement of chemicals up the paper causing chromatographic separation and variable doses to seeds at different positions. The second Plexiglas sheet was positioned so that the seeds and blotter paper were sandwiched in between the two sheets of Plexiglas, which were then taped securely on the sides and top and placed vertically into the chamber. A Plexiglas lid was placed on top to reduce evaporation.

The entire apparatus was then placed in an unlighted incubator set at 25°C. A small fan was installed in the growth chamber to exhaust volatiles after some tests had already been made. The fan affected the chamber temperature, thus thermostat adjustments were necessary. During this period of adjustment, tests continued, to avoid delay. Since controls are run with each test, we were not concerned about effects of these temperature differences between tests. We used two chambers (200 seeds) for each test solution or for each concentration of a

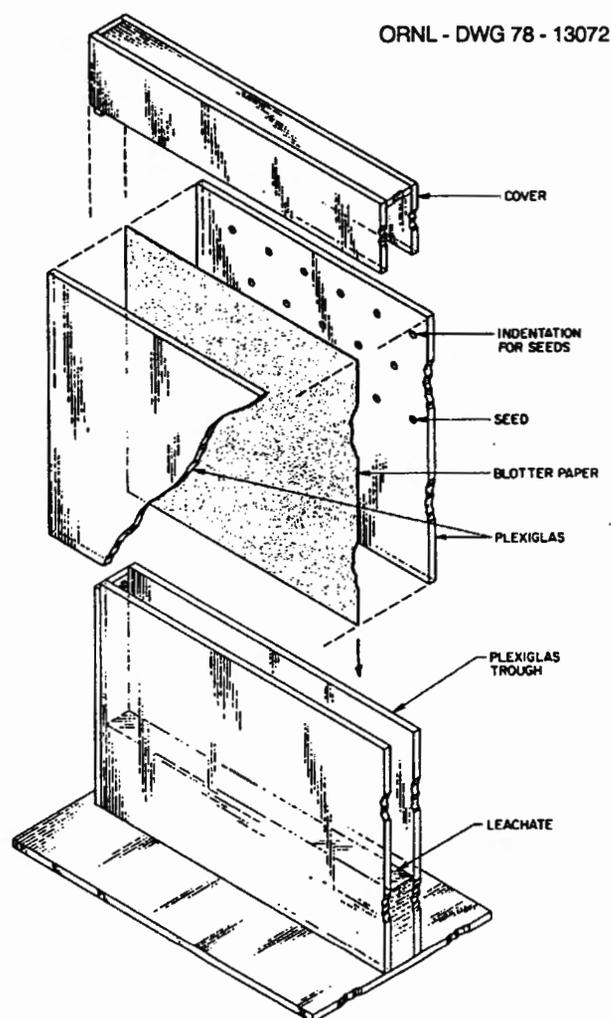


Figure E-1. Germination chamber.

particular solution and two chambers containing distilled water as controls. After a predetermined time period (48 h for radish, 72 h for sorghum) the chambers were removed from the incubator and the root lengths were measured with calipers.

For cleaning, the chambers were filled with an appropriate cleaning solution (0.1 N HCl) and allowed to stand until their next use, when they were rinsed with distilled water. The rest of apparatus was washed with two pipette washers, one containing 1 N HCl and one connected to a distilled water supply for rinsing.

Acetic acid was used in the EP to maintain the pH of the extract at approximately pH 5.0. Since acetic acid is toxic to plants, the highest concentration of extract used in the root elongation test was the

concentration having less than 5.5 ml/l of 0.5 N acetic acid. In preliminary tests this and higher concentrations of the organic acid were toxic to radish, sorghum, wheat, and soybean seeds (Table 23).

The material referred to as arsenic-contaminated groundwater sample was not carried through the EP,

but was diluted directly from the original solution for the root elongation tests. Since this particular waste was extremely toxic (based on an initial test with radish seeds) and safety problems were not yet resolved, further study (greenhouse testing) was not undertaken.

APPENDIX F

SEEDLING GROWTH ASSAY

The long-term seedling growth studies were conducted with wheat (*Triticum aestivum* c.v. Bear) and soybean (*Glycine max* c.v. Centennial). Soybean plants were grown in 1 l of sand and wheat in 1.5 l. To 1 l of sand (sand which passes through a 25-mesh sieve) was added 350 ml of a 10% concentration of a solution containing the EP extract plus plant nutrients (20-20-20 N-P-K, plus micronutrients, one tablespoon per gallon of solution; Ralston-Purina, St. Louis, Mo.). There were 50 wheat seeds in each of 5 containers and 15 soybean seeds in each of 10 containers, giving a total of 250 and 150 seeds, respectively.

Sand was selected as a growth medium to eliminate potential confounding of test results by attenuation of toxicants associated with clay particles and organic matter present in natural field soils. Establishment of a more realistic soil medium capable of being universally standardized for application to such assays was deemed to be a research task in itself beyond the scope of this project.

Plants were exposed to the solution above added to sand and misted with an atomizer for leaf exposure. The dose was sufficient to restore loss by eva-

potranspiration. The amount of time between each application ranged from every other day to every 3 days.

Wheat plants were grown for 2 weeks and soybeans for 3 weeks. At harvest, sand was washed from the roots, roots and shoots were separated, and dry weights were recorded for 12 of the extracts. Five soybean plants and ten wheat plants were consolidated to reduce variability between samples. The N value was the number of sample group available. A standard t-test was used for comparison of treated and control weights. The last four extracts (fluidized bed residue, municipal sewage sludge, power plant No. 2 fly ash, and power plant No. 1 treated scrubber sludge) were compared with controls by measurement of lengths of root and shoot. Measuring length was much faster, and the N value was larger since each plant represented one observation. Also, it was always possible that not all sand was completely rinsed off of the roots, which would create an error in final weight; length measurements eliminate this problem.

APPENDIX G

Salmonella MUTAGENICITY ASSAY

The realization that the list of potential chemical carcinogens is growing faster than our capacity to test the materials and the enormous increase in industrial and technological activities have created an interest in short-term test procedures for the identification of genetic hazards associated with environ-

mental chemical pollutants. Although the health effects of chemicals in the environment are being extensively studied, it is obvious that short-term procedures are necessary to reduce the study time for evaluating the large number of potentially hazardous substances. To control the problem of environmental

carcinogenesis, greater number of these compounds are to be screened and assigned priorities for further testing. This appears to be the primary role of the short-term test. Not only should a meaningful short-term test be faster, easier to interpret, more sensitive, and less expensive, but it must also be reliable and relevant to the *in vivo* assays.

Among the various short-term assays which utilize microbial organisms, the *Salmonella* test system developed by Ames has been widely used as a prescreen for the determination of genetic and potential carcinogenic hazards of complex environmental effluents or products. This test system has been examined more extensively than any other short-

term assay for correlating mutagenicity and carcinogenicity.¹ It utilizes a series of histidine-requiring mutants that revert after treatment with mutagens to the wild-type state (histidine independent). Generalized testing of the compound is accomplished by use of three strains (TA1537, TA1538, and TA98) that detect frameshift mutagens and two strains (TA1535 and TA100) that detect base-pair substitution mutagens. The design of the test is shown in Figure G-1.

A recommended protocol outlining the preparation of the components of this test has been published by Ames et Al.² Some chemicals like dimethylnitrosamine, certain hydrazines, and volatile liquids which are not mutagenic in the standard plate assay are active in the modified procedure, designated the

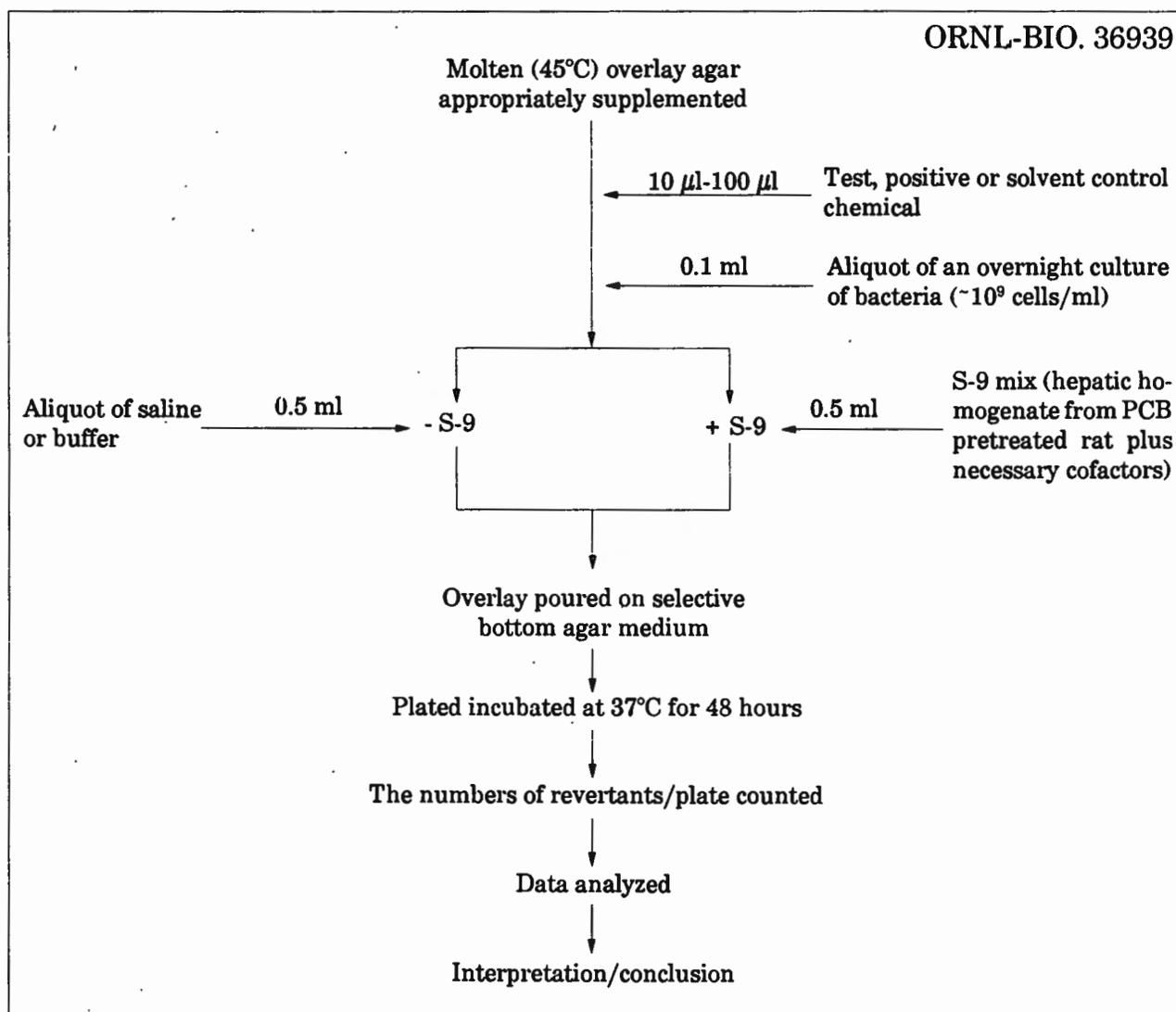


Figure G-1. Reverse mutation assay (agar incorporation method).

preincubation technique. This modified procedure detects not only these compounds, but also the majority of the compounds that have been shown to be active in the standard plate assay.

BACTERIAL STRAINS

Four *Salmonella typhimurium* indicator strains, TA1535, TA1537, TA98, and TA100, are recommended for screening purposes. TA1535 and TA100

have base-pair substitution mutation in the histidine operon; TA100 also contains an R factor which renders the strain more sensitive to certain mutagens, possibly through error-prone repair. TA1537 and TA98 have frameshift mutation in the histidine operon; TA98 contains an R factor and is more sensitive than TA1538. TA1537 is recommended because its unique sensitivity to some agents like 9-aminoacridine and certain ICR compounds. The characteristics of these strains are shown in Table G-1.

TABLE G-1. PROPOSED BACTERIA STRAINS*

Strain designation	Gene affected	Additional mutations		
		Repair	LPS	R factor
TA1535	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	-
TA1537	<i>hisC</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	-
TA98	<i>hisD</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101
TA100	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101

* See Ames et al.¹ for references.

STORAGE AND CHECKING OF TESTER STRAINS

All strains are initially grown in nutrient broth (8g Difco-Bacto nutrient broth, 5g NaCl/l) at 37°C for 16 h. The strains are checked for the genetic markers in the following ways:

Histidine Requirement. Streak the cultures on minimal plates both with and without histidine (spread 0.1 ml of sterile 0.1 M L-histidine on the agar surface). Biotin (0.1 ml of 0.5 mM per plate) is also essential for these strains. The strains should grow on plates containing both histidine and biotin.

Deep Rough Character. A sterile filter paper disc containing crystal violet (10 µl of 1 mg/ml) is placed on a nutrient agar petri dish containing 0.1 ml (about 10⁸ bacteria) of the nutrient broth culture to be tested in a thin overlay of top agar. After 12 h incubation at 37°C, a clear zone of inhibition around the disc (about 14- to 18-mm diameter) indicates the presence of *rfa* mutation.

Presence of Plasmid. The strains with R factor (TA100 and TA98) should be checked routinely for the presence of the ampicillin resistance. Streak a

small amount (10 µl of 8 mg/ml in 0.02 N NaOH) of an ampicillin solution across the surface of a nutrient agar plate. After the streak is dry, cultures to be checked are cross-streaked against the ampicillin, and after incubation for 12-24 h at 37°C, strains which do not contain the R factor will show a zone of growth inhibition around the ampicillin streak, whereas strains containing R factors will not.

Storage. Frozen permanent cultures containing fresh nutrient broth cultures (0.8 ml) with dimethylsulfoxide (0.07 ml) are prepared and maintained in a Revco freezer at -80°C. A working source of these cultures is maintained on master plates which are prepared as follows:

0.1 ml of sterile 0.1 M L-histidine is spread on the surface of a minimal glucose agar plate. After the histidine solution is absorbed by the agar, 0.1 ml of sterile 0.5 mM biotin is added in the same way. For TA98 and TA100, 0.1 ml of an 8 mg/ml ampicillin solution (in 0.02 N NaOH) is added. By use of a sterile loop, nutrient broth culture of the tester strain is streaked across the agar (for TA98 and TA100, plates with ampicillin are used) and incubated at 37°C for 24 h. These master plates with the cultures are stored at 4°C and can be used for several months to grow working cultures.

