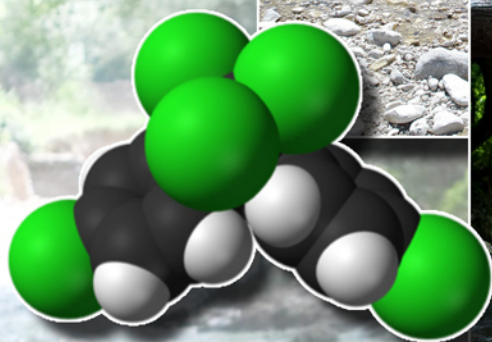
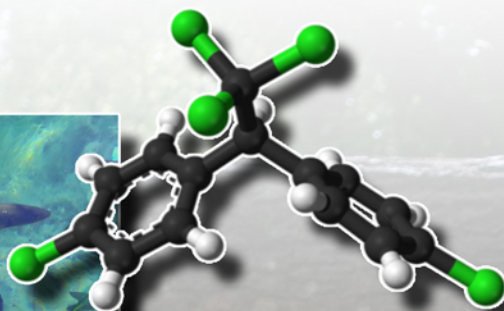




ISPRA
Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale



Linee guida per il monitoraggio delle sostanze prioritarie (secondo D.Lgs. 172/2015)





ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale



Linee guida per il monitoraggio delle sostanze prioritarie (secondo D.Lgs. 172/2015)

Informazioni legali

L'istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) e le persone che agiscono per conto dell'Istituto non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo manuale.

ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale
Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 Roma
www.isprambiente.gov.it

ISPRA, Manuali e Linee Guida 143/2016
ISBN 978-88-448-0795-5

Riproduzione autorizzata citando la fonte

Elaborazione grafica

ISPRA

Grafica di copertina: Franco Iozzoli

Foto di copertina: Franco Iozzoli e Cristina Martone

Coordinamento editoriale:

Daria Mazzella

ISPRA – Settore Editoria

ottobre 2016

Autori

Gruppo di Coordinamento:

Stefano Polesello (CNR-IRSA)

Sara Valsecchi (CNR-IRSA)

Stefania Balzamo (ISPRA)

Mario Carere (ISS)

Con la collaborazione di:

Marianna Rusconi (CNR-IRSA)

Fulvio Ferrara (ISS)

Maria Gabriella Simeone (ISPRA)

Stefano Macchio (ISPRA)

Ringraziamenti

Si ringraziano per i loro significativi commenti: ARPA Piemonte, ARPA Puglia, ARPA Sardegna, APPA Trento, ARPA Toscana, ARPA Umbria e ARPA Valle d'Aosta. Per la parte riguardante la biodisponibilità dei metalli si ringraziano Paul Whitehouse (Environment Agency, UK) per avere messo a disposizione il software M-BAT e Lidia Ceriani e Graham Merrington (WCA Consulting, UK) per gli utili suggerimenti.

INDICE

PREMESSA	5
ACRONIMI.....	6
1 PARTE I: CRITERI PER IL MONITORAGGIO DELLE SOSTANZE PRIORITARIE NEL BIOTA	7
1.1 Introduzione.....	7
1.2 Strategia generale di monitoraggio.....	8
1.2.1 Selezione delle stazioni di campionamento.....	9
1.2.2 Selezione delle specie di biota-generalità	9
<i>SPECIE ITTICHE CANDIDATE</i>	10
<i>MOLLUSCHI</i>	11
1.2.3 Periodo di campionamento.....	11
1.2.4 Frequenza di campionamento.....	12
1.2.5 Scelta del tessuto per l'analisi del contaminante.....	13
<i>PRASSI ATTUALE DEI PROGRAMMI DI MONITORAGGIO IN CORSO</i>	13
1.2.6 Livello trofico.....	16
<i>STABILIRE SQA EQUIVALENTEMENTE PROTETTIVI PER TAXA ALTERNATIVI</i>	17
<i>PROCEDURA OPERATIVA</i>	18
2 PARTE II: CRITERI FISICO-CHIMICI PER VALUTARE LA CONCENTRAZIONE DI PIOMBO E NICHEL IN BASE ALLA BIODISPONIBILITÀ SITO-SPECIFICA NELLE ACQUE INTERNE.....	20
2.1 Introduzione.....	20
2.1.1 Applicazioni disponibili	20
2.2 Le applicazioni per BLM semplificati: Principi e descrizione	21
2.2.1. Utilizzo del M-BAT e sua interpretazione	22
2.3 Intervallo di validità e fonti di incertezza.....	23
2.4 Applicazione dei modelli BLM al monitoraggio e alla classificazione.....	24
ALLEGATO A: SCHEDE PER LA REGISTRAZIONE DELLE INFORMAZIONI STAZIONALI E BIOLOGICHE.....	28
ALLEGATO B: SCHEDE DELLE SPECIE INDIVIDUATE	32

PREMESSA

La presente Linea Guida è stata redatta in ottemperanza al Decreto Legislativo 13 ottobre 2015, n. 172 “Attuazione della direttiva 2013/39/UE, che modifica le direttive 2000/60/CE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque” Art. 78 –*undecies*, comma g:

Art. 78 -undecies (Elenco di controllo)

g) Ai fini della classificazione delle acque superficiali il monitoraggio chimico viene eseguito nella colonna d’acqua e nel biota. A tal fine, entro il 22 marzo 2016, sulla base delle linee guida europee n. 25 - Chemical Monitoring of Sediment and Biota, n. 32 - Biota Monitoring e n. 33 - Analytical Methods for Biota Monitoring è resa disponibile una linea guida italiana, predisposta dagli istituti scientifici nazionali di riferimento, con le informazioni pratiche, necessarie per l’utilizzo di taxa di biota alternativi ai fini della classificazione.

