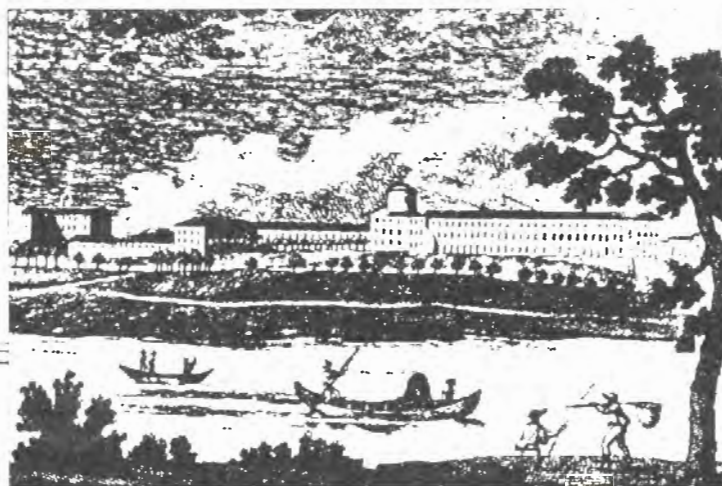


SAGGI TOSSICOLOGICI



Daphnia magna NEL CONTROLLO TOSSICOLOGICO DELLE ACQUE SUPERFICIALI (II) Risultati relativi al primo anno d'indagine

Miria Amodei* & Rossella Azzoni *

1.

INTRODUZIONE

Il P.M.I.P. di Milano, attraverso l'attivazione di un gruppo di lavoro multidisciplinare, ha predisposto un progetto integrato di monitoraggio ambientale per rilevare in modo sistematico le caratteristiche qualitative dei corpi idrici superficiali del territorio provinciale; il monitoraggio è a servizio del Piano Regionale di Risanamento delle Acque (P.R.R.A.), come base indispensabile per la valutazione dell'efficacia del Piano medesimo e per la programmazione degli interventi futuri.

La classificazione delle acque superficiali lombarde formulata dal Piano di Risanamento prevede quattro classi di qualità: perchè un corpo idrico possa essere classificato nella classe inferiore si richiede che esso rispetti non solo i limiti imposti per 52 parametri

chimico-fisici e per 4 parametri batteriologici, ma anche che non determini tossicità acuta per la vita acquatica [1].

Nonostante le indicazioni metodologiche del P.R.R.A. suggeriscano l'adozione di un saggio a 96 ore con *Salmo gairdnerii*, si è preferito verificare l'assenza di tossicità utilizzando *Daphnia magna* come organismo di saggio e si è ritenuto opportuno tentare di aumentare l'informazione tossicologica attraverso l'adozione di un test acuto protratto.

Nella presente nota viene descritta la qualità delle acque superficiali del milanese in termini di presenza/assenza di tossicità acuta per la vita acquatica, e vengono discussi aspetti relativi alla potenza del test acuto protratto.

2.

MATERIALI E METODI

Una parte dei risultati presentati sono stati ottenuti durante una sperimentazione volta non solo a determi-

* Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione
Via F. Juvara, 22 - 20129 Milano

nare la tossicità della matrice, ma anche ad individuare lo schema nutrizionale più idoneo per pareggiare la potenzialità alimentare delle acque di fiume rispetto a quella dell'acqua utilizzata per condurre le prove di controllo [2].

93 dei 125 saggi utilizzati per la discussione sono stati protratti per sette giorni alimentando gli organismi secondo schemi nutrizionali differenti: in particolare, 15 test acuti protratti sono stati condotti nutrendo gli organismi di saggio e quelli di controllo in terza e sesta giornata, 25 test nutrendo gli organismi di controllo anche al momento dell'allestimento del saggio e 53 test nutrendo gli organismi di saggio e quelli di controllo cinque volte nell'arco di sette giorni.