PREPARATION OF RAT LIVER S-9

Male Sprague-Dawley rats (of about 180-200 g weight) are given a single intraperitoneal injection of Ar-1254 at a dosage of 500 mg/kg (vehicle, corn oil) 5 days before they are killed. They are fasted 12 h before they are decapitated and allowed to bleed. The livers are aseptically removed and washed in cold 0.15 M KCl. All steps are performed at 0 to 4°C with cold and sterile solutions and glassware. The livers are minced with sterile scissors in three volumes of 0.15 M KCl (3 ml/g wet liver) and homogenized with a Potter-Elvehjem apparatus with a Teflon pestle. The homogenate is centrifuged for 10 min at 9000 x g, and the supernatant (S-9) is decanted and stored in convenient aliquots at -80°C. For S-9 from ϕ B-induced rat livers, the same procedure as described above is followed except that the rats are given 0.1% sodium phenobarbital in drinking water for 1 week before they are killed.

MEDIA

Top agar (0.6% Difco-Bacto agar, 0.5% NaCl) is autoclaved and stored in 100-ml bottles at room temperature. Before use, the agar is melted (in an autoclave or in a steam bath), and 10 ml of a sterile solution of 0.05 mM L-histidine-HCl, 0.5 mM biotin is added to the 100 ml of molten agar and mixed thoroughly.

Complete medium (23.5 g BBL standard methods agar in 1 l of distilled H₂O) is autoclaved and dispensed into 100x15 mm plastic petri plates (30 ml/

plate).

Vogel-Bonner³ medium E with 2% glucose and 1.5% Bacto-Difco agar is used as the minimal medium for mutagenesis assays and is prepared as follows:

Vogel-Bonner Salts (50x)

Warm distilled water	670 ml
Magnesium sulphate (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	10 g
Citric acid monohydrate	100 g
Potassium phosphate (K ₂ HPO ₄)	500 g
Sodium ammonium phosphate (NaH ₂ NH ₄ PO ₄ ·4H ₂ O)	175 g

The above salts are added to the warm water (45°C) in the specified order. Each salt is dissolved completely before the next is added. When the salts are all dissolved, the solution is cooled to room temperature. About 5 ml of chloroform is added to the solution and stored in a capped bottle at room temperature.

Dissolve 15 g of Difco-Bacto agar in 1 l of water by autoclaving. Cool to about 60 to 70°C and add 20 ml of 50x Vogel-Bonner salt solution and 50 ml of sterile 40% glucose solution. Mix thoroughly, and dispense into 100x15 mm plastic petri plates (30 ml/plate). Other minimal media would presumably also serve the purpose.

PREPARATION OF S-9 MIX (ACTIVATION SYSTEM)

The S-9 mix contains the materials shown in Table G-2.

TABLE G-2. COMPOSITION OF S-9 MIX

Component*	Stock preparation	Volume (μ l) of stock	Final concentration of component in mix (μ mol/ml)
1. NADP	0.1 M	40	4
2. Glucose-6-phosphate	0.1 M	5	5
3. Sodium phosphate buffer (pH 7.4)	0.2 M	500	100
4. MgCl ₂	0.4 M	20	8
5. KCl	1.65 M	20	33
6. Homogenate	standard KCl 9000 x g supernatant	100	approx. 25 mg of fresh tissue equivalent

*Components 1 and 2 are prepared in sterile distilled water and filter-sterilized before use. Components 3-5 are prepared in distilled water, sterilized, and maintained at 4°C. Component 6 is prepared in 0.15 M KCl and stored at -80°C until used.

POSITIVE CONTROL COMPOUNDS

Any assay performed should have a control in which the solvent or diluent is employed to see its effect on the rate of spontaneous revertants. In addition

to this control, a known directly acting mutagen and the one that requires metabolic activation should be used to show that the assay system is working.

The positive control compounds shown in Table G-3 could be used in these assays.

TABLE G-3. POSITIVE CONTROL COMPOUNDS

	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Activation	Response of strain		
			TA1535, TA100	TA98	TA1537
Sodium azide	2.5	-	+	-*	-*
9-Aminoacridine	10.0	-	-	-	+
2-Anthramine	5.0	+	+	+	+

* Weak responses may be obtained.

MUTAGENESIS ASSAY BY THE PREINCUBATION METHOD

It may be difficult to detect biological effects with the complex environmental mixtures due to (1) toxicity of the complex mixture or (2) low concentrations of the biologically active components in the complex mixture. The first problem should be dealt with by assaying the complex mixture for general toxicity towards bacterial survival before the mutagenesis assay is performed. The second problem should be dealt with at the level of concentration and fractionation of the complex mixtures. The following protocol is recommended for general toxicity.

Only one strain, TA1537, is used to determine the general toxicity range. Overnight culture in nutrient broth is diluted to obtain about 10^3 cells/ml. To the tubes containing 2 ml standard top agar are added: 0.1 ml of the diluted culture of TA1537, various amounts of the test material (the recommended levels are: 1000, 500, 100, and $10 \mu\text{l}/\text{tube}$), and 0.5 ml of phosphate buffer, pH 7.4 (for nonactivation) or 0.5 ml of S-9 mix (for activation). The contents are mixed and poured on the surface of a bacterial complete plate. After the agar is hardened, the plates are incubated at 37°C for 48 h. Survival is compared with a control plate containing solvent but no chemical. Once the toxicity is determined, five dose levels

within the 50% or greater survival part of the curve are selected for actual mutagenesis assays.

PREINCUBATION ASSAY

Four tester strains (TA1535, TA1537, TA98 and TA100) described earlier are used in the assay, and each data point is done in duplicate. The assay is conducted as follows:

To the sterile 13x100 mm test tubes containing 0.5 ml of the S-9 mix placed in an ice bath, an aliquot of the test compound (or positive control mutagen or solvent or diluent) and 0.1 ml of an overnight bacterial culture are added. S-9 mix should be replaced with 0.067 M phosphate buffer (pH 7.4) in nonactivation tests. The contents are mixed and the tubes are incubated at 37°C in a shaker for 20 min. At the end of the incubation, 2 ml of molten top agar (kept at 45°C) are added per tube and the contents are gently mixed. The contents are then poured onto the surface of a Vogel-Bonner minimal glucose agar plate (appropriately labeled). After the agar has solidified, the plates are incubated at 37°C for 2 days and the *his*⁺ revertants are recorded. Table G-4 shows the results for 2-aminoanthracene, sodium azide, and dimethylnitrosamine tested by the standard plate incorporation method and the preincubation method.

TABLE G-4. MUTAGENICITY OF 2-ANTHRAMINE, SODIUM AZIDE, AND DIMETHYLNITROSAMINE

Concentration of mutagen	Mutagenicity (revertants/plate) in strain					
	TA1535*		TA98		TA100*	
	Plate incorporation	Preincubation	Plate incorporation	Preincubation	Plate incorporation	Preincubation
<i>2-Anthramine (µg)</i>						
0			36	45		
0.01			66	78		
0.1			431	841		
1.0			1,994	2,104		
10.0			1,903	2,207		
<i>Sodium azide (µg)</i>						
0	22	15			123	113
1.0	300	274			600	1,344
2.5	566	505			865	1,902
5.0	867	765			1,065	2,372
10.0	1,643	1,100			1,275	2,746
20.0	2,063	1,456			1,336	3,015
50.0	2,260	1,675			1,362	3,161
<i>Dimethylnitrosamine (µl)</i>						
0	15	29			113	161
1.0	22	35			176	164
2.5	23	35			182	164
5.0	28	41			176	173
10.0	20	349			178	516
20.0	25	583			209	1,090
50.0	2	24			0	122

*Mean of six replicate runs.

REVERTANT CONFIRMATION

Randomly selected *Salmonella* revertants should be picked from plates showing mutagenicity and confirmed for histidine independence by restreaking on minimal plates containing no histidine.

REPEAT TESTS

The test on each sample should be repeated within 2 weeks following the initial evaluation to confirm the results. The positive results obtained in the initial evaluation with or without PCB-induced rat liver S-9 are to be confirmed in the repeat test. If the results are negative in the initial evaluation in the presence or absence of PCB-induced rat liver S-9, it is sug-

gested that in the repeat tests ϕ B-induced rat liver S-9 be included in addition to the PCB-induced rat liver S-9. (It should be noted here that the liver from Ar-induced rats is the most efficient for detecting different classes of carcinogens. The liver from ϕ B-induced rats is more efficient for detection of 2-acetylaminofluorene and many other aromatic amines, but it is very inefficient for detection of certain PAHs.) If the repeat test results are positive in the presence of ϕ B-induced rat liver S-9, they should be reconfirmed by testing the material in the presence of ϕ B-induced rat liver S-9 only. If the repeat test results are negative, no further testing is necessary. Figure G-2 gives the general scheme for evaluating the test material in the preincubation assay for four *Salmonella* tester strains.

ORNL - BIO. 36540

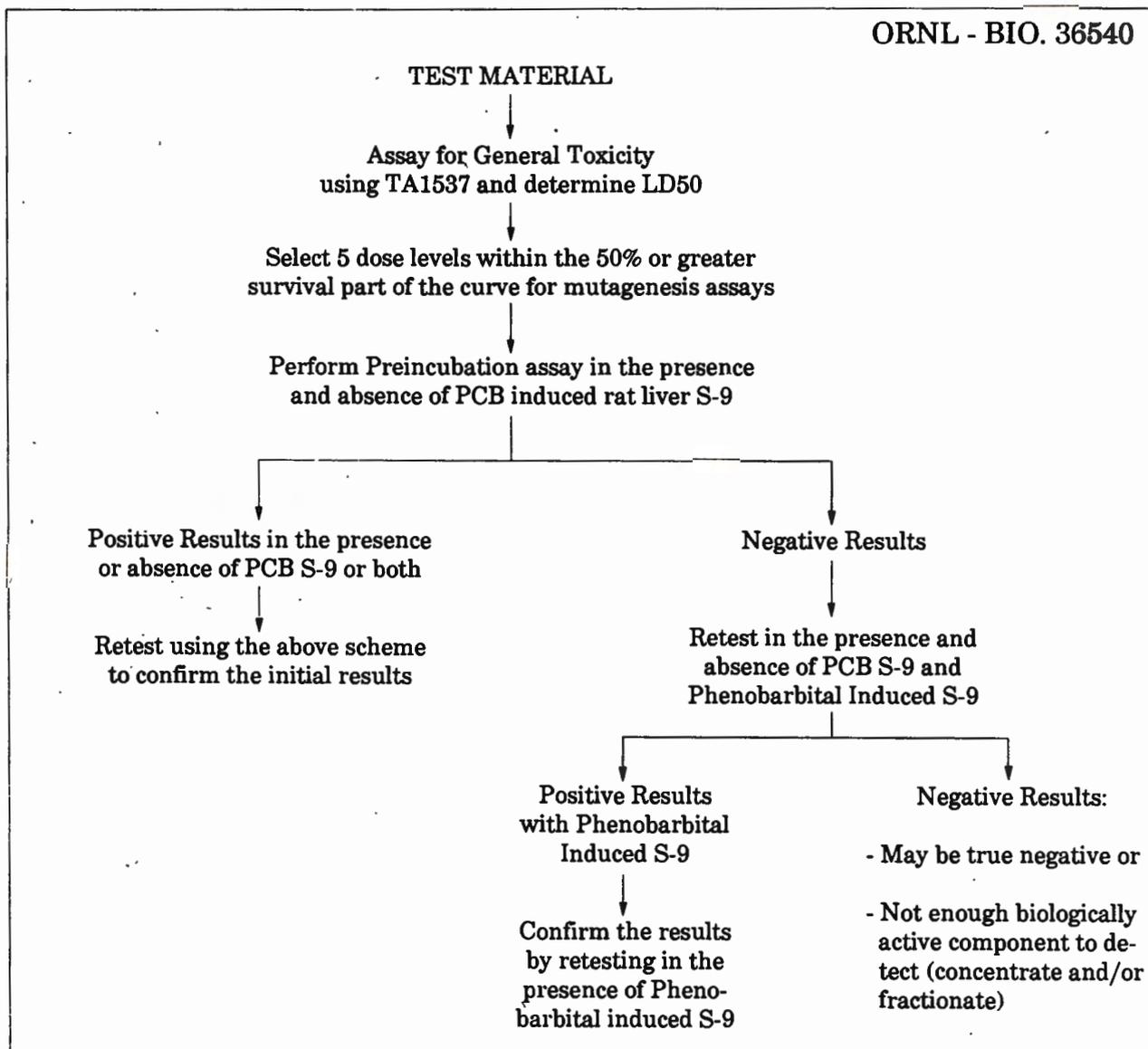


Figure G-2. General scheme.

REFERENCES FOR APPENDIX G

1. McCann, J.E., E. Choi, E. Yamasaki, and B.N. Ames. Detection of Carcinogens as Mutagens in the *Salmonella*/Microsome Test: Assay of 300 Chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72:5135, 1975.
2. Ames, B.N., J. McCann, and E. Yamasaki. Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-Microsome Mutagenicity Test. *Mutat. Res.*, 31:347, 1975.
3. Vogel, H.J., and D.M. Bonner. Acetylornithinase of *Escherichia coli*: Partial Purification and Some Properties. *J. Biol. Chem.*, 218:97, 1956.

APPENDIX H

Saccharomyces cerevisiae GENE MUTATION ASSAY

Both forward and reverse mutation can be monitored in the haploid strain XL7-10B.¹ It has the genotype ap^+ *CAN1 his1-7 lys1-1 ura1*.

FORWARD MUTATION TO CANAVANINE RESISTANCE (*CAN1*-> *can1*)

Canavanine is a toxic arginine analog to which yeast is normally sensitive. Resistance to canavanine has been shown to be almost exclusively due to mutational inactivation of the arginine permease. The permease gene (*CAN1*) has been estimated to be approximately 7700 nucleotides long, hence it offers a very large mutational 'target'. *CAN1* is mutated by both frameshift and base-pair substitution inducing mutagens; in addition, deletions and chromosomal rearrangements with breakpoints in *CAN1* should also be recoverable.

REVERSION OF *his1-7*

The *his1-7* mutation is a missense mutation resulting from a base-pair substitution in a histidine biosynthesis gene. This mutation confers a requirement for the amino acid histidine. Back mutation by base-pair substitution at the original mutant site removes the histidine requirement. Further, *his1-7* reverts by second site mutation - a second base-pair substitution at another site which 'corrects' the original amino acid replacement in the enzyme protein by a second compensatory replacement. Since the reversion event is not limited to a single site, a broader spectrum of base-pairs substitutions can be detected. Also, owing to different modes of DNA repair in yeast, *his1-7* is reverted by mutagens which have been classified in bacterial systems as acting via a frameshift mechanism.

Both *CAN1* and *his1-7* mutate readily, and the mutant are subject to a positive selection method. Additionally, this system will tolerate a wide variety of assay conditions (e.g., stationary phase versus log phase cells or presence or absence of a mammalian

microsomal activation system) without requiring modification of the mutant selection procedure or affecting the recovery of mutants.