La linea guida riporta, inoltre, i riferimenti ai criteri fisico-chimici per valutare la concentrazione di piombo e nichel in base alla biodisponibilità sito-specifica nelle acque interne.

La presente linea guida è divisa in due parti:

PARTE I: Criteri per il monitoraggio delle sostanze prioritarie nel biota

PARTE II: Criteri fisico-chimici per valutare la concentrazione di piombo e nichel in base alla biodisponibilità sito-specifica nelle acque interne

Ognuna delle due parti risponde all’obiettivo richiesto dalla normativa, in particolare :

- stabilire i criteri per l’utilizzo di taxa di biota alternativi ai fini della classificazione
- definire i criteri fisico-chimici per valutare la concentrazione di piombo e nichel in base alla biodisponibilità sito-specifica nelle acque interne

Ciascuna di queste due parti sarà preceduta da alcune considerazioni di carattere generali sulla problematica in oggetto, seguite dalla presentazione di informazioni pratiche e proposte operative.

La presente linea guida potrà essere soggetta a revisione nel momento in cui si renderanno disponibili nuovi dati o informazioni utili all’implementazione della suddetta normativa.

ACRONIMI

BLM	Biotic Ligand Model (Modello a legante biotico)
DOC	Carbonio organico disciolto
HBCDD	Esabromociclododecano
HCB	Esaclorobenzene
HCBD	Esaclorobutadiene
IPA	Idrocarburi policiclici aromatici
PBDE	Polibromodifenileteri
PCB	Policlorobifenili
PCDD/F	Policlorodibenzodiossine/furani
PFOS	Acido perfluorottansolfonico
SQA	Standard di qualità ambientali
SQA _{Biota}	Standard di qualità ambientali per la matrice biota
SQA _{biota,hh}	Standard di qualità ambientali per la matrice biota riferito alla protezione della salute umana
SQA _{biota,secpois}	Standard di qualità ambientali per la matrice biota riferito alla protezione dei predatori secondari
TL	Livello trofico
TMF	Fattore di Magnificazione trofica

1 PARTE I: CRITERI PER IL MONITORAGGIO DELLE SOSTANZE PRIORITARIE NEL BIOTA

1.1 INTRODUZIONE

La parte I di questa linea guida per l'implementazione del D.Lgs. 172/2015 presenta i criteri per il monitoraggio delle sostanze prioritarie nel biota, con particolare riguardo ai criteri per l'utilizzo di taxa di biota alternativi ai fini della classificazione. Le sostanze prioritarie, per le quali sono stati derivati SQA per il biota, sono riportati in Tabella 1.1.

Tabella 1.1 - Sostanze prioritarie per le quali è stabilito SQA_{Biota} secondo DLgs 172/2015

N.	SOSTANZA	SQA_{BIOTA} [$\mu\text{g}/\text{kg}$ DI PESO UMIDO]	MATRICE DA MONITORARE (SECONDO DLgs 172/2015)
(5)	Difenileteri bromurati (PBDE)	0,0085	<i>Pesci</i>
(9 ter)	DDT*	50	<i>Pesci (<5% grassi)</i>
(9 ter)	DDT*	100	<i>Pesci (>5% grassi)</i>
(15)	Fluorantene	30	<i>Crostacei e molluschi</i>
(16)	Esaclorobenzene (HCB)	10	<i>Pesci</i>
(17)	Esaclorobutadiene (HCBd)	55	<i>Pesci</i>
(21)	Mercurio e composti	20	<i>Pesci</i>
(28)**	Benzo[a]pirene	5	<i>Crostacei e molluschi</i>
(34)	Dicofol	33	<i>Pesci</i>
(35)	Acido perfluorottansolfonico e suoi sali (PFOS)	9,1	<i>Pesci</i>
(37)	Diossine e composti diossina-simili	0,0065 TEQ	<i>Pesci, crostacei e molluschi</i>
(43)	Esabromociclododecano (HBCDD)	167	<i>Pesci</i>
(44)	Eptacloro ed eptacloro epossido	$6,7 \times 10^{-3}$	<i>Pesci</i>

* Il DDT totale comprende la somma degli isomeri 1,1,1-tricloro 2,2 bis (p-clorofenil)etano (numero CAS 50-29-3), 1,1,1-tricloro-2 (o-clorofenil)-2-(p-clorofenil)etano (numero CAS 789-02-6), 1,1-dicloro-2,2 bis (p-clorofenil)etilene (numero CAS 72-55-9) e 1,1-dicloro-2,2bis (p-clorofenil)etano (numero CAS 72-54-8)

** Il benzo[a]pirene può essere considerato marcatore degli altri IPA, di conseguenza solo il benzo[a]pirene deve essere monitorato per raffronto con lo SQA per il biota

Questo capitolo si basa sui principi, i criteri e le metodologie proposte nelle seguenti Linee Guida, elaborate nell'ambito delle attività della strategia comune di implementazione della Direttiva Quadro sulle Acque (CIS-WFD):

CIS-WFD Guidance Document No. 25 Guidance on chemical monitoring of sediment and biota under the Water Framework Directive, Technical Report 2010-041, (EU 2010)

CIS-WFD Guidance Document No. 32 on Biota Monitoring (The Implementation of EQS_{biota}) under the Water Framework Directive, Technical Report 2014-083, (EU 2014a)

CIS-WFD Guidance Document No. 33 on Analytical Methods for Biota Monitoring under the Water Framework Directive, Technical Report 2014-084, (EU 2014b)

In particolare la Guidance No. 32 suggerisce le modalità di correzione degli SQA_{biota} in funzione dei livelli trofici delle specie campionate e della normalizzazione dei dati in funzione del contenuto lipidico o del peso secco degli organismi.