Comunque, per descrivere la qualità dei corsi d'acqua del territorio milanese in termini di presenza/assenza di tossicità per la vita acquatica sono stati utilizzati i riscontri tossicologici registrati a 48 ore di esposizione ad acqua indiluita, poiché questo è il saggio equivalente a quello suggerito dal P.R.R.A. [3].

I 125 risultati tossicologici ottenuti a 48 ore d'esposizione ed inseriti nella discussione sono così classificabili: 49 sono stati ottenuti da prove in cui gli organismi di saggio non disponevano di alimentazione aggiunta e 53 da prove in cui gli organismi venivano alimentati secondo lo schema nutrizionale che prevede dosi di sospensione di *Selenastrum capricornutum* e di *Saccharomyces cerevisiae* al tempo zero ed a 24 ore secondo la metodica descritta in [2]; altre 23 prove sono state condotte in doppio, sia nutrendo che non nutrendo gli organismi di saggio esposti per 48 ore, al fine di verificare l'eventuale modificazione dell'effetto tossico prodotta dalla presenza dell'alimento.

Poiché il protocollo operativo del test acuto protratto richiede di rilevare il numero di dafnie immobili a tempi determinati -che corrispondono a 24 e 48 ore; 5, 6 e 7 giorni- è stato stabilito di attribuire all'espressione "presenza di tossicità" il seguente significato: esito corrispondente ad un'immobilizzazione degli organismi superiore al 10% per esposizione di 24 e 48 ore, e superiore al 20% per esposizione di 5, 6 e 7 giorni [4, 5, 6].

Si propone, inoltre, di definire *incremento relativo* il rapporto fra la percentuale d'incidenza registrata al tempo d'esposizione superiore e quella registrata al tempo d'esposizione inferiore, ed *incremento attribu-*

ibile la differenza fra la percentuale di incidenza registrata al tempo d'esposizione superiore e quella registrata al tempo d'esposizione inferiore [7].

3.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Solo 1 dei 23 campioni saggiati in doppio per verificare l'alterazione della tossicità legata alla presenza di cibo è risultato tossico, producendo una percentuale di immobilizzazione pari al 53,3 in entrambe le condizioni nutrizionali. Questa parte della sperimentazione non ha potuto quindi suggerire alcuna conclusione: ha permesso tuttavia di considerare accettabile l'inserimento dei dati tossicologici ottenuti con uno qualunque degli schemi nutrizionali adottati nella discussione relativa alla qualità dei corsi d'acqua ed in quella relativa all'informazione tossicologica.

3.1.

PROGETTO INTEGRATO DI MONITORAGGIO AMBIENTALE A SERVIZIO DEL P.R.R.A.

Riprendendo le indicazioni del Piano di Risana-mento, il progetto di monitoraggio del P.M.I.P. nella sua prima formulazione individuava come d'interesse 23 corpi idrici, suddivisi in corsi d'acqua naturali (14) e artificiali (9).

Le stazioni di prelievo ubicate su queste aste erano 40, ed era prevista una frequenza di campionamento pari a quattro volte all'anno per i corsi d'acqua naturali, e due volte all'anno per quelli artificiali.

A causa di problemi organizzativi, il primo anno d'indagine si è limitato a 125 prelievi di acque superficiali dei 134 previsti, eseguiti in un periodo compreso fra il novembre 1991 e l'ottobre 1992.

Nelle tabelle I.a e I.b è presentato il riassunto dei risultati ottenuti nel primo anno d'indagine.