SUPPLIES AND EQUIPMENT

YPD, SC-ARG+CAN, and SC-HIS agar plates, prepared
 Sterile solution of 0.067 M K_2HPO_4
 Sterile solution of 10% (w/v) $Na_2S_2O_3$ on ice
 Clinical centrifuge and sterile centrifuge tubes
 Sterile plastic test tubes with sealing caps (16x100 mm is convenient - available from Falcon)
 Shaking water bath set at 30°C (rotary preferred)
 A supply of sterile 10-, 5-, and 1-ml pipettes and tips for microliter pipetor
 Sufficient S-9 mix² for activated assays (prepare fresh and hold on ice, maximum 3 h)
 Ice bath for stopping assay
 Sterile 0.067 M K_2HPO_4 dilution blanks (in plastic tubes as above)
 Glass bacterial spreader and alcohol for flaming
 Alcohol or gas burner
 Protective gloves for handling test materials
 Test material in aqueous or dimethylsulfoxide solution
 Hemocytometer and compound microscope.

MEDIA

Media have the composition shown below and are sterilized by autoclaving.

	<u>YPD</u>
1% Difco yeast extract	6 g
2% Difco-Bacto-peptone	12 g
2% dextrose	12 g
2% Difco-Bacto-agar	12 g
distilled water	600 ml

(For broth leave out agar)

SD

0.67% Difco yeast nitrogen base without amino acid	4 g
2% dextrose	12 g
2% Difco-Bacto-agar	12 g
distilled water	600 ml

A modified synthetic complete is prepared by the following addition to SD (concentrations in mg/l).

SC

adenine sulfate	20
uracil	20
L-tryptophan	20
L-histidine HCl	20
L-arginine HCl	20
L-methionine	20
L-leucine	30
L-lysine HCl	30

SC-ARG + CAN is prepared by deleting arginine and adding filter-sterilized canavanine sulfate (40 mg/l) after autoclaving. SC-HIS is prepared by deleting histidine.

ASSAY METHODOLOGY

Suspend a well-formed isolated colony of the appropriate tester strain in 0.067 M K_2HPO_4 and determine the cell concentration using the hemocytometer. Prepare a dilution series and inoculate 25 ml of YPD broth with approximately 200 cells. Grow 2-3 days with vigorous shaking at 30°C until late stationary phase.

Centrifuge the stationary-phase culture and resuspend in buffer. Adjust cell concentration to 2×10^9 cells/ml.

Place sufficient tubes for the assay in the ice bath. To each tube add: up to 0.5 ml aqueous test material (or up to 100 μ l of dimethylsulfoxide solution), 0.4 ml of S-9 mix (for activated assays), and sufficient 0.067

M K_2HPO_4 to bring the volume in each tube to 0.9 ml. Finally, add 0.1 ml of the yeast suspension to each assay tube. Seal the caps.

Without delay, place the assay tubes in the 30°C shaking water bath. At least a 3-h and a 20-h incubation should be performed.

Stop the assay by placing the tubes in the ice bath and adding 1.0 ml of ice-cold 10% $Na_2S_2O_3$ to each tube.

PLATING

Plate the stopped incubation mixture directly on SC-ARG + CAN and SC-HIS (in duplicate, 0.1 ml/plate). Dilute the stopped mixture 10^{-5} and plate on YPD to determine survival.

Spread to dryness, flaming the spreader for each plate. Incubate YPD plates 3 days at 30°C, others 5 days. Count the plates. Calculate the percent survival and the mutation frequency based on surviving titer and note the mutation yield.

NOTES

Activation: ϕ B-induced and Ar- (or substitute) induced S-9 are used, as per Ames.²

Enzyme titration: after the dose giving 50% survival, or the highest dose applicable (if the substance is nontoxic), is determined, the activation system is optimized by titration with varying amounts of S-9.

REFERENCES FOR APPENDIX H

1. Strain available from F.W. Larimer, Biology Division, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee 37830.
2. Ames, B.N., J. McCann, and E. Yamasaki. Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the Salmonella/Mammalian-Microsome Mutagenicity Test. *Mutat. Res.*, 31:347, 1975.

APPENDIX I

BACTERIAL DNA REPAIR ASSAY

DNA repair tests do not measure mutation per se, but DNA damage induced by chemical treatment of a cell. Microbial test systems measure this damage as cell killing. Test systems employ paired, identical cells, except one has the normal DNA repair capabilities and one lacks a specific step (or steps) in the enzyme

pathways responsible for DNA repair. Preferential killing of the repair-deficient strain by the test chemical implies that the chemical exerts its killing effects by reacting with the cells' DNA and, therefore, may be mutagenic. This implication may not be valid in all cases, since the test cannot separate a purely lethal

DNA effect from one that also has a mutagenic component.

The following protocol describes a generalized DNA repair assay which can utilize any of the major bacterial 'repair' strains, i.e., the *Bacillus subtilis* *rec*⁺ - *rec* pair,¹ *Escherichia coli* *polA*⁺ - *polA*,² or *Salmonella typhimurium* *uvrB*⁺ - *uvrB*.³ These systems are all based on the hypersensitivity of repair-defective bacteria to the lethal effects of DNA-modifying chemicals.

STRAIN MAINTENANCE

The source references for the strains chosen give details for the maintenance of master cultures. The repair phenotypes are conveniently verified by checking for UV sensitivity as follows:

The tester strains are parallel-streaked across individual nutrient agar plates and half of each plate is irradiated with a G.E. 15 W germicidal lamp at a distance of 33 cm. The duration of UV exposure is 6s, after which the plates are incubated overnight at 37°C. The repair-deficient strain should show growth only on the *unirradiated* side of the plate, while the repair-proficient strain should show growth on both sides of the plate.

SUPPLIES AND EQUIPMENT

Prepared nutrient agar plates
Sterile solution of 0.067 M K₂HPO₄
Sterile solution of 10% (w/v) Na₂S₂O₃ on ice
Clinical centrifuge and sterile centrifuge tubes
Sterile plastic test tubes with sealing caps (16x100 mm is convenient - available from Falcon)
Shaking water bath set at 37°C (rotary preferred)
A supply of sterile 10-, 5- and 1-ml pipettes and tips for microliter pipetor
Sufficient S-9 mix³ for activated assays (prepare fresh and hold on ice, maximum 3 h)
Ice bath for stopping assay
Sterile 0.067 M K₂HPO₄ dilution blanks (in plastic tubes as above)
Glass bacterial spreader and alcohol for flaming
Alcohol or gas burner
Protective gloves for handling test materials
Test material in aqueous or dimethylsulfoxide solution.

MEDIA

Nutrient broth is composed of 8 g Difco-Bacto nutrient broth, 5 g NaCl, and distilled water to 1 l;

sterilization is by autoclaving. Nutrient agar is nutrient broth solidified with 2% Difco-Bacto agar.

REPAIR ASSAY

Prepare overnight at 37°C nutrient broth cultures of each tester strain; store at 4°C.

0.1 ml of each bacterial culture will be required for each respective assay point. Centrifuge on adequate volume of each culture, discard the broth supernatant, and resuspend the bacteria in a like volume of 0.067 M K₂HPO₄.

Place sufficient tubes for the assay in the ice bath. To each tube add: up to 0.5 ml of aqueous test material (or up to 50 µl of dimethylsulfoxide solution), 0.4 ml of S-9 mix (for activated assays), and sufficient 0.067 M K₂HPO₄ to bring the volume in each tube to 0.9 ml. Finally add 0.1 ml of the appropriate bacterial suspension to each assay tubes. Seal the caps.

Without delay, place the assay tubes in the 37°C shaking water bath. Incubate unactivated assays for 20 min, activated assays for 2 h.

Stop the assay by placing the tubes in the ice bath and adding 1.0 ml of ice-cold 10% Na₂S₂O₃ to each tube.

PLATING

Prepare the following serial dilutions from each stopped assay tube: 1:100, 1:10, 1:10, 1:10, using the 0.067 M K₂HPO₄ dilution blanks.

For each dilution, pipet 0.1 ml onto duplicate nutrient agar plates. Spread to dryness, flaming the spreader for each plate.

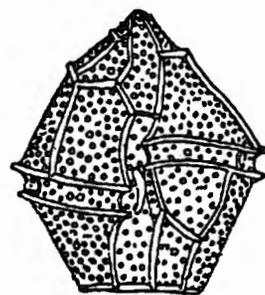
Incubate the plates inverted at 37°C overnight.

Count the plates. Calculate percent survival for each strain at each assay point, relative to untreated controls.

REFERENCES FOR APPENDIX I

1. Kada, T., K. Tutikawa, and Y. Sadaie. In vitro and Host-Mediated "Rec-Assay" Procedures for Screening Chemical Mutagens; and Phloxine, a Mutagenic Red Dye Detected. *Mutat. Res.*, 16:165, 1972.
2. Slater, E.E., M.D. Anderson, and H.S. Rosenkranz. Rapid Detection of Mutagens and Carcinogens. *Cancer Res.*, 31:970, 1971.
3. Ames, B.N., J. McCann, and E. Yamasaki. Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-Microsome Mutagenicity Test. *Mutat. Res.*, 31:347, 1975.

ATTUALITA'



PROGRAMMA DI RILEVAMENTO DEI FENOMENI EUTROFICI DELLE ACQUE DI MARE

di Giovanni Damiani

A prima vista il "Programma di rilevamento dei fenomeni eutrofici delle acque di mare", che qui proponiamo, potrebbe sembrare troppo impegnativo e, pertanto, al di fuori della portata operativa dei nostri laboratori, già oberati da gravosi compiti.

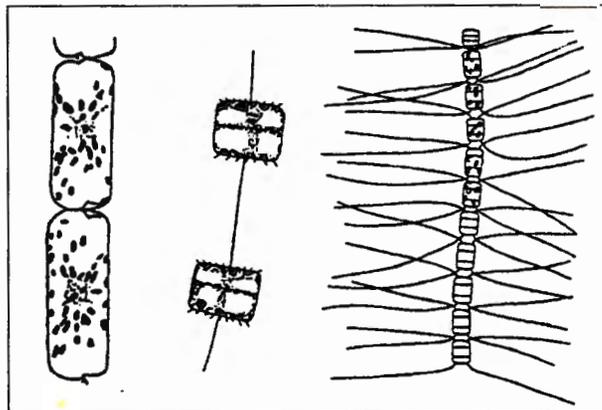
Tuttavia, leggendo con attenzione, ci si rende conto che esso non è velleitario. Se si va a stringere, risulta evidente che esso è stato pensato per ottenere il massimo di informazioni col minimo impegno di tempo e di mezzi.

C'è da svolgere una buona azione preliminare per costruirsi una valida - la più ampia possibile - rete di "informatori": gente disposta a collaborare segnalandoci tempestivamente la comparsa di maree colorate. Si tratta di riportare tutte le notizie su scheda e, di tanto in tanto, andare a verificare ed a prelevare campioni. Le misure fondamentali da effettuare in mare e le analisi di laboratorio si riducono veramente al minimo indispensabile e, in parte, sono già compiti per noi usuali, in quanto prescritti dal DPR 470/82 sulle acque di balneazione.

Si tratta di estendere i controlli per l'ossi-

geno disciolto, la trasparenza e la salinità (o, in alternativa, i cloruri) anche al largo e sul fondo, e solo in caso di maree colorate. Si tratta di mettere a punto il dosaggio della clorofilla secondo un metodo semplice che verrà fornito a chi - speriamo tantissimi - "si imbarca" in questa nuova "CISBA ADVENTURE".

E' fondamentale, infine, segnalare se a seguito di maree colorate si registrano morie diffuse di molluschi, pesci, uccelli marini, oppure intossicazioni per l'uomo legate, non a tossinfezioni alimentari di origine microbica, ma a presunte tossine algali concentrate dai



molluschi. Solo nel caso di tale sospetto ci si impegna a prelevare i molluschi in questione ed a farli pervenire all' Istituto Superiore di Sanità per la ricerca delle tossine algali.

L' allerta telefonica dei colleghi vale, soprattutto, per gli operatori che lavorano sull' Adriatico. In esso, infatti, sia i blooms algali che le anossie del fondo di fasce di litorale hanno l' "abitudine" di assumere un andamento nastroforme con velocissima progressione verso sud.

Essendo preavvisati, sarà più facile cogliere il fenomeno, valutarne l' estensione, la velocità e le principali caratteristiche.

Il progetto che il CISBA propone è di grande importanza per tutto il Paese. Per questo sollecitiamo adesioni, anche parziali: chi non potrà attuare una data misurazione (es. clorofilla, o altro) può aderire ugualmente, impegnandosi a riempire le schede al massimo delle proprie possibilità.

PROGRAMMA DI RILEVAMENTO

OBIETTIVI

- individuare i litorali ove si sono avute fioriture algali con "maree colorate"
- valutare l' intensità, l' estensione e la durata delle stesse
- ricostruire le dimensioni dei blooms algali che coinvolgono più provincie o più regioni
- seguire la progressione dei predetti fenomeni nel tempo e nello spazio
- rilevare le caratteristiche più semplici dei blooms (colorazione e trasparenza dell' acqua; individuazione degli organismi responsabili: Diatomee o Dinoflagellati)
- verificare se il fenomeno eutrofico evolve fino all' anossia dei fondali
- segnalare fenomeni di morie di molluschi, crostacei, pesci, uccelli, ecc.

Il programma è pensato volutamente semplice (che non significa però "povero") in modo da poter essere applicabile ovunque.

BISOGNI OPERATIVI

- scheda: per motivi di omogeneità nella raccolta dei dati è stata predisposta una scheda di lavoro
- natante: in caso di maree colorate, per effettuare i sopralluoghi occorre un natante che può essere messo a disposizione, senza grossi problemi, dalle Capitanerie di Porto
- carte nautiche: per definire la distribuzione spaziale dei blooms devono essere utilizzate le carte nautiche
- attrezzatura di laboratorio: quella normalmente



utilizzata per i compiti di istituto. Per il conteggio delle alghe basterà una camera-ematimetro ed il microscopio potrà essere quello classico, se non si dispone di quello invertito dotato di camera di sedimentazione. Per i prelievi in mare occorrerà un campionatore di profondità.