Questo approccio è coerente con i principi utilizzati per la derivazione degli standard di qualità, secondo la *CIS-WFD Guidance Document No. 27 Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards. Technical Report-2011-055 (EU 2011)*, sulla base delle letteratura scientifica disponibile allo stato attuale.

La produzione di nuova letteratura scientifica in questo campo, in particolare nella derivazione di Fattori di Magnificazione Trofica (TMF) per le sostanze prioritarie, renderà necessario un processo periodico di revisione della presente Linea Guida.

1.2 STRATEGIA GENERALE DI MONITORAGGIO

La strategia di monitoraggio per il biota per un determinato corpo idrico deve includere: la selezione dei siti, la selezione delle specie rappresentative per uno specifico corpo idrico, il periodo di campionamento, la frequenza di monitoraggio e la definizione di un modello per la registrazione e archiviazione dei dati raccolti.

Per questo ultimo punto nell'Allegato 1 si forniscono due schede per il rilevamento delle informazioni stazionali e delle variabili biologiche. Le informazioni da registrare sono armonizzate con quelle richieste per il monitoraggio dello stato ecologico, consentendo, nel tempo, di costruire un set omogeneo e confrontabile di informazioni sia a livello regionale che nazionale.

La naturale variabilità nell'ambito dei campioni di organismi acquatici deve essere ridotta attraverso un'appropriata progettazione del campionamento tenendo conto di differenze nell'età, sesso, taglia, stato di maturità sessuale e periodo riproduttivo, poiché tutti questi fattori possono influenzare i livelli di concentrazione dei contaminanti. Il campionamento del biota dovrebbe avvenire quando, ad esempio specie ittiche o molluschi, sono in una fase fisiologicamente stabile e fuori dal loro periodo di deposizione.

In generale si raccomandano i seguenti criteri:

- Per la selezione delle specie non dovrebbero essere utilizzate specie in via di estinzione o specie che richiedono una protezione speciale ai sensi della direttiva habitat o qualsiasi altra legge che ha l'obiettivo di protezione e conservazione della natura. L'anguilla non deve essere prevista nei programmi di monitoraggio. Il biomonitoraggio attivo¹ come ad esempio il trapianto di molluschi, deve essere eseguito evitando l'introduzione di specie alloctone nei corpi idrici. Specie non-native non dovrebbero essere utilizzate nel biomonitoraggio attivo.
- Sarebbe necessario valutare la sostenibilità dei prelievi previsti per la popolazione locale, ponendo possibilmente anche soglie di densità o abbondanza al di sotto dei quali non procedere al prelievo
- In genere le strategie di campionamento dovrebbero avere l'obiettivo di mantenere la continuità con i programmi di monitoraggio esistenti (ad esempio monitoraggio nell'ambito della Convenzione di Barcellona o nell'ambito della strategia marina). I programmi di monitoraggio per lo stato chimico sul biota dovrebbero essere effettuati armonizzandoli con quelli dello stato ecologico. Infatti, un campionamento di tipo selettivo con rimozione di parte della popolazione selezionata potrebbe pregiudicare monitoraggi di tipo ittico-demografico e di bioindicazione. Quindi o si fanno campionamenti congiunti per lo stato ecologico (ISPRA, 2014) e per lo stato chimico oppure si raccomanda, nel caso dei pesci, la sincronizzazione coi prelievi alieutici come da calendario ittico.
- In generale è fondamentale l'armonizzazione con i programmi di monitoraggio e controlli effettuati ai fini della pesca e della sicurezza alimentare. I campionamenti effettuati ai fini della pesca dovrebbero riportare le coordinate del punto di prelievo in modo da poter fornire indicazioni importanti ai fini del monitoraggio ai sensi della Direttiva Quadro Acque.

¹ Con il termine di biomonitoraggio attivo si intende la misura della concentrazione di inquinanti in organismi acquatici non residenti ma provenienti da allevamenti e trapiantati o mantenuti in gabbie nei siti di campionamento

1.2.1 SELEZIONE DELLE STAZIONI DI CAMPIONAMENTO

È necessario valutare in maniera appropriata quali siti scegliere per il monitoraggio del biota.

La rappresentazione geografica di un campione può variare in relazione alla specie ed alla taglia. Ad esempio pesci di taglia piccola generalmente rappresentano una porzione più piccola di un corpo idrico di un lago, mentre pesci più grandi o pesci predatori ne rappresentano una porzione maggiore. È importante rilevare le coordinate per il sito di campionamento all'interno del corpo idrico. Il sito di campionamento dovrebbe essere rappresentativo del tratto, e non dovrebbe differire di molto dalle caratteristiche generali del corpo idrico. Al fine della selezione dei siti dovrebbero essere rilevate le differenze tra un ambiente lotico e lentico, fiumi con un flusso lento o veloce ed anche il comportamento alimentare delle specie. Per un biomonitoraggio di tipo attivo dovrebbe essere scelto un luogo sicuro, indisturbato (Besse et al., 2012). Nella selezione e demarcazione dei siti di campionamento di popolazioni naturali di organismi la popolazione dovrebbe avere un'abbondanza come anche una stabilità consistente in modo da permettere futuri monitoraggi.