La disamina delle tabelle evidenzia, innanzitutto, la drammatica realtà delle acque oggetto di studio: se da un lato, infatti, può apparire bizzarro valutare la qualità dei corsi d'acqua attraverso un approccio tossicologico, dall'altro il registrare ben 14 casi di presenza di tossicità acuta per la vita acquatica in campioni d'acqua prelevati da aste fluviali testimonia la necessità di porsi come obiettivo a medio termine la ricerca delle correlazioni causa-effetto per le aste più

Tabella La

Presenza/Assenza di tossicità acuta per la vita acquatica nei corsi d'acqua naturali (esposizione per 48 ore)

Corsi d'acqua naturali	Stazione	campionamento			
		1°	2°	3°	4°
F. Lambro	Lesmo A	A	A	A	
	Brugherio	A	A	A	A
	Cerro al L.	A	A	A	P
	Senna L.	A	A	A	P
F. Olona	Legnano	P	A	A	A
	Rho	P	P	A	A
	Pero	A	P	A	A
T. Bozzente	Lainate	P	A	A	A
T. Lura	Rho	P	A	A	A
T. Seveso	Lentate s/S.	A	A	A	A
	Bresso	P	A	A	A
T. Molgora	Burago M.	A	A	A	A
	Truccazzano	P	A	A	A
F. Lambro Mer.	Rozzano	A	A	P	A
	S. Angelo L.	A	A	A	A
F. Ticino	Boffalora	A	P	A	A
T. Garbogera	Limbrate	A	A	A	A
T. Guisa	Garbagnate	A	A	A	P
T. Nirone	Bollate	A	A	A	A
T. Pudiga	Bollate	A	A	P	A
F. Adda	Vaprio d'Adda	A	A	A	A
	Truccazzano	A	A	A	A
	Lodi	A	A	A	A
	Bertonico	A	A	A	A
	Crotta d'Adda	A	A	A	A
F. Po	Senna L.	-	-	A	A
	S. Rocco al P.	-	-	A	A

degradata.

Poiché il P.R.R.A. della Regione Lombardia afferma che le caratteristiche qualitative dell'acqua di un determinato corpo idrico possono venire considerate conformi ad una classe di uso multiplo quando nel 90% dei campioni esaminati i valori di ciascun parametro risultano non superiori o esterni ai valori limite indicati nell'apposita tabella, si è ritenuto di poter considerare inidonea ad appartenere alla classe di qualità inferiore quella stazione di prelievo in cui si è registrata presenza di tossicità in almeno una occasio-

Tabella Lb

Presenza/Assenza di tossicità acuta per la vita acquatica nei corsi d'acqua artificiali (esposizione per 48 ore)

Corsi d'acqua artificiali	Stazione	1°	3°
		camp.	camp.
Nav. Pavese	Milano	A	A
Nav. Grande	Gaggiano	A	A
Can. Scolm. N-O	Abbiategrosso	A	A
Can. Redefossi	Melegnano	A	A
Can. Muzza	Comazzo	A	A
	Cornegliano L.	A	A
Can. Addetta	Vizzolo P.	A	A
Roggia Mortizza	S. Stefano L.	A	A
Can. Villoresi	Parabiago	-	A
	Nova Mil.se	-	A
	Cassano d'Adda	-	A
Nav. Martesana	Trezzo d'Adda	-	A
	Milano	-	A

ne. Ne deriva che è classificabile come inquinato circa un terzo delle stazioni di campionamento esaminate e che sono da considerare inidonei al mantenimento della vita acquatica i seguenti corsi d'acqua: fiume Olona, torrente Bozzente, torrente Lura, parte del fiume Lambro meridionale, torrente Guisa, torrente Pudiga, il corso inferiore dei torrenti Seveso e Molgora e del fiume Lambro. Il giudizio di inidoneità ricavato per il fiume Ticino desta imbarazzo: nonostante il fiume risulti classificato inquinato anche dal p.d.v. chimico-fisico per l'eccedenza -in quella data- di azoto Kjeldhal (3,6 mg/l) e tetracloruro di carbonio (17 µg/l), il giudizio tossicologico si scontra con l'evidente presenza di vita acquatica nel fiume; la percentuale di mortalità registrata è peraltro molto bassa (16,7) e non cresce all'aumentare del tempo di esposizione.