BISOGNI INFORMATIVI

- rete di informatori: Capitanerie di Porto, Carabinieri, Polizia, Finanza, Vigili del Fuoco, Lega Navale, Clubs Nautici, pescatori di professione, possono diventare la rete di informazione rendendosi utilissimi per segnalare l' insorgere dei fenomeni eutrofici e per ricostruirne l' estensione e la durata. Tra gli informatori andranno tenuti in gran considerazione i piloti di elicottero della Guardia di Finanza e delle compagnie petrolifere ed i piloti di



aerei che portano striscioni pubblicitari lungo i litorali

- reperibilità (o, meglio, intercomunicazione): i rilevatori devono essere disponibili a comunicare l'avanzamento di blooms algali estesi verso altre provincie vicine. Si riuscirà così a ricostruire la progressione degli eventi eutrofici nello spazio e nel tempo. In caso di "allerta telefonica" da realtà vicine, il rilevatore dovrà comunque rispondere anche per comunicare semplicemente che dalle sue parti la situazione è normale e tale permane.

TEMPI

Il piano di rilevamento interesserà un ciclo annuale e sarà operativo già con la tarda primavera del corrente anno.

FASE OPERATIVA

Il sopralluogo è previsto quando dalla rete degli informatori o dai colleghi viene segnalata una marea colorata.

Cosa rilevare in mare:

- condizioni meteo-marine di base
- stato del mare
- colorazione dell' acqua
- confini della marea colorata
- ossigeno disciolto in superficie e/o profondità
- trasparenza
- salinità
- prelievi di campioni in superficie e/o profondità.

Cosa rilevare a terra:

- intensità e direzione dei venti dominanti dell' ultima settimana
- temperature giornaliere minime, massime e medie dell' ultima settimana
- piovosità giornaliera dell' ultima settimana.

Cosa determinare in laboratorio:

- esame microscopico con determinazioni qualitative del fitoplancton
- eventuale determinazione della clorofilla e dei nutrienti.

SISTEMA INFORMATIVO

Le schede informative saranno trasmesse con cadenza semestrale al Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale che provvederà alla loro elaborazione.

LA COMMISSIONE EUTROFIZZAZIONE DEL
C.I.S.B.A.



Coloro che sono interessati a partecipare al programma di rilevamento sono pregati di mettersi in tempi brevi in contatto con i referenti del C.I.S.B.A.:

Coordinamento del progetto:

Dr. Loredana Bonalberti e

Dr. Eleonora Kumer

*P.M.P. dell' USL n. 31, Corso Giovecca 196 - 44100
FERRARA - tel. 0532/34063*

Aspetti chimico-fisici e biologici:

Dr. Giuseppe Montanari e

Dr. Attilio Rinaldi

Regione Emilia-Romagna

Battello Oceanografico DAPHNE II°

*Via Vespucci 2 - 47042 CESENATICO - tel. 0547/
83941*

Aspetti biotossicologici:

Dr. Laura Volterra

Istituto Superiore di Sanità

Viale Regina Elena 299 - 00161 ROMA - tel. 06/4990

IGIENE URBANA



CONTROLLO GUIDATO DI TOPI E RATTI NELLE AREE URBANE E SUBURBANE

Paolo Malfatti *

Tra gli interventi di sanificazione ambientale, la derattizzazione riveste una particolare importanza, considerata l' entità dei danni economici e dei pericoli per la salute umana connessi con la presenza di topi e ratti. Se infatti alcune infezioni epidemiche, come la peste, sono ormai un lontano ricordo, restano attuali il rischi di leptospirosi, di rickettziosi e di altre malattie infettive, dei cui agenti patogeni i roditori in questione rappresentano sia il serbatoio infettivo che il veicolo di diffusione.

La proliferazione di questi indesiderabili roditori è favorita dalla presenza di rifiuti, dalla sporcizia, dall' inquinamento, dalla rarefazione dei loro antagonisti naturali (principalmente rapaci) e dalla disseminazione sul territorio di abbondanti disponibilità alimentari (allevamenti, laboratori e industrie alimentari, magazzini, ecc.).

Una corretta campagna di bonifica antimurina, oltre all' ovvio principio di econo-

mizzare denaro pubblico, richiede l' adozione di una serie di accorgimenti volti a minimizzare i rischi per l' uomo, per gli animali e per l' ambiente. E' quindi necessario che gli enti promotori delle operazioni di derattizzazione (Comuni, USL, ecc.) affidino gli interventi a personale che offra ampie garanzie di una approfondita conoscenza dei principi attivi e delle loro schede tecniche, dei preparati, delle metodologie d' impiego, della biologia ed etologia della/e specie da combattere e di quelle da salvaguardare, delle moderne tecniche di lotta integrata, ecc.

Vengono qui brevemente illustrati gli schemi di lotta alle due specie di roditori (*Mus musculus* e *Rattus norvegicus*) responsabili dei principali pericoli e disagi arrecati all' uomo.

Caratteristica comportamentale di entrambe le specie è una grande diffidenza verso i nuovi cibi: solo i giovani si mostrano "imprudenti" e se ne nutrono. Gli adulti accettano il cibo solo se i giovani, trascorse diverse ore dal pasto, non mostrano segni di sofferenza;

* Agronomo, Servizio Igiene Pubblica e del Territorio, USL n.2, Massa

ciò rende inutilizzabili per una efficace derattizzazione i principi attivi a rapida azione. Per aggirare tale diffidenza vengono utilizzati principi attivi ad azione anticoagulante ritardata, che provocano la morte per emorragia dei roditori dopo assunzioni ripetute dell' esca avvelenata.

anticoagulante, nei punti individuati nelle precedenti fasi, fino alla scomparsa dei roditori;

d - *recupero esca*;

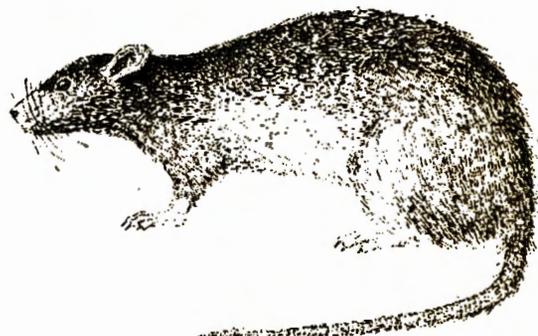
e - *mantenimento*, con interventi da valutare caso per caso.



Mus musculus L.

Il topolino domestico colonizza un po' tutti gli habitat antropici, quali abitazioni, industrie alimentari, ospedali, mense, dispense, ecc. ed ha solitamente un territorio d' azione piuttosto limitato. Il controllo di questo piccolo roditore presenta particolari difficoltà, soprattutto per le sue abitudini alimentari (predilige una dieta varia). Per una corretta ed efficace bonifica antimurina è pertanto essenziale suddividere l'intera operazione nelle seguenti fasi:

- a** - *ricognizione e tracciatura*, consistente nell' individuazione dei luoghi maggiormente frequentati, come i punti di passaggio (in particolare quelli obbligati) ed i punti di alimentazione, facilmente individuabili dalla maggiore presenza di escrementi;
- b** - *"pre-baiting" o precontrollo*, con l' uso di esche non tossiche, per individuare le preferenze alimentari e, in base al consumo di esca, la densità di popolazione;
- c** - *messa in opera dell' esca avvelenata* con



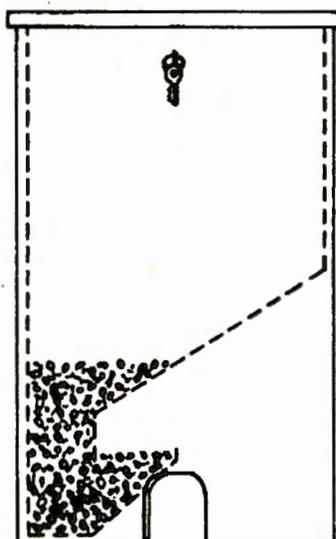
Rattus norvegicus Berck

Nota comunemente come "ratto di fogna" o "surmolotto", vive a stretto contatto dell' uomo infestando ambienti urbani, industriali e agricoli. Questa specie è più repulsiva e più dannosa della precedente per la trasmissione di patogeni. Qui di seguito si fa particolare riferimento ad interventi contro questi infestanti nelle aree verdi urbane e nelle discariche comunali. Per migliorare l' efficacia, la rapidità e la sicurezza della derattizzazione negli ambienti appena citati, si suggerisce la seguente strategia:

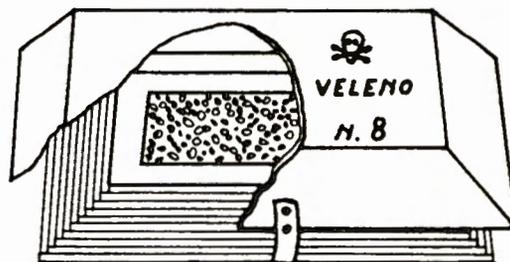
- a** - *indagine preliminare*: sopralluoghi da parte di personale provvisto di adeguate conoscenze sulla biologia e sul comportamento sia del ratto che delle specie da salvaguardare. Viene redatta una mappa degli insediamenti stabili, dei luoghi di alimentazione, delle piste di spostamento, ecc.;
- b** - *notificazione intervento e divieti*: recinzione della superficie interessata al trattamento e apposizione di cartelli che facciano divieto a

chiunque di accedere nell' area;

- c - *scelta dell' esca base*: di importanza fondamentale, è mirata all' individuazione dell' esca da impiegare. Questa dovrà essere più appetibile dei cibi presenti nell' ambiente, economica, di facile impiego, di giusta taglia, ecc. E' opportuno preparare le esche estemporaneamente, non ricorrendo ai normali prodotti confezionati; buona riuscita danno generalmente le cariossidi di frumento tenero;
- d - *scelta del principio attivo*: sono da preferire i rodenticidi anticoagulanti di recente sintesi, quali Chlorophacinone, Bromadiolone, Brodifacoun, Difenacoun, ecc. Questi principi attivi, dotati di elevata appetibilità, permettono di abbattere la maggior parte della popolazione entro i primi 10 giorni, anziché i 20 giorni richiesti dai vecchi rodenticidi. La maggior rapidità riduce lo spreco di esca e la possibilità dell' insorgenza di fenomeni di resistenza, ma soprattutto riduce la permanenza del tossico nell' ambiente e, quindi, i rischi di avvelenamento per le altre specie;
- e - *"pre-baiting" o preappastaggio*: distribuzione di esca non trattata nei punti individuati nell' indagine preliminare e nei quali verrà in seguito collocata l' esca trattata. E' una fase molto utile per verificare l' appetibilità delle varie esche e i punti di maggior consumo, permettendo quindi di ridurre al minimo le postazioni di distribuzione del tossico nell' ambiente. La quantità di cibo consumata (e reintegrata) giornalmente fornisce una stima del numero di roditori presenti nell' area;
- f - *collocazione dell' esca avvelenata*, avendo cura di provvedere, tramite controlli giornalieri su tutte le poste, al reintegro dell' esca consumata. Ogni posta dovrà essere protetta per tutto il periodo della derattizzazione con materiale vario che si può rinvenire sul posto o con appositi ricoveri, di varie forme e dimensioni, reperibili in commercio (vedi figura). Queste precauzio-



RAT PERMANENT STATION (a sinistra) e RAT STATION (sotto)



ni sono indispensabili per impedire ad altri animali di accedere alla posta e di nutrirsi dell' esca trattata;

- g - *recupero dell' esca residua e delle carogne*: la raccolta delle carogne potrà iniziare dal 3°-4° giorno dopo l' inizio del trattamento e continuare per altrettanti giorni dopo la conclusione. Le carogne vanno eliminate (incenerimento) per impedire inconvenienti di avvelenamento secondario di altre specie; anche i residui di esca trattata rimasti nelle poste e quelli disseminati nelle immediate vicinanze ad opera dei ratti vanno raccolti.

CONCLUSIONI

Nel ribadire l' importanza dell' interezza degli schemi operativi proposti, bisogna purtroppo constatare che questi vengono rara-

mente rispettati dalle ditte di derattizzazione; ciò rende sempre più urgente la necessità che gli enti di controllo pubblico (USL, Comuni) si dotino di personale qualificato, atto a dirigere e controllare la correttezza di tali operazioni. L'affrettato espletamento o la mancata esecuzione di alcune delle fasi indicate si traducono infatti nell'avvelenamento diretto o secondario di altre specie animali (domestiche o selvatiche) e in accresciuti rischi per l'uomo.

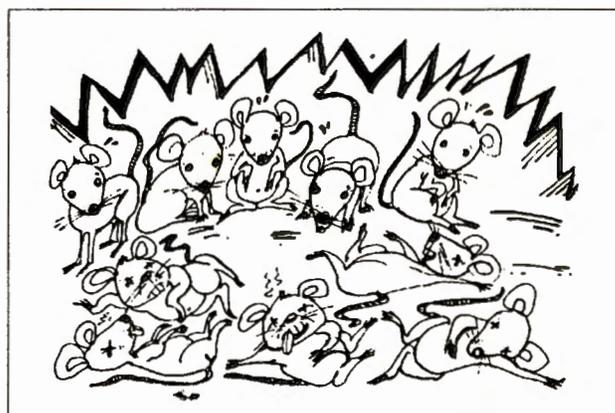
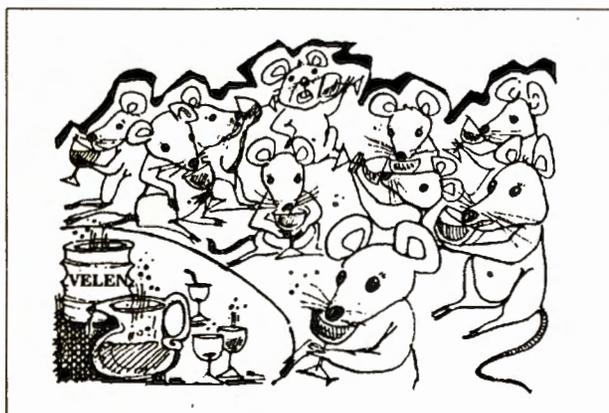
I criteri sinteticamente esposti, seppure con qualche piccolo adattamento, possono essere impiegati anche in altri biotopi. Affinchè la derattizzazione fornisca risultati duraturi è indispensabile non limitarsi ad interventi sporadici, ma operare secondo un programma organico che preveda il mappaggio particolareggiato del territorio, il monitoraggio delle popolazioni murine, l'individuazione di postazioni permanenti di esca trattata, l'alternanza dei principi attivi, ecc.