Nel caso di molluschi in aree marino-costiere o estuariali i campioni dovrebbero preferibilmente essere raccolti da zone sub-tidali o inter-tidali. Qualora una fonte di inquinamento sia nota, i molluschi dovrebbero essere raccolti alla stessa profondità in modo da avere lo stesso tipo di esposizione (es. in termini di luce e lunghezza d'onda) al fine di ridurre la variabilità nel bioaccumulo dei contaminanti. Nei luoghi dove non sono disponibili popolazioni naturali possono essere ad esempio utilizzati mitili trapiantati con specie autoctone. Al fine di selezionare stazioni di campionamento appropriate la conoscenza delle dinamiche ecologiche dell'area risulta rilevante ed anche l'uso di sensori satellitari può essere importante. Tali sensori possono essere utili per rilevare variazioni temporali e spaziali importanti per l'area di indagine (es. temperatura, clorofilla, solidi sospesi), inoltre tali sensori sono importanti per visualizzare l'influenza geografica degli affluenti dei fiumi, di scarichi domestici, urbani/industriali, il ruscellamento proveniente dall'interno.

1.2.2 SELEZIONE DELLE SPECIE DI BIOTA-GENERALITÀ

La nota 12 alla Tab. 1/A - Standard di qualità ambientale nella colonna d'acqua e nel biota per le sostanze dell'elenco di priorità- del DLgs 172/2015 definisce che:

Se non altrimenti indicato, lo SQA per il biota è riferito ai pesci. Si può monitorare un taxon del biota alternativo o un'altra matrice purché lo SQA applicato garantisca un livello equivalente di protezione. Per le sostanze numeri 15 (Fluorantene) e 28 (IPA), lo SQA per il biota si riferisce ai crostacei ed ai molluschi. Ai fini della valutazione dello stato chimico, il monitoraggio di Fluorantene e di IPA nel pesce non è opportuno. Per la sostanza numero 37 (Diossine e composti diossinasiomili), lo SQA per il biota si riferisce al pesce, ai crostacei ed ai molluschi.

Queste indicazioni sono riassunte in Tabella 1.

In Italia, a causa delle diverse caratteristiche geografiche e delle specificità degli ecosistemi, il numero di specie di biota acquatico è considerevole.

La selezione delle specie dovrebbe basarsi, ove possibile, sui seguenti criteri:

- l'esistenza di una correlazione tra le concentrazioni del contaminante nelle specie e quelle medie presenti nell'ambiente circostante;
- il ruolo ecologico della specie, nicchia trofica ed eventuale consumo umano;
- la capacità di bioaccumulo delle specie dei contaminanti;
- al fine di una rappresentatività del sito di campionamento dovrebbero essere privilegiate specie sedentarie (evitando, quindi, le migratrici) e appartenenti a popolazioni naturali locali (evitando soggetti immessi a fini di ripopolamento);
- specie comuni, ampiamente distribuite e abbondanti, così da consentire il confronto tra aree diverse;
- specie con cicli di vita sufficientemente lunghi da consentire un eventuale campionamento di soggetti di classe superiore all'anno;
- specie di grandezza idonea per ottenere un campione di tessuto sufficiente per l'analisi. È preferibile prelevare individui di taglia piccola o media evitando di prelevare quelli di taglia superiore in quanto tendenzialmente migliori riproduttori;
- valutare il periodo di riproduzione della specie ittica scelta per il monitoraggio;
- specie facilmente campionabili e abbastanza resistenti per sopravvivere a condizioni sfavorevoli;
- specie di semplice identificazione;

- la specie da campionare deve essere presente con una popolazione numericamente significativa, tale da garantire il prelievo dei campioni nel tempo senza incidere in maniera sensibile sulla sua abbondanza.

Di seguito si forniscono alcuni esempi di specie che soddisfano i criteri di buona pratica per il monitoraggio, anche se alla fine la scelta della specie su cui realizzare effettivamente il monitoraggio è regolata da ulteriori condizioni locali, come altitudine e latitudine, presenza di specie alloctone naturalizzate.

SPECIE ITTICHE CANDIDATE

La selezione delle specie da utilizzare per l'analisi delle sostanze prioritarie in Italia ha seguito le indicazioni presenti nel paragrafo precedente della Linea Guida ed ha utilizzato una banca dati popolata con le specie ittiche presenti nei corpi idrici italiani e corredata delle informazioni relative a ciascuna di esse. I criteri soglia utilizzati per la selezione delle specie nelle diverse zone ittiche sono:

- Selezione delle specie autoctone
- Presenza in almeno il 50% delle regioni italiane
- Presenza in almeno il 50% delle tipologie di acque dei corpi idrici a differente velocità
- Lunghezza massima mediamente rilevabile non meno di 18 cm

In tabella 1.2 sono riportate le specie presenti nei corpi idrici italiani che possono essere selezionate per il monitoraggio. Si consiglia di scegliere tra queste la/le specie per il monitoraggio in modo da armonizzare i dati di monitoraggio sul territorio italiano, ma vi è la libertà di scelta, all'interno di ciascun piano di bacino, qualora si evidenziassero problematiche comuni sul reperimento delle specie suggerite.