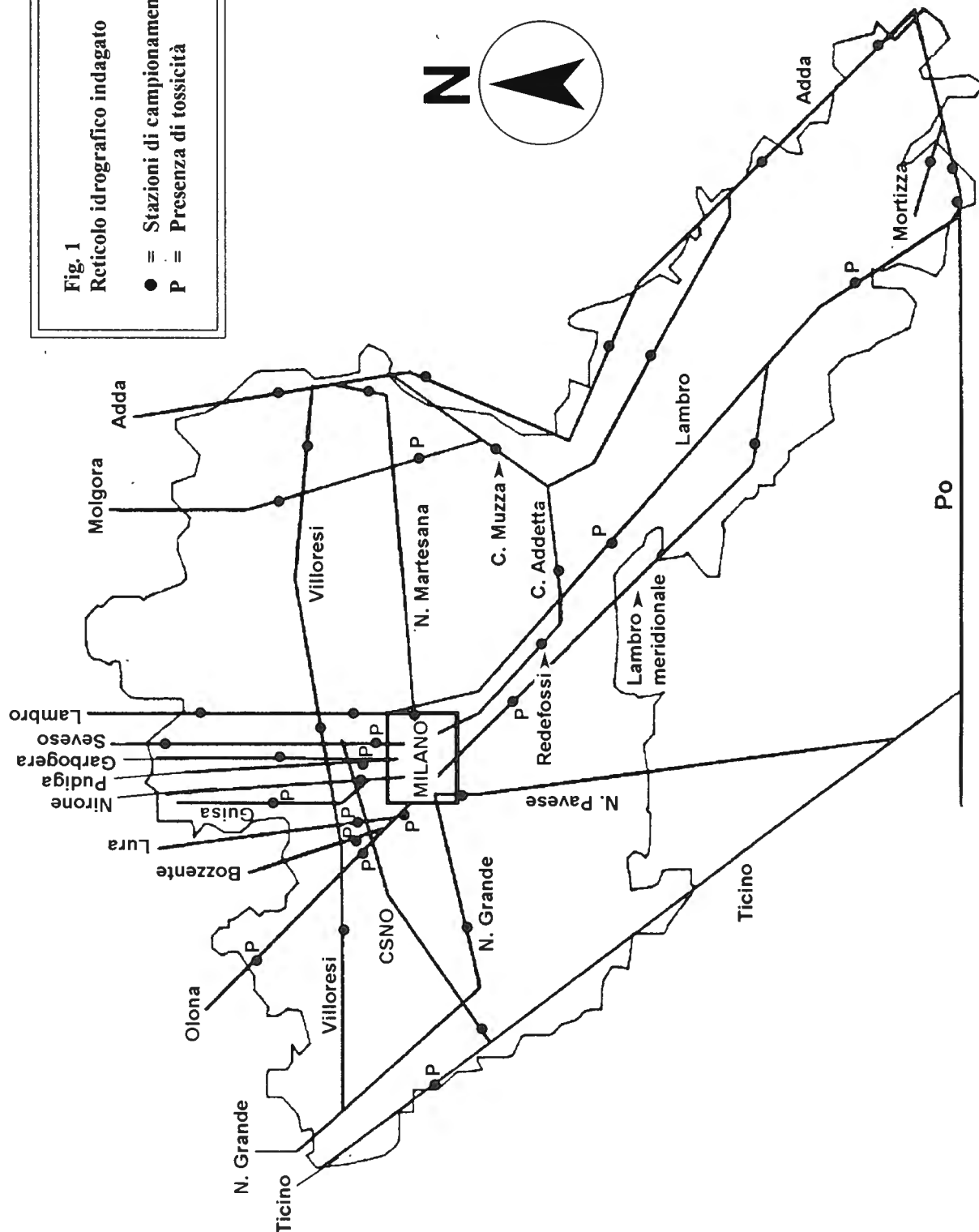
La figura 1 riporta lo schema del reticolo idrografico in studio e l'ubicazione delle stazioni di campionamento; la lettera P segnala le stazioni nelle quali è stata rilevata tossicità.