Nell'ambito di questo programma assumono un'importanza decisiva tutte le misure preventive rivolte alla sanificazione dell'ambiente e ad ostacolare la colonizzazione murina degli ambienti antropici. Premesse indispensabili alla vera e propria derattizzazione sono quindi l'allontanamento dei rifiuti, la riduzione dei loro tempi di permanenza nelle strade (specialmente nelle ore notturne), l'accurata pulizia del territorio, l'eliminazione dei rifugi, l'adozione di dispositivi atti a rendere inaccessibili ai roditori i depositi di derrate

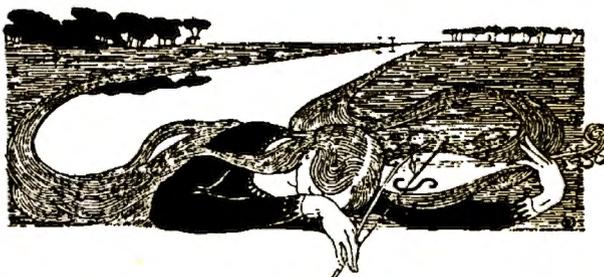
alimentari, ecc.; è necessaria, in altre parole, una rigorosa igiene urbana. Alla necessità di personale veramente qualificato per la lotta antimurina occorre quindi affiancare un'opera di informazione e di sensibilizzazione della popolazione affinché, resa cosciente dell'importanza sanitaria del problema e dei principi elementari di lotta e di prevenzione, possano essere evitati quegli errati comportamenti diffusi che rischiano di vanificare in partenza l'efficacia nel tempo della derattizzazione.

BIBLIOGRAFIA

- ANNALE P., GIANCACCCHI U., 1987. Il controllo dei roditori nocivi nelle aree verdi urbane. Esperienze di lotta chimica nella pineta di ponente di Viareggio (1984-1986).
Comune di Viareggio, Assess. all' Ecologia. Quaderni di ecologia/1. Ediz. Dedalus.
- SANTINI L., 1983. I roditori italiani di interesse agrario e forestale.
CNR, AQ/1/232, Padova.
- SANTINI L., CROVETTI A., MALFATTI P., CHESI F., 1985. Contributo al controllo di roditori nocivi alle aree urbane e suburbane. I. Bonifica delle discariche di rifiuti solidi da *Rattus norvegicus* Berck (Rodentia Muridae).
REDIA, vol LXVIII, 1985: 523-570, Firenze
- SANTINI L., 1985. Lotta chimica ai ratti nelle discariche e nelle aree verdi urbane con criteri per la salvaguardia delle specie non bersaglio.
Ecologia (atti II Congr. S.IT.E., Padova, 25-30 giu. 1984), tomo II: 799-804.



ABSTRACTS



Monografia sull' INGEGNERIA FLUVIALE

a cura di G. Sansoni

- [65] 1- Channellization: a case study
- [66] 2- Impact of mining gravel from urban stream beds in the Southwestern United States
- [67] 3- Hydrogeomorphology: how applied should we become ?
- [68] 4- Fluvial geomorphology: less uncertainty and more practical application ?
- [69] 5- To determine the significance of wing dams, riprap and sand as fishery habitat
- [70] 6- Channellization: a search for a better way
- [71] 7- River channel inventory, habitat and instream flow assessment
- [72] 8- River channellization: traditional engineering methods, physical consequences and alternative practices

J.W.EMERSON

Channellization: a case study

Science, v. 173, july : 325-326, 1971

[65]

La canalizzazione è sempre accompagnata da una rettifica del tracciato: l' accorciamento del percorso e il più rapido allontanamento a valle delle acque riducono localmente le esondazioni. Gli effetti negativi della canalizzazione sui popolamenti ittici e sulle funzioni paesaggistica e ricreativa sono stati ampiamente descritti; ben poco rilievo, invece, è stato dato ai cambiamenti della geometria dell' alveo. L' autore riporta un caso di erosione accelerata innescato dall' aumento di pendenza conseguente alla canalizzazione.

Il Blackwater River, nel Missouri, aveva all' inizio del secolo una media di 1,8 meandri/km, di 60-140 m di raggio; la larghezza media, stimata dalla misura dei vecchi ponti, era 20 m (15-30 m). Nel 1910 un lungo tratto (53,6 km) è stato canalizzato e rettificato, accorciando così il percorso di ben 24,6 km; ciò ha comportato quasi il raddoppio della pendenza, che è passata dall' 1,67 al 3,1 per mille. L' accresciuta

velocità della corrente ha innescato un forte processo erosivo verticale e laterale, favorito anche dalla scarsa coerenza del terreno.

Nel corso di 60 anni la larghezza alla sommità del nuovo canale artificiale è passata dagli originari 9 m agli attuali 60-70 m, la larghezza al fondo da 1 a 10-20 m e la profondità da 3,8 a 10 m; l' area della sezione trasversale è aumentata fino al 1.000%. I ponti hanno dovuto essere prolungati più volte e il processo erosivo si è esteso anche agli affluenti e a monte del tratto canalizzato.

La densità dei macroinvertebrati si è ridotta mentre la fauna ittica è scesa a 51 kg/acro, contro i 256 kg/acro dei tratti non canalizzati. Al termine del tratto canalizzato (la canalizzazione non è stata proseguita per la diversa natura del terreno, più resistente allo scavo) la sezione si restringe sensibilmente e si verificano frequentissime esondazioni, quasi sconosciute prima della canalizzazione.

G.S.

W.B. BULL, K.M. SCOTT

Impact of mining gravel from urban stream beds in the Southwestern United States

Geology, april: 171-174, 1974

[66]

L' effetto complessivo dell' urbanizzazione è una accentuazione delle piene e delle magre fluviali (vedi tabella). Le escavazioni di inerti

fluviali, abbassando l' alveo, determinano lo scalzamento dei piloni dei ponti e rendono le rive più suscettibili all' erosione mentre, ab-

bassando il pelo libero dell' acqua, riducono la ricarica delle falde idriche.

La sedimentazione di particelle argillose sul fondo di buche di escavazione, formando strati impermeabili, riduce fortemente gli scambi idrici tra il fiume e la falda, anche dopo che le buche stesse sono state colmate dall' apporto di nuovi inerti.

Le escavazioni in alvei abbandonati (ad es. meandro abbandonato di un fiume o ramo morto di una conoide), apparentemente in-

nocue, possono favorirne, in occasione di piene eccezionali, la riattivazione; ciò può determinare gravi danni a persone e cose nelle adiacenti aree inondabili, spesso urbanizzate perchè ritenute sicure.

L' autore propone di monitorare i cambiamenti geomorfologici degli alvei fluviali conseguenti alle escavazioni, da realizzare con sopralluoghi periodici (specialmente dopo ogni piena) e con semplici metodologie.

G.S.

TABLE 1. EFFECTS OF URBAN ACTIVITIES ON WATER AND SEDIMENT DISCHARGE IN EPHEMERAL STREAMS

URBAN ACTIVITY	EFFECT ON STREAM DISCHARGE				OTHER EFFECTS
	Water		Sediment		
	Flood peaks	Base flow	Suspended load	Bed load	
Exposure and disturbance of soil during construction	Increase	Decrease	Increase	Increase	Decreased vegetation and aesthetic values
Construction of impervious surfaces (streets, parking lots, buildings)	Increase	Decrease	Decrease or increase	Decrease or increase	Increased rate of conveyance of water to stream channels; sediment load decreases in areas of impervious surfaces, but increase in flood peaks also increases potential sediment discharge downstream, where flow passes through reaches where abundant sediment is available
Planting of gardens, lawns, and parks	Decrease	Increase	Decrease	Decrease	Increased aesthetic values
Construction of unlined storm drains	Increase	Decrease	Decrease and increase	Decrease or increase	Decreased recharge to ground water; increased rate of conveyance of water to streams; effect on sediment is variable, as with activity 2
Lowering of ground-water table	Decrease	Decrease	Minimal change	Minimal change	Decreased vegetation along streams; increased recharge to ground water
Mining of stream-bed sand and gravel	Minimal change	Minimal change	Minimal change	Decrease	Lowering of stream bed; decreased extent of flooding; increased bank erosion; decreased recharge to ground water

K.J. GREGORY

Hydrogeomorphology: how applied should we become?

Progress in Physical Geography, v. 3(a): 84-101, 1979

[67]

Questo lavoro intende stimolare il dibattito sugli orientamenti di ricerca dell'idrogeomorfologia fluviale, della quale vengono individuate tre tappe di sviluppo. Nella prima fase (anni '60) si assiste ad una crescita della disciplina: si acquisiscono numerosi dati idrologici, si attrezzano con strumenti di misura piccoli bacini per indagare sui processi fluviali, si studiano la morfologia del bacino, la geometria del reticolo idrografico e dell'alveo e la dinamica del ruscellamento e della sedimentazione. Assieme all'emergere della consapevolezza dei limiti di tale approccio (ad es. i dati ed i processi ricavati dallo studio di piccoli bacini non risultano estrapolabili a grandi bacini) compaiono tendenze più applicative che vengono poi sviluppate negli anni '70: relazioni tra portate e sezione trasversale, tra portata e sviluppo del reticolo idrografico e altre, che conducono ad una migliore comprensione delle dinamiche del bacino.

Gli anni '70 vedono crescere l'interesse per lo studio delle variazioni temporali: cambiamenti della morfologia fluviale a breve e lungo termine (es. paleoidrologia), studi sperimentali sull'erosione, analisi degli effetti degli eventi rari (es. grandi piene), studio comparato di mappe fluviali recenti e passate, riconoscimento dell'importanza delle condizioni-soglia (es. di energia) per l'innescio dei processi morfogenetici, concetti di erosione periodica ed episodica e di cambiamenti autogenici e allogeni, ecc.

Emerge intanto la rilevanza dell'impatto delle attività umane sui sistemi fluviali mentre lo studio dei cambiamenti ad esse conseguenti viene affrontato dal livello di microscala (stu-

dio dei singoli depositi sedimentari dell'alveo), a quello di scala intermedia (geometria della sezione trasversale e dell'andamento planare dell'alveo) e di macroscale (ripercussioni sull'intero reticolo idrografico). Viene iniziato lo studio dei tempi di reazione agli interventi antropici e dei tempi necessari al raggiungimento di un nuovo assetto d'equilibrio.

La terza fase (anni '80), caratterizzata da un notevole sforzo applicativo, si realizza tramite due approcci complementari: l'uno, geomorfologico postdittivo, utilizza lo studio dei cambiamenti morfologici per elaborare modelli più affinati mentre l'altro è centrato direttamente sulla predizione dei cambiamenti. Una maggior attenzione viene rivolta non solo agli effetti indotti localmente dalle opere fluviali (es. dighe, arginature), ma anche a quelle conseguenze meno scontate e meno drammatiche che si ripercuotono però sull'intero bacino.

L'ingegneria fluviale, identificando le zone ad incipiente instabilità, genera la scuola di pensiero mirante a redigere piani di stabilizzazione dei fiumi senza ricorrere alla costruzione di opere ingegneristiche. Per queste ultime si raccomanda di verificare la loro effettiva necessità ed efficacia, di individuare la localizzazione e gli accorgimenti che ne minimizzino l'impatto ambientale e di considerare fin dalla fase di progettazione le loro ripercussioni sul reticolo idrografico e sul territorio.

E' intendimento dell'autore portare un contributo al dibattito tra fautori delle soluzioni ingegneristiche e fautori dell'applicazione di quegli espedienti che richiedono di "lavorare con la natura".

G.S.

K.J. GREGORY

Fluvial geomorphology: less uncertainty and more practical application?*Progress in Physical Geography, v. 6: 427-438, 1982*

[68]

Vengono passate in rassegna le recenti acquisizioni e i nuovi orientamenti teorici e pratici della ricerca geomorfologica fluviale. Il vecchio approccio della geometria idraulica, mirante a spiegare la morfologia fluviale sulla base di alcuni indici del regime idrologico e delle caratteristiche dei sedimenti, rende conto solo del 50% della variabilità statistica osservata (del 30% per alcuni parametri: sinuosità e indice di anastomosi). La sensibile influenza esercitata dalla vegetazione della piana alluvionale, dal tipo di apparato radicale e da altri fattori (affioramenti rocciosi, variazioni delle caratteristiche delle sponde, esatta sequenza delle piene) rende solo semi-deterministico l'approccio della geometria idraulica.

Un approccio alternativo allo studio dei processi fluviali continua a basarsi sull'analisi granulometrica del substrato e sugli accumuli di sedimenti. Ad es. è stato osservato che i sedimenti nei raschi sono più grossolani, meglio classati e meno arrotondati di quelli nelle buche; ciò viene attribuito alle diverse velocità e sforzo di taglio nei due ambienti in regime di piena. E' stato proposto un modello di formazione dei banchi ghiaioso-sabbiosi in cui i ciottoli sedimentano negli strati superficiali e la sabbia in quelli sottostanti, potendo depositarsi al di sotto dei ciottoli per infiltrazione.

Una migliore comprensione dello sviluppo planare dei corsi d'acqua deriva dalla redazione di mappe della potenza fluviale: una elevata sinuosità è connessa a valori molto bassi di sforzo di taglio (ricavabile, per ciascun fiume, dal diagramma portata-pendenza) mentre valori più alti sono associati ai canali anastomati.

Recenti osservazioni enfatizzano il ruolo della vegetazione nell'evoluzione morfologica fluviale: le barre si concentrano attorno agli alberi morti, che si dispongono parallelamente alla corrente e con l'apparato radicale rivolto a monte; i detriti vegetali, favorendo l'accumulo dei sedimenti, rappresentano uno dei maggiori ostacoli all'applicazione delle leggi fisiche e delle teorie sul trasporto dei sedimenti. L'ecologia degli ambienti fluviali si rivela un importante fattore nel determinarne l'evoluzione morfologica.

Contributi interessanti vengono dagli studi paleoidrologici, basati sull'analisi dei sedimenti, della morfologia e dei processi fluviali. Studi stratigrafici, sedimentologici e datazioni al radiocarbonio hanno permesso di ricostruire sequenze di piene degli ultimi 100.000 anni mentre dall'esame della paleomorfologia fluviale e della densità dei paleoreticoli idrografici sono state calcolate le paleoportate medie annue (4-10 volte superiori alle attuali).

Una maggiore attenzione viene oggi prestata all'impatto idrogeomorfologico di alcune opere di regimazione (es. bacini, derivazioni). L'urbanizzazione ha ridotto la disponibilità di aree inondabili ed ha accentuato le punte di piena, con conseguente aumento dell'erosione e approfondimento e allargamento dell'alveo; viene sottolineata la necessità di misure volte a scoraggiare le opere che incrementano la velocità dell'acqua (es. urbanizzazione e conseguente impermeabilizzazione dei suoli, reti fognarie, drenaggi, canalizzazioni, rettifiche, disboscamenti: *n.d.r.*).

Nuove concezioni enfatizzano l'importanza di considerare la pianura alluvionale come

parte integrante del sistema fluviale, mentre vengono sviluppati modelli di valutazione della sua capacità di immagazzinamento delle portate che eccedono la capacità del fiume. Sono allo studio equazioni empiriche, di grande in-

teresse pratico, per calcolare un indice di stabilità dei corsi d'acqua canalizzati: in esse assume una notevole importanza la presenza della vegetazione riparia.