Tabella 1.2 - Elenco delle specie presenti nei corpi idrici italiani suggerite per il monitoraggio

SPECIE ITTICHE SELEZIONATE	LIVELLO TROFICO* (TL)
<i>Specie di acque dolci</i>	
Trota fario [<i>Salmo (trutta) trutta</i>]	3,4 ±0,1
Barbo [<i>Barbus plebejus</i>]	3,1 ±0,4
Cavedano [<i>Leuciscus cephalus cabeda</i>]	2,7 ±0,1
Persico reale [<i>Perca fluviatilis</i>]	4,4 ±0,0
Tinca [<i>Tinca tinca</i>]	3,7 ±0,0
Coregone lavarello [<i>Coregonus lavaretus</i>]**	3,1 ±0,0
Agone [<i>Alosa agone</i>]**	3,8 ±0,4
<i>Specie acque marino – costiere e di transizione</i>	
Cefalo [<i>Mugil cephalus</i>],	2,5 ±0,2
Orata [<i>Sparus auratus</i>]	3,7 ±0,0
Spigola [<i>Dicentrarchus labrax</i>]	3,5 ±0,5

* Il valore del Livello trofico riportato in tabella è stato ripreso dalle informazioni presenti nella banca dati FishBase (<http://www.fishbase.org>)

** Per le acque lacustri sono state inserite le specie Coregone e Agone in quanto queste specie sono state utilizzate per il monitoraggio delle sostanze pericolose nel Lago Maggiore secondo CIP AIS. Questo al fine di mantenere l'informazione comparabile all'interno della serie storica anche se il Coregone è una specie aliena e quindi non risponde ad uno dei criteri definiti per la selezione delle specie.

Di seguito sono riportate le specie rappresentative di ciascuna zona ittica. In allegato le schede descrittive delle specie selezionate (All.B).

Zona a Salmonidi

Rientra nei criteri stabiliti la specie Trota fario [*Salmo (trutta) trutta*]. Si propende nella scelta di questa specie, in quanto caratterizzata da maggiore facilità di cattura e, di norma, da popolazioni più numerose.

Zona a Ciprinidi Litofili

Benchè rientrassero nei criteri sopramenzionati 7 specie, si ritiene che 3 specie Barbo [*Barbus plebejus*], Cavedano [*Leuciscus cephalus cabeda*], Trota fario [*Salmo (trutta) trutta*] siano maggiormente adatte agli scopi per dimensioni, facilità di cattura, numerosità delle popolazioni e maggiore distribuzione a livello nazionale.

Zona a Ciprinidi Fitofili

Risultano candidate 14 specie ma, per maggiore facilità di cattura e, di norma, caratterizzate da popolazioni più numerose e con una maggiore distribuzione a livello nazionale si ritengono più idonee al monitoraggio le seguenti: Cavedano [*Leuciscus cephalus cabeda*], Persico reale [*Perca fluviatilis*], Tinca [*Tinca tinca*].

Zona di Transizione / Costiera

Rispettano i criteri soglia di base ben 19 specie. Di queste si ritengono più idonee, anche in considerazione della frequentazione sia delle acque costiere sia delle acque di transizione, le seguenti: Cefalo [*Mugil cephalus*], Orata [*Sparus auratus*], Spigola [*Dicentrarchus labrax*]. Per quanto riguarda le acque di transizione e costiere si suggeriscono anche i molluschi.

MOLLUSCHI

I molluschi bivalvi sono tra i bioindicatori più utilizzati, per l'assenza di meccanismi di regolazione di concentrazione interna di molte sostanze chimiche, e la loro capacità di accumulare metalli in tracce, idrocarburi policiclici aromatici (IPA), idrocarburi alifatici, composti organici alogenati, pesticidi, ecc...

A causa delle loro caratteristiche biologiche ed ecologiche, le cozze (*Mytilus spp*) sono tra le più comunemente utilizzate in oltre 50 paesi negli ultimi 40 anni, fornendo un quadro integrato nel tempo delle locali contaminazioni (Cantillo 1998). Queste specie sono anche ben caratterizzate nel loro ciclo biologico e inoltre sono disponibili diversi dati sull'influenza di fattori naturali e ambientali sul bioaccumulo.

In tal senso le cozze (*Mytilus spp*) dovrebbero essere considerate delle specie prioritarie da indagare, utilizzando popolazioni naturali o organismi trapiantati (es. mussel watch come viene usato diffusamente nell'ambito di convenzioni internazionali (es. OSPAR, MED POL)).

In specifiche circostanze si possono considerare delle specie di bivalvi alternative (ad es. per la loro importanza ecologica sito-specifica) tra queste è possibile includere ostriche (*Crassostrea spp.*, *Ostrea spp.*), vongole (i.e. *Donax spp.*, *Chamaelea spp.*, *Tapes spp.*, *Macoma spp.*) e capasanta (*Pecten spp.*, *Chlamys spp.*).

1.2.3 PERIODO DI CAMPIONAMENTO

Le concentrazioni di sostanze inquinanti nei tessuti di organismi bioindicatori possono essere influenzati da molti fattori sia ambientali che biologici, indipendentemente dalle variazioni degli apporti antropogenici. In particolare si devono considerare attentamente fluttuazioni stagionali per la corretta interpretazione dei risultati e per discriminare la variabilità naturale dai cambiamenti dovuti agli impatti antropici.

Tra i fattori ambientali più rilevanti che possono modulare la biodisponibilità e carico tissutale delle sostanze chimiche sono: le fluttuazioni della temperatura, il materiale organico, la presenza di nutrienti, il flusso e la circolazione dell'acqua, i fenomeni sorgentizi, inserimento di fiumi o acque superficiali e il ruscellamento dal terreno. Si possono osservare cambiamenti stagionali nella concentrazione tissutale anche durante fioriture fitoplanctoniche che possono modulare la biodisponibilità di molti composti chimici.