Come si può notare, il territorio all'incirca compreso fra le aste del fiume Olona e del torrente Seveso è quello ove si concentrano i segnali peggiori e corrisponde al bacino idrografico dichiarato area ad elevato rischio di crisi ambientale ai sensi e per gli effetti dell'art. 7 della legge n. 349/1986 [8].

Il degrado del fiume Lambro a sud di Milano può essere ragionevolmente attribuito alla mancata depu-

Fig. 1
Reticolo idrografico indagato

- = Stazioni di campionamento
- P = Presenza di tossicità



razione del carico inquinante derivato dalla città, per trattare il quale sono in progetto impianti di depurazione della potenzialità complessiva di circa 3.000.000 di abitanti equivalenti [9].

Il risultato relativo al fiume Ticino potrebbe essere imputabile all'uso di xenobiotici nelle pratiche agricole, essendo l'agricoltura una delle attività prevalenti nella zona di drenaggio indagata.

3.2.

INFORMAZIONE TOSSICOLOGICA

Come detto, l'obiettivo cui il test protrato a 7 giorni di esposizione doveva tendere era quello di incrementare l'informazione ricavabile da un saggio per la ricerca della tossicità acuta.

La sperimentazione condotta in questo primo anno di indagine permette di proporre alcune considerazioni sulla potenza dei diversi test adottati, cioè -sostanzialmente- sulla reazione degli organismi a diversi tempi di esposizione.

La prima considerazione riguarda l'incremento di informazione che si ottiene passando da un tempo di esposizione di 24 ore ad uno di 48 ore.

Come si evince dalla tabella II, la percentuale d'incidenza dei casi di tossicità evidenziati attraverso il saggio a 24 ore è pari a 6,4 e sale a 11,2 prolungando il saggio fino a 48 ore.

I risultati ottenuti nel primo anno d'indagine sui corsi d'acqua del milanese confermano che all'aumento del tempo di esposizione da 24 a 48 ore corrisponde un ampliamento dell'informazione tossicologica: sul campione costituito da 125 casi l'incremento relativo risulta pari a 1,75 mentre l'incremento attribuibile, che esprime la percentuale di incidenza assoluta attribuibile all'aumento del tempo di esposizione, risulta pari a 4,8.

La seconda considerazione riguarda l'ampliamento dell'informazione tossicologica che si ottiene aumentando ulteriormente il tempo di esposizione fino ai 7 giorni; in questo caso, però, la discussione può disporre di soli 93 saggi sperimentali.

Innanzitutto va segnalato che, a causa del significato attribuito all'espressione "presenza di tossicità", si è registrato un ribaltamento di giudizio per quei campioni in cui la mortalità degli organismi di saggio si è attestata su valori compresi fra il 10% ed il 20% per tutto il periodo d'esposizione.

In tabella III sono riportati tutti i casi in cui si è manifestata presenza di tossicità, compresi quelli in cui si è registrata una variazione di giudizio al variare del criterio d'esposizione da 48 ore a 7 giorni. E' possibile notare che in due casi il giudizio è contraddittorio: si tratta di casi in cui la mortalità è risultata pari al 12% in 48 ore ed al 20% in 7 giorni (fiume Lambro, stazione Senna Lodigiana), e sempre pari al 16,7% (fiume Ticino). In sette casi il giudizio rimane invariato, mentre in cinque casi il giudizio passa da favorevole (assenza di tossicità) a sfavorevole (presenza di tossicità).