G.S.

W.B. FERNHOLZ

To determine the significance of wing dams, riprap and sand as fishery habitat

Mississippi River Work Unit Annual Report. Wisconsin Department of Natural Resources, La Crosse, 1979 [69]

Il tratto superiore del Mississippi, presso La Crosse, ha una morfologia molto accidentata: al canale navigabile, le cui rive sono stabilizzate da 110 pennelli sommersi in pietrame e da circa 25 km di arginature in pietrame, si accompagna una fitta rete di canali laterali, isole fluviali, stagni, paludi. Per valutare l' idoneità per l' ittiofauna di alcuni habitat vengono prescelti tratti di 300 metri di pennelli, di arginature e di banchi sabbiosi, situati in siti simili per altri parametri (velocità della corrente, vicinanza alle acque profonde, assenza di altri tipi di habitat, ecc.). In ogni tipo di habitat sono stati effettuati con l' elettrostorditore 9 campionamenti diurni dell' ittiofauna e 10 notturni.

Nell' habitat sabbioso vengono catturati pesci di minore taglia: nelle ore notturne risulta più elevato sia il numero di individui che quello di specie. Ciò indica che la sabbia è scarsamente utilizzata come ricovero ed è frequentata, principalmente per l' alimentazione, da varie specie provenienti da altri ambienti.

Le arginature in pietrame si rivelano un habitat favorevole per l' ittiofauna, ospitando il

maggior numero di specie (26); le cavità irregolari tra i massi, fornendo rifugio dalla corrente e protezione dai predatori, svolgono la funzione di nursery e di area di allevamento per molte specie gradite ai pescatori sportivi.

I pennelli in pietrame, sommersi di circa 1 m sotto il pelo dell' acqua, rappresentano aree di alimentazione per i pesci di maggior taglia, fornendo l' accesso alle acque profonde e protette dalla corrente.

Il lavoro conclude che gli ambienti in pietrame (pennelli e arginature) sono un habitat favorevole per la riproduzione, lo sviluppo e l' alimentazione delle specie ittiche, particolarmente di quelle più ricercate dai pescatori, mentre i banchi sabbiosi, inidonei come area di rifugio, sono frequentati prevalentemente nelle ore notturne a scopo alimentare. I risultati confermano osservazioni precedenti di biologi e di pescatori che, a seguito dell' intasamento delle cavità tra il pietrame determinato dalla sabbia di dragaggio del canale navigabile, avevano notato una sensibile diminuzione di pescosità.

G.S.

E.A. KELLER

Channellization: a search for a better way*Geology, may: 246-248, 1975*

[70]

La canalizzazione viene spesso realizzata uniformando la pendenza dell'alveo e la sezione trasversale (trapezoidale) e rettificando parzialmente o totalmente il tracciato. Queste condizioni innaturali comportano la distruzione degli habitat acquatici e di quelli terrestri ripari, la riduzione della diversità e della biomassa degli organismi acquatici, la degradazione della funzione paesaggistica e processi geomorfologici indesiderati (erosione in alcuni casi, colmamento in altri).

Per minimizzare gli effetti avversi della canalizzazione l'autore suggerisce alcuni accorgimenti costruttivi tratti dallo studio della morfologia dei canali naturali. Per analogia con

questa, viene consigliata la creazione di una successione di buche allungate (*pools*), distanziate di 6 volte la larghezza del canale e poste alternativamente presso la riva destra e sinistra, in modo da costringere il filone principale della corrente ad un percorso sinuoso (vedi figura). La successione di buche e dei raschi (*riffle*, piccole rapide) tra esse interposti aumenta la stabilità morfologica del canale, riduce i danni ai popolamenti acquatici e migliora l'aspetto paesaggistico.

I criteri costruttivi suggeriti risultano applicabili a canali con alveo ciottoloso larghi 25 m (o più larghi nel caso di discreta portata liquida) e con pendenza 1,5-5 per mille. Nel caso di alveo sabbioso, invece, la sinuosità del talweg (condizione necessaria alla formazione e al mantenimento di buche e di raschi) si verifica per pendenze comprese tra il 2 e il 15 per mille.

Qualora la canalizzazione, anziché al drenaggio del terreno, sia finalizzata alla protezione dalle esondazioni di piene a lungo tempo di ritorno (es. cinquantennali), i criteri progettuali devono essere modificati. Viene suggerita allora, all'interno del canale di piena, la costruzione di un "canale pilota" (dotato di buche e di raschi) entro il quale scorrono abitualmente le acque. Con un'opportuno rimboschimento, l'alveo del canale di piena (occupato dalle acque solo in circostanze eccezionali) risulta difficilmente percepibile ad un osservatore non esperto e non deturpa quindi sensibilmente l'aspetto paesaggistico, mentre continua a svolgere in buona parte la funzione di habitat per le specie animali riparie.

G.S.

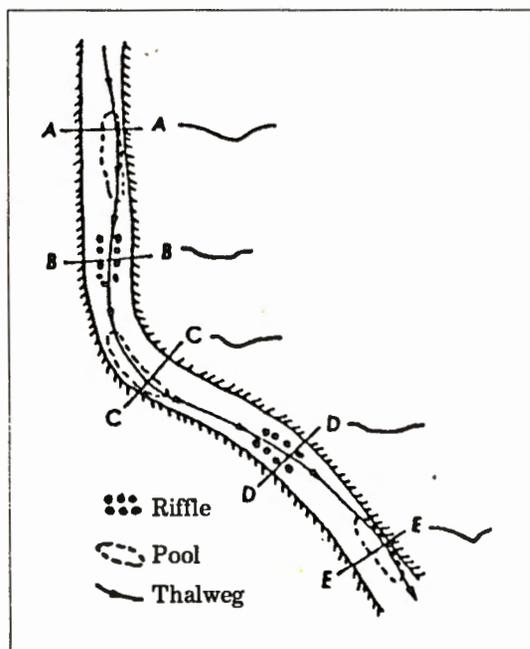


Figure 2.
Idealized diagram showing pools and riffles and alternating asymmetric and symmetric cross-channel profiles.

M.P. MOSLEY

River channel inventory, habitat and instream flow assessment*Progress in Physical Geography, v. 10: 494-523, 1986*

[71]

Nei paesi industrializzati, accanto ai tradizionali usi dell'acqua (irriguo, idroelettrico, civile, industriale), si registra una crescente domanda di usi "fluviali" che, anziché la sottrazione d'acqua, ne richiedono il mantenimento in alveo a scopo ricreativo, paesaggistico o come habitat per i pesci, l'avifauna ed altri animali acquatici. Scopo del lavoro è fare il punto sullo stato dell'arte dei metodi di stima della portata minima fluviale necessaria a soddisfare tale domanda.

Vengono passati in rassegna i principali parametri (larghezza dell'alveo, profondità e trasparenza dell'acqua, velocità della corrente, natura del substrato, contorno paesaggistico, natura e densità della vegetazione riparia, accessibilità, ecc.) che permettono di definire e quantificare le vocazioni ricreative dell'ambiente fluviale.

Per quantificare la vocazione ittiofaunistica è stato proposto un largo spettro di parametri (profondità, ampiezza, velocità, temperatura, trasparenza, ossigeno disciolto, nutrienti, ricoveri, disponibilità alimentari, substrato, morfologia, variazioni annue di portata, frequenza delle piene, vegetazione acquatica, ecc.). In linea di massima, tuttavia, data un'adeguata qualità dell'acqua, la distribuzione e la biomassa dei pesci e degli invertebrati acquatici sono condizionate in primo luogo dal regime delle portate e da altri fattori ad esso associati (velocità, profondità, substrato, ricoveri).

I dati sulle preferenze di habitat di ciascuna specie ittica vengono raccolti in base all'osservazione diretta (es. con maschera e respiratore) o con elettrostorditore e successiva misurazione dei parametri fisici (profondità, velocità, ecc.). Una notevole riduzione dell'indagabilità del metodo può essere ottenuta

selezionando, per ciascuna attività, una specie "indicatrice" (quella col più ristretto intervallo di tolleranza dei parametri ambientali), basandosi sul presupposto che se l'ambiente è favorevole per queste specie più sensibili lo sarà anche per quelle più tolleranti. Sebbene i requisiti e le preferenze di habitat varino con la specie, con lo stadio vitale e con il tipo di attività (es. sosta, alimentazione, riproduzione), la profondità minima e la velocità massima tollerabili sono ampiamente correlati alle dimensioni corporee.

Le procedure di valutazione dell'idoneità ambientale per l'avifauna ed altre specie più o meno legate all'ambiente fluviale si basano sull'individuazione e sulla misura della superficie dei microhabitat critici limitanti per ciascuna specie e ciascuna attività (es. banchi ghiaiosi, bassifondi, lanche, ecc.).

Le metodologie di valutazione possono essere suddivise in tre gruppi: metodi della portata, dell'habitat e della risposta biologica. Il primo gruppo, il più semplice e meno laborioso, fissa la portata minima che deve essere mantenuta nell'alveo in una determinata percentuale della portata media annua in quel sito (o delle portate medie mensili o nella portata di magra naturale o in un dato percentile di una curva di portata).

I metodi degli habitat, a differenza dei precedenti, richiedono l'esecuzione di misure morfologiche sul campo (larghezza delle buche e dei raschi, profondità e velocità dell'acqua, ecc.); talora viene stimata la "qualità delle buche" e calcolato un indice di habitat globale. Come portata minima da mantenere in alveo viene prescelta quella portata che garantisce la salvaguardia di una certa percentuale degli habitat, o quella corrispondente al punto di

flesso di una curva portata-parametro ambientale (in cui la riduzione di portata comporta una rapida diminuzione dell' habitat idoneo all' obiettivo prefissato).

I metodi delle risposte biologiche, una volta individuati i requisiti di idoneità ambientale (es. l' intervallo di profondità e di velocità dell' acqua) per determinate specie e determinate attività (es. riproduzione), prevedono il mappaggio delle aree idonee in varie condizioni di portata. Graficando l' area idonea contro la portata è possibile ricavare indicazioni sulla portata ottimale. Un approccio simile può essere utilizzato per stimare qual è la portata minima alla quale i raschi diventano non risalibili da parte dei pesci migratori. L' approccio può essere affinato utilizzando per ciascun parametro un indice di idoneità dell' habitat (anziché il criterio idoneo-non idoneo) che tiene conto ad es. della disponibilità di ricoveri per l' ittiofauna, della vegetazione riparia, della sottoescavazione delle rive. Tali indici, calcolati per diverse portate, permettono di stabilire la portata ottimale per la maggioranza

delle specie o per le specie più critiche o per i vari stadi di sviluppo.

I metodi visti richiedono un ben diverso dettaglio di informazioni: dai soli dati idrologici (ottenibili anche a tavolino) per i metodi delle portate, a quelli idrologici e morfologici (ottenibili da misurazioni sul campo) per i metodi degli habitat, a quelli idrologici, morfologici e biologici (che richiedono la conoscenza o lo studio delle preferenze ambientali di ciascuna specie, stadio vitale e attività) per i metodi delle risposte biologiche. La scelta del metodo dipende innanzitutto dall' entità delle modifiche ambientali prevedibili a seguito dello sfruttamento dell' acqua fluviale progettato.

Una interessante applicazione di tali metodi appare la valutazione dell' impatto di alcune opere di ingegneria fluviale che, pur non comportando sottrazione d' acqua, alterano i microhabitat disponibili come, ad esempio, lo spianamento dell' alveo spesso associato alla costruzione di arginature (*n.d.r.*).

G.S.

A. BROOKES

River channellization: traditional engineering methods, physical consequences and alternative practices

Progress in Physical Geography, v. 9(a): 44-73, 1985

[72]

Dopo una precisazione terminologica e metodologica dei principali tipi di interventi fluviali (risagomature, rettifiche del tracciato, arginature, difese spondali, ecc.) vengono passate in rassegna le modificazioni morfologiche, le conseguenze idrologiche e l' impatto biologico delle canalizzazioni.

Le conseguenze morfologiche più drammatiche si registrano a seguito delle rettifiche fluviali che, aumentando la pendenza e la velocità della corrente, possono innescare vi-

stosi processi di erosione accelerata. Gradualmente nei tratti rettificati si osserva la tendenza spontanea alla ricostituzione della sinuosità. I canali eccessivamente allargati, dimensionati per contenere un determinato flusso di piena, non sono in equilibrio con il normale intervallo di flusso e sono quindi morfologicamente instabili: la ridotta velocità della corrente favorisce infatti la sedimentazione e i depositi vengono consolidati dalla vegetazione.

Le arginature sopraelevate, confinando nell'alveo portate più elevate (cui sono associate velocità ed energie più elevate) possono provocare una forte erosione dell'alveo, soprattutto se ne viene intaccato lo strato protettivo di materiali grossolani che si seleziona naturalmente sul fondo. Le variazioni morfologiche non restano confinate al tratto canalizzato, ma si estendono sia a monte che a valle di esso. La protezione locale dalle esondazioni riduce i tempi di ritenzione delle acque (in precedenza immagazzinate nelle aree inondabili), ne accrece la velocità ed accentua la torrenzialità del regime idrologico; ciò favorisce (generalmente) od ostacola (più raramente) le inondazioni a valle, a seconda che le punte di piena degli affluenti confluiscono nell'asta principale con maggior sincronia o più sfalsate.

L'impatto biologico delle canalizzazioni è connesso alla distruzione della varietà dei microambienti e ad eventuali fattori di disturbo aggiuntivi (es. instabilità del substrato e aumento della torbidità).

Tralasciando dichiaratamente le alternative non strutturali alla canalizzazione (es. sistemi di previsione delle piene e di allarme), vengono passati in rassegna i metodi alternativi di canalizzazione realizzati in vari paesi ed ispirati a "progettare con la natura" anziché contro di essa.

Un primo approccio, quello dell'ingegneria biotecnica, è fondato sull'emulazione della morfologia naturale (sinuosità, profilo asimmetrico) e sulla salvaguardia o creazione di habitat per la flora e la fauna; particolare attenzione viene rivolta all'impiego della vegetazione per la protezione delle rive dall'erosione. A tale scopo viene suggerita la creazione di 4 zone di vegetazione: quella delle piante acquatiche (che riduce la velocità della corrente e quindi la forza erosiva), il canneto, la zona riparia di alberi a legno tenero (salici, pioppi) e, a maggior distanza dalle rive, quella degli alberi a legno duro. In alcuni paesi l'ombreggiamento dei canali con alberi ripari è utilizzato come efficace alternativa al controllo chimico o mec-

canico dell'eccessivo sviluppo delle piante acquatiche.