Altre variabili biologiche rilevanti possono essere: le caratteristiche specie-specifiche intrinseche quali la fase del ciclo riproduttivo, le fluttuazioni di peso, lo sviluppo della massa del tessuto delle gonadi durante la gametogenesi e la perdita di peso durante la deposizione delle uova. **Il periodo di campionamento consigliabile è perciò quello antecedente alla fase riproduttiva.**

Quando si deve disegnare un progetto di monitoraggio a larga scala e/o a lungo termine al fine di valutare l'andamento temporale della contaminazione, l'influenza della variabilità stagionale può essere ridotta

definendo in anticipo il/i periodo/i di campionamento che saranno considerati costanti per tutti gli anni successivi. Eseguire un campionamento del biota durante il periodo dell'anno in cui le concentrazioni del contaminante non sono sostanzialmente influenzate dai cambiamenti dei meccanismi fisiologici è essenziale per la consistenza interna del campionamento.

I periodi di minimo cambiamento sono generalmente correlati ai periodi al di fuori del ciclo di deposizione delle uova e quando la quantità di cibo disponibile è relativamente costante; si raccomanda, quindi, che il campionamento avvenga nei periodi non riproduttivi. Al fine di ottenere dati comparabili dalle diverse stazioni di campionamento è necessario stabilire a monte i periodi riproduttivi in tutte le stazioni di campionamento per assicurare che i campioni siano presi nei tempi giusti.

I periodi dell'inizio dell'estate può essere suggerito per molte specie, sia considerando le condizioni di tempo favorevole sia per evitare l'impatto dovuto all'aumento delle attività turistiche con il conseguente aumento del consumo umano di pesce, crostacei e molluschi. Non è possibile definire un periodo di campionamento di valore generale senza tenere conto dei cicli biologici locali delle specie selezionate e dell'andamento locale dei fattori ambientali. Se possibile, si devono rilevare i fattori ambientali più importanti durante il campionamento (ad es. data di prelievo, temperatura dell'acqua, salinità, sviluppo del fitoplancton); in alternativa si possono riportare valori di riferimento ricavati da serie di osservazioni già disponibili presso agenzie ambientali nazionali o regionali.

Nelle aree marine, è necessario prendere in considerazione i periodi di campionamento per le differenti specie e per le diverse aree geografiche fissati nelle convenzioni internazionali (es. MED POL <http://www.unepmap.org/index.php?module=content2&catid=001017003>).

1.2.4 FREQUENZA DI CAMPIONAMENTO

Il DLgs 172/2015 stabilisce che, per conformità all'SQA, la frequenza del monitoraggio del biota deve essere almeno una volta ogni anno, a meno che conoscenze tecniche e un giudizio esperto giustifichi un diverso intervallo.

La frequenza di campionamento dovrebbe considerare le seguenti informazioni:

- lo scopo del monitoraggio e l'obiettivo del programma di campionamento;
- la semivita biologica dei contaminanti investigati;
- la presenza di pressioni permanenti (ad es. incremento dei predatori alloctoni oltre alle note pressioni antropiche) o temporanee;
- la disponibilità e la qualità di risultati pregressi o di tendenza per l'area da monitorare;
- il regime idrologico del corpo idrico indagato².

Non c'è una frequenza di campionamento ideale per tutte le condizioni ambientali e tutti gli scopi definiti per un campionamento. Le strategie di campionamento più comuni per valutare il bioaccumulo nel biota possono essere basate su una frequenza stagionale, semestrale o almeno annuale. La scelta della frequenza di campionamento più appropriata dovrebbe considerare e combinare almeno i criteri elencati in precedenza.

La semivita biologica dei contaminanti (detto anche *turnover*) riflette la rapidità con cui, una volta accumulatosi nell'organismo, il composto può essere metabolizzato ed eventualmente escreto. Gli idrocarburi policiclici aromatici, ad esempio, hanno un *turnover* molto più veloce (in un intervallo che va da 3 a 6 settimane) conseguentemente l'evento episodico di contaminazione non può essere registrato dopo un periodo più lungo. Basato su queste considerazioni, una frequenza semestrale non permette la determinazione di una fluttuazione nella biodisponibilità di IPA (ad es. in aree petrolchimiche o nei porti) mentre una frequenza mensile non è sostenibile dal punto di vista dei costi per monitorare il bioaccumulo in un sito costiero.

In termini generali, un programma di sorveglianza potrebbe essere basato su una strategia di campionamento a bassa frequenza (semestrale/annuale), specialmente se l'area da monitorare non è sottoposta a particolari

² In funzione dell'età degli animali esaminati, il regime idrologico potrebbe più o meno influire sulla concentrazione dei contaminanti. È preferibile campionare la fauna ittica in periodo di pesca (carta ittica regionale) o in periodo di magra (soprattutto tratti fluviali più grandi e profondi) o in periodo di morbida (soprattutto piccoli corsi d'acqua poco profondi).

pressioni antropiche. D'altra parte si raccomanda una frequenza maggiore (mensile o stagionale) in aree caratterizzate da presenze di specifici impatti e/o specifiche forme di inquinamento (es. aree petrolchimiche, industrie, estuari di fiumi, porti ecc...).