La tabella IV propone i risultati relativi ai casi in cui si è rilevata presenza di tossicità ai vari tempi di

Tabella II

Presenza di tossicità acuta per la vita acquatica: confronto tra diversi tempi di esposizione

Tempo di esposizione	N° saggi eseguiti	N° campioni tossici	% di incidenza
24h	125	8	6,4
48h	125	14	11,2

Tabella III

Stazioni di campionamento in cui si è manifestata tossicità per la vita acquatica (test acuto protrato)

Corso d'acqua	Stazione	Presenza tossicità	
		48 h	7 gg
F. Lambro	Cerro al L.	SI	SI
	Senna L.	SI	NO
F. Olona	Rho	SI	SI
	Pero	SI	SI
T. Bozzente	Lainate	NO	SI
T. Seveso	Bresso	SI	SI
T. Molgora	Truccazzano	SI	SI
F. Lambro Mer.	Rozzano	SI	SI
	S. Angelo L.	NO	SI
F. Ticino	Boffalora	SI	NO
T. Guisa	Garbagnate	NO	SI
T. Pudiga	Bollate	SI	SI
Nav. Pavese	Milano	NO	SI
Can. Scolm. N-O	Abbiategrosso	NO	SI

esposizione, secondo il già citato criterio, nei 93 saggi condotti seguendo la procedura del test acuto protratto; la tabella V riporta, invece, gli incrementi relativi e gli incrementi attribuibili calcolati sugli stessi risultati per ogni aumento del tempo di esposizione e per l'aumento da 48 ore a 7 giorni.

Come si nota, riducendo a 93 il numero dei dati elaborabili, l'incremento relativo del confronto 48/24 ore si ridimensiona intorno a 1,28; l'incremento relativo calcolato per i tempi di esposizione intermedi è praticamente trascurabile mentre quello del confronto 7 giorni/48 ore riprende consistenza. Anche la disamina dei valori di incremento attribuibile permette di concludere che protrarre il tempo di esposizione degli organismi di saggio da 24 fino a 48 ore amplia l'informazione tossicologica, così come questa viene ampliata prolungando il tempo di esposizione da 48 ore fino a 7 giorni.

Tabella IV

Presenza di tossicità per la vita acquatica: confronto fra i diversi tempi d'esposizione del test acuto protratto

Tempo di esposizione	N° saggi eseguiti	N° campioni tossici	% di incidenza
24h	93	7	7,5
48h	93	9	9,7
5gg	93	9	9,7
6gg	93	10	10,8
7gg	93	12	12,9

Tabella V

Test acuto protratto: incrementi relativi ed attribuibili

Confronto	Incremento relativo	Incremento attribuibile
48 h / 24 h	1,28	2,2 %
5 gg / 48 h	1,00	0,0 %
6 gg / 5 gg	1,11	1,1 %
7 gg / 6 gg	1,19	2,1 %
7 gg / 48 h	1,33	3,2 %

I valori di incremento attribuibile registrati, però, sono estremamente bassi: essi indicano che la presenza di tossicità acuta nella matrice fiume va ritenuta un evento sporadico.

Considerato che a maggior incremento relativo corrisponde una metodologia di rilevamento della tossicità acuta ampliata, e che a parità di incremento relativo il rapporto costi/benefici diviene più favorevole al crescere dell'incremento attribuibile, i risultati ottenuti invitano a raccogliere altre informazioni sul test acuto protratto e suggeriscono che le potenzialità di questo test potrebbero essere meglio valutate su matrici in cui la tossicità acuta si manifesti con minor sporadicità rispetto all'acqua di fiume.

La matrice fiume infatti, oltre a dare origine raramente a riscontri di tossicità, è anche particolarmente variabile: la ripetitività dei risultati è estremamente scarsa, sia in termini di presenza/assenza di tossicità, sia in termini di percentuale di mortalità degli organismi esposti all'acqua della stessa stazione, ma prelevata in diverse campagne di campionamento (tabella VI).

Tabella VI

Percentuali di immobilizzazione registrate a 48 h in diverse campagne nelle stazioni di campionamento risultate inidonee al mantenimento della vita acquatica.