Un secondo insieme di alternative è di tipo morfologico: particolare attenzione viene rivolta alla conservazione o ricostruzione dei meandri e alla realizzazione di un profilo trasversale asimmetrico. La diversa pendenza delle due rive e l'andamento a zig-zag del filone principale della corrente favoriscono la formazione di buche oblunghe e di raschi e, quindi, la diversità ambientale. Come alternativa all'eccessivo allargamento dell'alveo viene suggerita la realizzazione di un canale a due stadi in modo che il flusso normale continui a scorrere nell'alveo originario, lasciato indisturbato, mentre le portate eccezionali vengono accolte nel canale di piena, ottenuto a spese dei terreni ripari o costruendo su di essi argini sopraelevati.

Un terzo approccio è mirato ad incrementare la diversità ambientale utilizzando vari dispositivi. Deflettori di corrente possono essere utilizzati (in sostituzione dell'escavazione) per indirizzare la corrente verso un accumulo di sedimenti da eliminare oppure per creare un restringimento della sezione che, aumentando localmente la velocità della corrente, favorisce la creazione, immediatamente a valle, di una buca e di un raschio. Pennelli e deflettori sono stati recentemente impiegati nel Tamigi come alternativa alla manutenzione tradizionale per dragaggio. Piccole briglie possono migliorare l'ambiente canalizzato poichè a valle di esse l'accresciuta velocità della corrente dovuta al maggior dislivello crea una buca e un raschio. Dispositivi fissi o flottanti (rami, ceppi, massi) fissati al fondo o alle rive mediante cavi forniscono ambienti rifugio e incrementano la produttività ittica. In alcuni stati americani è stato sviluppato il concetto di "restauro" ambientale dei canali, mirato al ripristino di condizioni che si avvicinano alla naturalità e realizzato con utensili manovrati a mano, rinunciando all'impiego di macchine pesanti.

G.S.

SEGNALAZIONI



A. BROOKES

RECOMMENDATIONS BEARING ON THE SINUOSITY OF DANISH STREAM CHANNELS

Ed. National Agency of Environmental Protection, nov 1984.

Ben il 97,8% dei 40.000 km di reticolo idrografico danese, privo di grandi fiumi e costituito essenzialmente da modesti corsi d'acqua, è stato canalizzato e, per lo più, rettificato. Il generalizzato deterioramento della qualità biologica, morfologica e paesaggistica ha condotto nell'ultimo decennio all'emanazione di leggi mirate alla ricostituzione della morfologia naturale (compresa la sinuosità del tracciato) degli ambienti di acque correnti.

Il libro illustra le conseguenze fisiche della canalizzazione (aumentata pendenza, abbassamento dell'alveo, alterazione della granulometria del substrato, erosione verticale e laterale, sedimentazione, riassetamenti morfologici, ecc.), il suo impatto biologico (danni alla fauna ittica e macrobentonica per alterazione del substrato, sua instabilità, accresciuta uniformità, torbidità dell'acqua, eccessiva illuminazione e temperatura, scarsità di microambienti idonei al rifugio e alla riproduzione, eccessiva velocità in condizioni di piena, ecc.) e le ripercussioni morfologiche a

monte e a valle del tratto canalizzato.

Vengono poi descritte le principali caratteristiche morfologiche dei corsi d'acqua naturali e l'importanza che esse rivestono per la flora e la fauna acquatiche: sinuosità, asimmetria del profilo trasversale, successione di buche, calme (zone di sedimentazione laterale) e raschi (piccole rapide), eterogeneità del substrato e altre irregolarità morfologiche meno stabili nel tempo. Vengono commentati i risultati del censimento delle caratteristiche morfologiche dell'intero reticolo idrografico danese (canalizzazioni, rettifiche, forte riduzione del reticolo superficiale a favore dei canali sotterranei intubati, variazioni della sezione, della portata, dell'energia, ecc.), descritti i diversi tipi di tendenze morfologiche in esso individuabili e, per ciascun tipo, suggeriti gli accorgimenti mirati al ripristino delle condizioni naturali o ad un miglioramento della qualità biologica e paesaggistica.

Un capitolo è dedicato alle alternative tecniche ai tradizionali metodi di canalizzazio-

ne: - l'ingegneria biotecnica, che fa largo uso di difese vegetali vive - le alternative morfologiche, che suggeriscono metodi di ricostruzione artificiale o "guidata" della sequenza buche-raschi e altri accorgimenti (es. canali a due stadi) - i dispositivi che, introdotti nell'alveo, migliorano l'habitat fornendo rifugio agli organismi acquatici o innescando una diversificazione del substrato - le combinazioni di accorgimenti e metodi di restauro ambientale adottate in specifiche aree geografiche.

L'ultimo capitolo è interamente dedicato all'applicazione dei principi generali della rinaturalizzazione alla particolare situazione danese: ne vengono discussi in dettaglio i

problemi, le tecniche costruttive e di manutenzione e alcuni progetti.

L'interessante volume (130 pagine), del quale si raccomanda la lettura per lo spirito innovativo e la ricchezza di spunti e suggerimenti ricalca, con maggiore dovizia di dettagli, i contenuti della pubblicazione dello stesso autore recensita in questo stesso numero del Bollettino. Gli interessati possono ricevere in tempi rapidi il volume scrivendo (in inglese) alla "National Agency of Environmental Protection, Freshwater Laboratory", Lysbrogade 52, DK-8600 Silkeborg, DENMARK.

G.S.

COMITATO PER LA DIFESA E LA RIVALUTAZIONE DEL PO,
ITALIA NOSTRA, LEGA PER L'AMBIENTE, PRO NATURA, WWF

I FIUMI ITALIANI E LE CALAMITA' ARTIFICIALI

Le distruzioni degli ambienti naturali fluviali, operate dagli interventi umani pubblici e privati, aggravano anche le piene e le magre.

Ed. Reg. Piemonte, Ente Riserve Naturali, Garzaia di Valenza, Garzaia di Bosco Marengo, 1988.

Il volumetto suona come un ben documentato "j'accuse" nei confronti del Magistrato del Po e del Ministero dei Lavori Pubblici: il maggiore dei fiumi italiani è aggredito e devastato da un nuovo temibile "affluente", rappresentato da un vero e proprio fiume di miliardi. Dal Po vengono escavati milioni di m³ di ghiaie con le quali si allestiscono cubi di calcestruzzo di circa 1 metro di lato (le "primate") che vengono poi disposti lungo le sponde, alla rinfusa o in interminabili gradinate, per ostacolare quell'erosione e per riempire quei buchi determinati dalle escavazioni stesse.

Ne risultano una rettifica ed un restringimento dell'alveo ed una vera e propria devastazione degli habitat naturali delle rive fluvia-

li e delle zone umide. Le rive divengono inaccessibili barriere di cemento e di rovi, rappresentano un pericolo per i canoisti e pregiudicano la pesca sportiva e gli usi ricreativi.

Le primate, da non confondere con gli argini (che sono sopraelevati e posti a notevole distanza dalle rive), non offrono nessuna protezione dalle esondazioni; anzi, restringendo e rettificando l'alveo, accentuano la frequenza e la violenza delle piene. I terreni sottratti al fiume vengono privatizzati (legalmente e gratuitamente!) e sono spesso sottoposti a pioppicoltura, antieconomica e inquinante. Gli scambi idrici tra fiume e falda vengono ostacolati dal compattamento del terreno determinato dalle primate; la qualità delle acque

Un tratto di sponda del Po, presso Casale Monferrato, nel 1970.



Lo stesso tratto, nel 1985, "protetto" con la messa in opera delle famigerate primate. In questo modo allucinante si stanno artificializzando centinaia di chilometri del Po, persino nelle sponde rettilinee o addirittura in quelle convesse, dove il fiume non erode, ma deposita. In realtà il Po avrebbe bisogno di essere protetto dalle escavazioni, dalle rettifiche, dall'inquinamento e dal cemento.



risulta deteriorata. Molti tratti del Po sono irrimediabilmente deturpati dalle primate, delle quali sono previste interminabili distese, per oltre 1000 km.

In appendice viene riportata un'utile selezione della legislazione vigente in tema di tutela ambientale riguardante i fiumi. Viene proposto anche un fac-simile di esposto alle autorità competenti, che i cittadini possono uti-

lizzare per denunciare le aggressioni agli ambienti fluviali.

Il volumetto, ben corredato da impressionanti fotografie del Po "prima e dopo la cura", può essere richiesto a: "*Riserva Naturale Garzaia di Valenza e di Bosco Marengo*", Cascina Belvedere, SS 494 km 70, 27030 Frascarolo (PV), tel. 0384/84676. Se ne consiglia vivamente la lettura e la divulgazione.

G.S.

PROV. DI ROMA - ASSESSORATO ALL' AMBIENTE, UFFICIO STUDI

ACQUE IMPRIGIONATE

Impatto ambientale ed alternative alla canalizzazione dei corsi d' acqua

Ediz. Coop. Ecologia, via C. Beccaria 84, Roma, 1988 (Pag. 80, L. 10000).

Si tratta di un volumetto dal taglio divulgativo che, dopo un' introduzione ai caratteri fisici dei corsi d' acqua, descrive sinteticamente flora e fauna delle acque correnti e dei terreni ripari. Vengono poi sintetizzati, anche con l' ausilio di diagrammi a blocchi, l' impatto della canalizzazione e delle arginature sugli equilibri idrogeomorfologici e sulle componenti biotiche dell' ambiente fluviale e perfluviiale.

Seguono cenni sulle possibili alternative alla canalizzazione ed un articolo, tratto da *Der Spiegel*, sull' esperienza di rinaturalizzazione dei corsi d' acqua tedeschi. In appendice vengono riportati il "Testo Unico delle disposizioni di legge intorno alle opere idrauliche delle

diverse categorie" (Regio Decreto n. 523 del 1904 e successivi aggiornamenti) e altre disposizioni di legge riguardanti direttamente o in maniera meno immediata gli ambienti fluviali.

Il volumetto, a parte l' appendice legislativa, non risulta di particolare interesse per dei biologi ambientalisti. Tuttavia, proprio il suo intento divulgativo e il fatto che sia stato redatto dall' Assessorato all' Ambiente della capitale, sono un indice significativo di come stia crescendo nel Paese la consapevolezza dei danni ambientali prodotti dall' artificializzazione dei corsi d' acqua e della necessità di tutelare e -ove occorra- ripristinare la loro "naturalità".

G.S.

COMITATO PER LA DIFESA DEL FIUME LEDRA E DEL SUO AMBIENTE

Atti del convegno:

PROGETTO LEDRA

Convegno sulla conservazione e manutenzione degli ecosistemi fluviali

(Buia 29-30 nov. 86)

Per eliminare il pericolo di esondazioni del fiume Ledra (affluente del Tagliamento) nell' agro di Buia (Udine) è stato redatto un progetto di allargamento e approfondimento dell' alveo. Gli atti del convegno riportano gli interventi di relatori delle più svariate professionalità (botanici, zoologi, naturalisti, geologi, sociologi, architetti, ingegneri), in opposizione a tale progetto e, più in generale, all' artificializzazione dei corsi d' acqua.

Tra le relazioni di carattere biologico-naturalistico si segnalano quelle di F. Stoch sulla qualità biologica del Ledra, di R. Parodi sull' avifauna, di G. Damiani sull' impatto ambientale della cementificazione e di G. Perco sulla

gestione economica della fauna. Interessanti, tra le relazioni di diverso carattere, anche quelle di R. Strassoldo sulla tecnica, estetica e sociologia della regolazione delle acque e di G. Sauli sulle tecniche di bioingegneria nel consolidamento e reinserimento ambientale dei corsi d' acqua.

Il volumetto non si limita ad affrontare i problemi del Ledra, ma allarga i propri orizzonti alla conservazione degli ecosistemi fluviali (come indicato nel sottotitolo); può essere richiesto a: *Comitato Ledra, via Caspitello 10, 33100 Buia (Udine); tel 0432/960175-961860.*

G.S.

NOTIZIE



S.I.L. Working Group on Conservation and Management of Lowland Streams

It is proposed that a working group be formed within the Societas Internationalis Limnologiae for the conservation and management of lowland streams.

Historically streams which drain agricultural lands have been deepened and straightened to remove water more efficiently. This results in faster flow of water from the land and allows farmers to plow closer to the stream channel. However, this also minimizes the biological value of the stream, reduces its self cleaning ability, and eliminates streamside vegetation which provides shade, habitat, and wetland areas important for nutrient removal and retention within the watershed. In some areas the problems caused by agricultural runoff have negated the efforts to control surface water eutrofication with sewage treatment facilities.

However, there is scientific information available which shows that streams, if returned to their natural structure and function, can be of far greater service to society. Although the technology and information are available there have not been any large-scale attempts to organize such information into a usable set of guidelines. Lowland agricultural stream conservation is a complex problem since it involves many different areas of expertise within Limnology. It requires changes in land-use patterns, regulatory mechanisms, agricultural practices, and the way society thinks about streams. It remains for the Limnologist to organize this information and then to develop methods for making it available to society.

The aim of the group will be to increase communication between limnologists working on the con-

servation and management of lowland agricultural streams and to address the following:

- 1 - to promote the idea that lowland stream management must be extended from the channel to include the riparian zone and catchment area
- 2 - to implement the information already available to restore the natural properties of disturbed streams
- 3 - to explore new ideas and methods for the conservation and management lowland streams
- 4 - to provide a forum for the discussion of political and sociological aspects of modern stream management
- 5 - to find ways to make modern stream management practices available to society
- 6 - to produce practical handbooks and guidelines for the conservation and management of lowland streams
- 7 - to hold the first workshop of the working group at the next meeting of S.I.L. in Munich, August 1989
- 8 - to hold the first workshop of the working group as part of a conference on River Conservation to be organized by the Nature Conservancy (UK) in September 1990.

The working group co-chairmen will be P.J. Boon (UK), B.L. Madsen (Denmark) and R.C. Petersen (Sweden). R.C. Petersen will also act as Secretary.

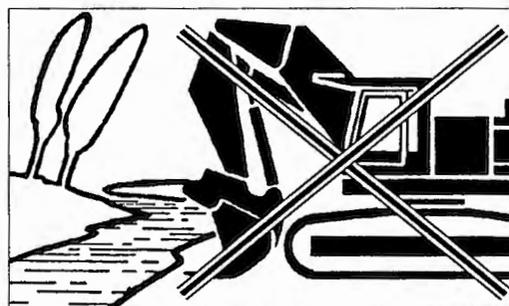
20/12/88

Gli interessati possono contattare il segretario scrivendo a: R.C. Petersen, Stream and Benthic Ecology Group, University of Lund, Box 65 S-22100, LUND, SWEDEN.