1.2.5 SCELTA DEL TESSUTO PER L'ANALISI DEL CONTAMINANTE

La scelta del tessuto appropriato può essere influenzata da:

- scopo del monitoraggio (studio di andamenti spaziali e/o temporali o valutazione di conformità con standard di qualità);
- classi dei composti chimici investigati (contaminanti lipofili che si ripartiscono diversamente in tessuti grassi o contaminanti con alta affinità per tessuti/organi ricchi di proteine);
- disponibilità del tessuto (quantità del materiale biologico compatibile con i criteri minimi per la performance del metodo di analisi chimiche stabiliti dalla Direttiva 2009/90/EC recepita in Italia con il D.Lgs.219/2010).

PRASSI ATTUALE DEI PROGRAMMI DI MONITORAGGIO IN CORSO

Per le specie più piccole, come la maggior parte degli invertebrati, l'unica opzione praticabile è quella di misurare i contaminanti nell'intero organismo. Quando il singolo organismo non ha una massa sufficiente per la determinazione analitica i campioni sono spesso composti (*pool* di più individui). I bivalvi sono comunemente analizzati sia individualmente che in campioni composti. Per i crostacei generalmente viene campionata la parte edibile (i.e. il muscolo delle appendici e dell'addome) se l'obiettivo del monitoraggio include la protezione della salute umana.

Nel caso dei pesci, per il monitoraggio vengono tipicamente utilizzati uno o più tessuti, ad esempio l'omogenato dell'intero pesce, il muscolo o il fegato; la scelta tra questi dipende dall'obiettivo del programma di monitoraggio e dal tipo di SQA usato per la valutazione della conformità.

Valutando la conformità allo SQA sulla base del pesce, la contaminazione è generalmente valutata sull'analisi del filetto in relazione alla protezione della salute umana oppure sul pesce intero se relativa alla protezione dei predatori.

I filetti di pesce sono generalmente analizzati senza la pelle. La parte rimanente del muscolo e il tessuto grasso nella parte interna della pelle talvolta vengono raschiati dalla pelle e aggiunti al campione per l'analisi, in accordo col Regolamento comunitario 1831/2003/EC (EC 2003a) che stabilisce i metodi di campionamento ed analisi per il controllo ufficiale di livelli di diossine e PCB diossina-simili in certi prodotti alimentari. La procedura ideale prevede che l'intero tessuto muscolare sia prima omogeneizzato e poi diviso in tanti sotto-campioni quanti ne servono per coprire l'intero range di composti analizzati. Questo vale anche per il campione di pesce intero.

IMPLICAZIONI DELL'USO DEL PESCE INTERO O DEL TESSUTO/ORGANO DI PESCE PER LA VALUTAZIONE DELLA CONFORMITÀ ALLO SQA

I contaminanti non sono distribuiti uniformemente nel pesce. Per esempio i composti organici idrofobici si concentrano più facilmente nel tessuto grasso che in quello muscolare. Nel muscolo e nelle viscere si concentrano preferibilmente altri contaminanti. Ciò ha importanti implicazioni per l'analisi e per i consumatori di pesce. In relazione a quale parte del pesce viene mangiata, il consumatore può essere diversamente esposto ai contaminanti in maniera significativa.

I composti lipofili accumulano principalmente nel tessuto adiposo compreso il lembo del ventre, la linea laterale e il grasso subcutaneo e dorsale, il tessuto muscolare scuro, branchie, occhi, cervello ed organi interni. Il tessuto muscolare in genere contiene minori concentrazioni di contaminanti organici rispetto al tessuto grasso mentre contiene più mercurio perché si lega alle proteine del muscolo. I composti come il PFOS hanno alta affinità per gli organi/tessuti ricchi di proteine, pertanto, si concentrano maggiormente nel fegato e nel rene (ad es. Goeritz et al. 2013).

Le concentrazioni nel muscolo potrebbero non rappresentare accuratamente, o predire, le concentrazioni nell'intero organismo a causa delle differenze chimico-specifiche nei tassi di assimilazione e per l'affinità per i vari tessuti e organi. Quindi si assume in generale che le concentrazioni nel filetto corrispondano solo ad una parte della concentrazione totale di composti lipofili quando espressi sulla base di un peso umido,

dovuta alla presenza di tessuto grasso all'interno degli organi che sono inclusi nelle misure nel pesce intero (cioè le concentrazioni nel filetto potrebbero risultare più basse che quelle nel pesce intero poiché il pesce intero tende ad avere una percentuale maggiore di lipidi).

Esistono tuttavia differenze tra specie di pesci. Pesci con un più alto contenuto lipidico generalmente accumulano più lipidi nella porzione del filetto che i pesci magri, che accumulano la maggior parte dei lipidi nelle viscere e nella testa, che non sono comprese nella porzione edibile.

Come conseguenza, l'uso dei dati per il filetto potrebbero sottostimare il rischio per gli animali selvatici piscivori e per le persone che consumano il pesce intero. Al contrario, le concentrazioni di contaminanti misurate nell'intero organismo potrebbero sovrastimare il rischio associato al consumo del solo filetto di pesce, ad eccezione del mercurio, che generalmente è sottostimato.

Si può concludere che l'uso delle concentrazioni di contaminanti nel pesce intero potrebbero sovrastimare il rischio per la salute umana per PBDE, HCB, PFOS, diossine e composti diossina-simili e per eptacloro ed eptacloroepossido.