Corsi d'acqua naturali	Stazione	campionamento			
		1°	2°	3°	4°
F. Lambro	Cerro al L.	0	0	0	16,7
	Senna L.	0	0	0	12,0
F. Olona	Legnano	12,1	0	0	0
	Rho	17,2	80,0	0	3,3
	Pero	0	90,0	0	3,3
T. Bozzente	Lainate	22,6	0	0	0
T. Lura	Rho	19,3	3,2	0	0
T. Seveso	Bresso	93,3	0	0	0
T. Molgora	Truccazzano	100	0	0	3,3
F. Lambro Mer.	Rozzano	0	0	33,3	0
F. Ticino	Boffalora	0	16,7	3,3	0
T. Guisa	Garbagnate	3,3	0	6,7	53,3
T. Pudiga	Bollate	0	0	92,0	0

4.

CONCLUSIONI

La sperimentazione con *Daphnia magna* condotta all'interno del progetto integrato di monitoraggio ambientale a servizio del P.R.R.A. ha dimostrato che le acque di parecchie aste fluviali del milanese inducono fenomeni di tossicità acuta per la vita acquatica.

I risultati della stessa sperimentazione consentono di affermare che protrarre il tempo di esposizione a 7 giorni produce un discreto incremento di informazione tossicologica, sebbene una più compiuta valutazione del rapporto costi/benefici fra metodi che richiedono diversi tempi d'esposizione necessiti ulteriori prove da condurre anche su matrici diverse dal fiume.

NOTA DELLA REDAZIONE

Si è purtroppo verificata la pubblicazione, pressoché contemporanea, del medesimo articolo sulla nostra rivista e su una seconda rivista scientifica nazionale. Fatti di questo genere, anche se del tutto indipendenti dai comitati di redazione (all'oscuro del duplice invio), risultano controproducenti per le riviste scientifiche.

La redazione ricorda agli Autori che si rivolgono a *Biologia Ambientale* di attenersi scrupolosamente alla prassi di inviare il testo dei loro lavori esclusivamente alla nostra rivista. Solo in caso di mancata accettazione, il lavoro potrà essere sottoposto all'attenzione di altre redazioni.

BIBLIOGRAFIA

1- Regione Lombardia, Settore Ambiente ed ecologia - 1992.

Piano Regionale di Risanamento delle Acque. Criteri di pianificazione in rapporto alla gestione delle risorse idriche lombarde.

2- Amodei M. & Azzoni R., Ardemagni A., Pasquini P. - 1993.

Daphnia magna nel controllo tossicologico delle acque superficiali. Problemi relativi alla nutrizione degli organismi di saggio.

Biologia Ambientale, 1: 5-10.

3- Environmental Protection Agency - 1989.
Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants under the Clean Water Act.
Federal Register, 54 (231): 50216-50224.

4- Gersich F.M., Blancard F.A., Applegath S.L., Park C.N. - 1986.

The precision of daphnid (*Daphnia magna* Straus, 1820) static acute toxicity tests.

Arch. Environ. Contam. Toxicol., 15: 741-749.

5- Viganò L. - 1989.

Test di tossicità con *Daphnia magna*: esame dei fattori che determinano l'idoneità dell'allevamento.

Inquinamento, 9: 69-75.

6- Cowgill U.M. & Milazzo D.P. - 1989.

New approach to the seven day *Ceriodaphnia dubia* test with additional comments pertaining to the same test for *Daphnia magna*.

Bull. Environ. Contam. Toxicol., 42: 749-753.

7- Macmahon B., Pugh T.F., Ipsen J. - 1960.

Epidemiologic methods.

Little, Brown and Company, Boston.

8- D.P.C.M. 29 luglio 1988, n.363

Piano quinquennale di disinquinamento del bacino idrografico dei fiumi Lambro, Olona e Seveso.

Suppl. ord. n.2 G.U. n. 199, 25 agosto 1988.

9- Regione Lombardia - 1985.

Piano Regionale di risanamento delle acque.

Ecologia Ambiente documenti, n.10-11-12.