PAGINE APERTE



POSITIVI RISULTATI DELLA MOBILITAZIONE IN DIFESA DEL FIUME MAGRA



La decisa mobilitazione lanciata con convinta determinazione dal Comitato per la Difesa del Magra ha conseguito in pochi mesi importanti risultati:

- un crescente consenso politico e sociale, che conferma la validità delle proposte avanzate. Alle iniziali forze fondatrici del Comitato (Lega per l' Ambiente, Italia Nostra, ACLI, PCI, Lista Verde, Sinistra Indipendente, DP, FGCI) si sono aggiunte, infatti, le adesioni di ARCI-Pesca, WWF, Movimento Federativo Democratico, Federazione Imprese Balneari, PSI, MGS, Istituto Nazionale Urbanistica, Movimento Giovanile Democristiano. Lo stesso consiglio comunale di Pontremoli, che anni fa aveva richiesto i lavori fluviali sul torrente Verde, ha cambiato parere e, nel febbraio scorso, ha votato per la loro sospensione e per la rinaturalizzazione del torrente;
- la regione Liguria ha respinto il progetto di una mega-darsena sul ramo morto del Magra, ha votato la sospensione dei lavori sul fiume Vara (principale affluente del Magra) ed ha aperto un contenzioso legale contro i Provveditori alle OO.PP. per le briglie e le risagomature da essi autorizzate;
- il famigerato progetto di canalizzazione di 35 chilometri del f. Magra, del costo di oltre 80 miliardi, è stato definitivamente ritirato;
- tutti i lavori fluviali, compresa la brutale canalizzazione del torrente Verde a Pontremoli (vedi foto), sono stati definitivamente sospesi dal ministro dei LL. PP. Enrico Ferri, più volte chiamato in causa come diretto responsabile;
- la Procura della Repubblica della Spezia ha aperto un' inchiesta penale per verificare la fondatezza delle accuse di corruzione mosse ai Provveditori alle OO.PP. ed altri eventuali reati commessi nell' esecuzione delle opere fluviali. Gli ambientalisti, chiamati a deporre, hanno chiesto che si proceda anche per il reato di danneggiamento continuato e aggravato alla collettività. Due titolari della ditta Rizzi di Rovigo, che detiene tutti gli appalti dei lavori sul Magra, sono già finiti in carcere per tangenti elargite per assicurarsi appalti pubblici nel Veneto; il vice-provveditore alle OO.PP. di Firenze, indiziato di corruzione per appalti di lavori fluviali sul Magra, è stato raggiunto da comunicazione giudiziaria;
- è stata istituita una commissione tecnica che dovrà esprimersi sull' opportunità e sulla correttezza dei lavori attualmente sospesi; nessuna nuova opera fluviale verrà inoltre eseguita senza il parere della commissione, nella quale sono rappresentati i ministeri dei Lavori Pubblici, dell' Ambiente, dei Beni Culturali e Ambientali, le due province e regioni interessate, il Consorzio del

Parco Fluviale e il Comitato per la Difesa del Magra. Quest'ultimo, come condizione per accettare di entrare a far parte della commissione, ha chiesto e ottenuto la sospensione preventiva dei lavori fluviali. Il Comitato porterà in commissione una proposta concreta di ripristino ambientale dei tratti canalizzati e sosterrà con forza una revisione radicale del piano di bacino del Magra, basata sull'autoregolazione idraulica, sulla rinaturalizzazione degli ambienti fluviali e sulla corretta gestione

dell'intero territorio (vedi il documento pubblicato nel numero precedente del bollettino).

La salvaguardia e il ripristino ambientale del bacino del Magra divengono, oggi, obiettivi realistici. Questa esperienza può fornire utili indicazioni per i tecnici ambientali e per le associazioni ambientaliste nelle altre, purtroppo numerose, analoghe realtà italiane.

Giuseppe Sansoni

Dicembre 1988: splendido ambiente naturale sul torrente Verde, a monte di Pontremoli, prima dell'intervento del Provveditorato alle Opere Pubbliche.



Gennaio 1989: lo stesso ambiente "dopo la cura". L'alveo è stato escavato, spianato, devegetato, ristretto, rettificato. Nella foto, si stanno scavando le fondamenta per la messa in opera dei massi che delimiteranno gli argini di magra: una brutalità maggiore sarebbe difficilmente immaginabile. Tutto ciò non fornisce alcuna protezione dalle esondazioni, ma è finalizzato all'obiettivo demenziale di impedire che le acque di magra divaghino entro l'alveo. Il Comitato per la Difesa del Magra è riuscito a bloccare questi lavori ed è ben determinato ad ottenere il ripristino ambientale del torrente.

APPUNTAMENTI



A.I.R.P.

Airp

SEZIONE
Radiochimica
Protezionistica

S.IT.E.



GRUPPO DI LAVORO
Ecotossicologia
Impatto Ambientale
Radioecologia

L' A.I.R.P. e la S.IT.E., con l' intento di promuovere la diffusione del patrimonio di conoscenze acquisite sull' ecosistema padano (fiume, delta) nell' ambito dei programmi di ecologia, radioecologia e monitoraggio ambientale,

organizzano il convegno:

**14 - 15
giugno
1989**

**FIUME PO
CONTRIBUTI SCIENTIFICI PER LA CONOSCENZA
DELL' ECOSISTEMA FLUVIALE PADANO**

Sono previste esclusivamente comunicazioni poster per favorire la più ampia partecipazione. Sede del convegno è la motonave STRADIVARI che discenderà il fiume da Cremona a Venezia.

La quota di iscrizione è di £ 50.000 per i Soci AIRP/SITE e di £ 100.000 per i non Soci.



*Per informazioni rivolgersi alla
Segreteria Organizzativa:
POLIFORM
corso Mazzini 1 - 27100 Pavia
Tel. 0382 - 36684*



Istituto Superiore di Sanità

CALENDARIO CORSI ISS 1989

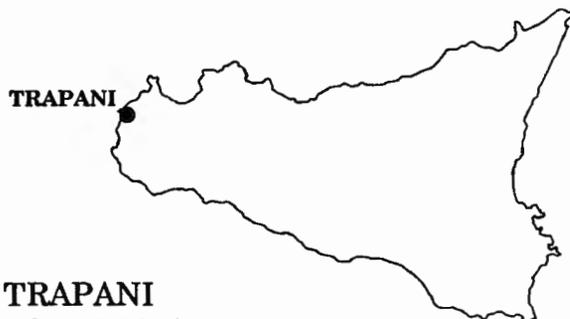
(*provvisorio*)

Corso N°	SETTORE ALIMENTI		
33	Corso Teorico-Pratico sulla Contaminazione da Micotossine negli Alimenti 11 - 12 maggio	24	Corso di Aggiornamento sulla Malaria: Diagnosi, Profilassi, Terapia e Farmaco-Resistenza 19 - 24 giugno
34	Le Prove Biotossicologiche nella Valutazione della Salubrità degli Alimenti 13 - 15 giugno	26	Diagnosi di Laboratorio delle Parassitosi del Tratto Gastroenterico e Urogenitale 26 - 27 giugno
35	26-28 settembre (replica)	27	28 - 29 giugno (replica)
36	Aggiornamento sulle Problematiche Relative all' Analisi degli Oli Alimentari 10 ottobre	28	Tecnologie Diagnostiche in Micologia Medica 27 - 29 settembre
37	Corso Teorico-Pratico sulla Contaminazione da Elementi Tossici negli Alimenti 30 - 31 ottobre		
38	Aggiornamento su Alcuni Argomenti di Microbiologia degli Alimenti 27 - 28 novembre		SETTORE EPIDEMIOLOGIA E BIOSTATISTICA
39	Alcune Problematiche relative al Controllo del Prodotto Dietetico e della Prima Infanzia 4 - 5 dicembre		a) Corsi di Base
		10	Introduzione ai Principi e Metodi della Biostatistica 6 - 10 marzo
		11	Introduzione ai Principi e Metodi dell' Epidemiologia 13 - 17 marzo
			b) Corsi introduttivi a campi specifici per cui <u>non</u> sono richieste precedenti conoscenze in biostatistica ed epidemiologia
	SETTORE DIAGNOSTICA MICROBIOLOGICA, PARASSITOLOGICA E MICOLOGIA MEDICA		
21	Basic Course on Malaria and Planning Malaria Control 13 genn. - 3 marzo (Tailandia) 6 marzo - 7 aprile (ISS)	12	Il Laboratorio di Microbiologia e il Controllo delle Infezioni Ospedaliere 22 - 26 maggio
22	I° Corso sulla Diagnosi di Laboratorio delle Infezioni Gastroenteriche 24 - 26 maggio	13	La Valutazione della Qualità degli Interventi Sanitari 26 - 30 giugno

- 14 Ritardo Mentale Congenito: Prevenzione e Metodologie d' Intervento
25 - 27 ottobre
- e) Corsi di Applicazione per i quali viene richiesto di avere già frequentato i Corsi di Base
- 16 IX° Corso di Epidemiologia Occupazionale
29 maggio - 2 giugno
- 17 II° Corso di Epidemiologia Clinica per la Pediatria
20 - 24 novembre
- d) Corsi di Metodologie avanzate per i quali viene richiesto di avere già frequentato i Corsi di Base e quelli di Applicazione
- 18 Epidemiologia e Sanità Pubblica
2 - 6 ottobre
- SETTORE FARMACO**
- 60 Il Servizio Farmaceutico nelle USL
3 - 6 ottobre
- SETTORE FISICA E TECNOLOGIE BIOMEDICHE**
- 40 IX° Corso di Fisica delle Radiazioni e Tecnologie Biomediche
21 - 24 novembre
- SETTORE IGIENE AMBIENTALE**
- 52 Corso di Base sulle Problematiche Igienico-Sanitarie Connesse con il Funzionamento degli Impianti di Trattamento di Acque Reflue Civili
7 - 9 giugno
- 50 II° Corso Nazionale sulle Problematiche Sanitarie Correlate all' Amianto: la Diffusione Ambientale e le Metodiche Analitiche per il Controllo dell' Amianto
25 - 28 settembre
- 51 IV° Corso di Aggiornamento sul Rilevamento degli Inquinanti Atmosferici per il Controllo della qualità dell' aria
17 - 20 ottobre
- 57 Metodi per la Valutazione della "Componente Salute" nell' Analisi di Impatto Ambientale - IV° Corso di Base
15 - 17 novembre
- 53 Proliferazione Batterica nelle Reti Idriche: Biofilms e Corrosione
30 novembre - 1 dicembre
- 58 Metodi per la Valutazione della "Componente Salute" nell' Analisi di Impatto Ambientale - I° Corso Avanzato
5 - 7 dicembre
- SETTORE TOSSICODIPENDENZE**
- 70 V° Corso su: Attività, Finalità, Valutazione di Servizi ed Altre Strutture per il Trattamento dei Tossicodipendenti
6 - 8 novembre
- 71 VII° Corso Teorico-Pratico di Diagnostica ed Accertamento di Sostanze d' Abuso
9 - 11 novembre
- SETTORE TOSSICOLOGIA**
- 75 II° Corso Teorico-Pratico sulla Utilizzazione delle Colture Cellulari nell' Indagine Tossicologica
14 - 17 novembre



*Per informazioni rivolgersi a:
SAC - Istituto Superiore di
Sanità, Viale Regina Elena, 299
00161 Roma*



AMMINISTRAZIONE PROVINCIALE DI TRAPANI
CENTRO STUDI AMBIENTE E TERRITORIO (CESAT)
CENTRO ITALIANO STUDI DI BIOLOGIA AMBIENTALE

Corso di Formazione:

Trapani
14 - 20 maggio 1989

**METODI BIOLOGICI PRATICI
PER IL MAPPAGGIO DI QUALITA'
DEI CORSI D' ACQUA**

**ANALISI SULLE COMUNITA'
DI MACROINVERTEBRATI**

Coordinatore tecnico:

Prof. Pier Francesco Ghetti
Dipartimento Scienze Ambientali
Università degli Studi dell' Aquila

Per informazioni:



Dr. Gabriella Perrera
Dr. Emilio Candiloro
CESAT (Centro Studi Ambiente e Territorio)
Via XX settembre n° 11
90141 - PALERMO



091-6372377 (ore 9,00-13,00)
091-583432 (ore 15,30-19,30)

Fonti delle illustrazioni:

- pag. 4, 29, 39, 43: Lara-Vinca Masini. Art Nouveau.
Ed. Giunti Martello, 1976, Firenze.
- pag. 22 (1^a): Dinoflagellatae-Peridineae. Kryptogamen Flora.
Akademische von Dr. Jos. Schiller, 1937.
- pag. 22 (2^a): Diatomeae-Kryptogamen Flora Die Kieselalgen.
von Dr. Jr. Friedrich Husted, Bremen, 1930.
- pag. 23: depliant Provincia di Roma.
- pag. 24: adesivo Regione Emilia-Romagna, Battello Oceanografico Daphne II.
- pag. 25: Mourier, Winding. Guide des petits animaux sauvages de nos maisons et jardins.
Ed. Delachaux et Niestlè, 1979, Paris.
- pag. 26: A. Toschi. Fauna d'Italia, vol. VII, Mammalia.
Ed. Calderini, 1965, Bologna.
- pag. 28: opuscolo Regione Toscana.
- pag. 41: I fiumi italiani e le calamità artificiali.
Ed. Regione Piemonte et al., 1988.
- pag. 44 (1^a): rivista "Il Delfino".
Ed. Centro Italiano di Solidarietà, n. 6/88, Roma.
- pag. 44 (2^a): quotidiano "La Repubblica", 22-3-89.
- pag. 45: foto di G. Sansoni.
- pag. 46 (1^a): Gheri e Valerio. 1300 giochi di scienza dilettovole.
Ed. Cisalpino Goliardica, 1983, Milano.
- pag. 46 (2^a): depliant dell' AIRP e della SITE.
- pag. 47: logo dell' Istituto Superiore di Sanità.

nell' inserto:

- pag 3 (1^a): Ghetti, Bonazzi. I macroinvertebrati nella sorveglianza ecologica dei corsi d' acqua.
Ed. CNR AQ/1/127, Roma, 1981.
- pag. 3 (2^a): G. Moretti. Tricotteri.
Ed. CNR AQ/1/196, Roma, 1981.
- pag. 4 (2^a): Ghetti, Bonazzi. I macroinvertebrati nella sorveglianza ecologica dei corsi d' acqua.
Ed. CNR AQ/1/127, Roma, 1981.
- pag. 4 (3^a e 4^a): depliant di convegni e corsi.
- pag. 5: depliant di convegni e corsi.

Supplemento al n. 10 anno XVI del periodico mensile "La Provincia di Reggio Emilia"
Spedizione in abbonamento postale - gruppo III, 70%
Autorizzazione Tribunale di Reggio Emilia n. 175 del 25.1.1965