Inoltre, l'uso delle concentrazioni di contaminanti nel filetto potrebbe sovrastimare il rischio per i predatori in cima alla catena alimentare per:

- sostanze prioritarie per le quali $SQA_{biota,secpois}$ è lo SQA critico, con l'eccezione del mercurio;
- sostanze prioritarie per le quali $SQA_{biota,hh}$ è lo SQA critico, il cui valore è simile a quello di $SQA_{biota,secpois}$: HCB e PFOS;
- PCB e PCDD/F;
- sostanze prioritarie per le quali $SQA_{biota,hh}$ è lo SQA critico, il cui valore è significativamente più basso di quello $SQA_{biota,secpois}$: PBDE, eptacloro ed eptacloroepossido

Nella valutazione alla conformità dello SQA per i pesci si possono quindi considerare tre opzioni:

- **Eseguire l'analisi dei contaminanti sul pesce intero:** è l'opzione più semplice e conservativa ma può portare a una eventuale sovrastima del rischio per la salute umana. Questa opzione è comunque consigliata per armonizzare il monitoraggio di specie diverse, nella misura in cui sia possibile ottenere un campione rappresentativo della totalità del pesce, anche per pesci di dimensioni rilevanti.
- **Eseguire l'analisi dei contaminanti sul tessuto muscolare o "filetto" del pesce:** questa opzione è coerente con le specifiche del regolamento sugli alimenti n° 1881/2006/EC (EC 2006b) che stabilisce il livello massimo per certi contaminanti nei generi alimentari. Tuttavia si deve prestare attenzione nella stima del rischio per i predatori in cima alla catena alimentare per quanto riguarda le concentrazioni di contaminanti nel filetto di pesce. Quando disponibili, si possono usare fattori di conversione per determinare i livelli di contaminanti passando da "filetto" a "pesce intero" per fornire la più accurata stima del rischio per i predatori al vertice della catena alimentare. Attualmente si trovano in letteratura alcune equazioni per la conversione per un numero piuttosto limitato di sostanze, tra le più rilevanti mercurio e PCB (cfr EU 2014a; Goldstein et al. 1996; Bevelhimer et al. 1997; Amrhein et al. 1999; Peterson et al. 2005).
- **Usare la concentrazione dei contaminanti normalizzata per i lipidi e selezionare qualsiasi matrice/organo** – questa opzione è basata sul fatto che lo SQA è definito per un contenuto predefinito di lipidi (5%) e che i dati misurati siano normalizzati rispetto a questo contenuto lipidico. I sistemi che usano il campionamento del fegato possono fornire risultati che sono comparabili al campionamento del pesce intero se i dati sono normalizzati per i lipidi.

Non sempre è possibile la normalizzazione delle concentrazioni per i lipidi e/o la conversione da "filetto" a "pesce intero" con il rapporto lipidico. Questo approccio basato sul rapporto è soddisfacente solo quando la concentrazione del contaminante è direttamente proporzionale al contenuto lipidico. Quando tale relazione non esiste, si possono trarre conclusioni erranee.

La tabella 1.3 riassume i differenti modi di esprimere le concentrazioni di contaminante e i tessuti/organi nei quali i contaminanti possono essere misurati nel pesce, insieme con i potenziali problemi associati a ognuno.

Tabella 1.3 - Criteri per la scelta del tessuto dei pesci per l'analisi chimica

Modo di esprimere le concentrazioni di contaminante	Tessuto/organo nei quali sono misurati i contaminanti	Possibili problemi
In base al peso fresco	Pesce intero	Sovrastima del rischio per la salute umana per PBDE, HCB, PFOS, Diossine e composti diossina-simili, eptacloro ed eptacloroepossido.
	Filetto	Sottostima del rischio per i predatori terminali per HCB, dicofol, HBCDD, HCB, PFOS, e probabilmente per diossine e composti diossina-simili. Sovrastima del rischio per i predatori terminali per mercurio
	Fegato	Sottostima del rischio per i predatori terminali. Il rischio per la salute umana non viene sottostimato finché la concentrazione del contaminante nel fegato rimane maggiore di quella misurata nel filetto del pesce, ad eccezione del mercurio.
Sulla base del peso lipidico	Qualsiasi matrice/organo	Si applica a Fluorantene, Benzo[a]pirene e composti organoclorurati: PBDE, HCB, Dicofol, PCDD, HBCDD, Eptacloro ed eptacloro epossido (Paragrafo 2.5.3.)
Sulla base del peso secco	Qualsiasi matrice/organo	Si applica a Hg e PFOS (Paragrafo 2.5.3.)

Nel caso dei molluschi bivalvi si analizza l'intero tessuto molle dell'animale (dopo aver eliminato la conchiglia), in accordo col regolamento sugli alimenti n° 1881/2006/EC (EC 2006b).

NORMALIZZAZIONE DI LIPIDI E PESO SECCO

Per le sostanze che accumulano preferenzialmente nella parte lipidica degli organismi (difenileteri bromurati, esaclorobutadiene, esaclorobenzene, dicofol, diossine e composti diossina-simili, esabromociclododecano, eptacloro ed eptacloro epossido, fluorantene, benzo[a]pirene) le concentrazioni misurate nel biota possono essere normalizzate per i pesci rispetto ad un contenuto lipidico del 5%, poiché questo valore standard è stato usato nella derivazione degli SQA_{biota} riferiti ai pesci (EC 2011a). Il fondamento che sta alla base di questa normalizzazione lipidica è che la concentrazione nell'intero organismo è correlata linearmente con il contenuto lipidico nella specie.

Per le sostanze che non accumulano attraverso la ripartizione idrofobica nei lipidi (Hg, PFOS), ma attraverso un altro meccanismo di accumulo, la normalizzazione lipidica deve essere sostituita dalla normalizzazione basata sul peso secco. Il valore di peso secco predefinito per il pesce è pari al 26% (Smit 2005; EFSA 2009).

Di conseguenza è necessario determinare nei campioni il contenuto lipidico e/o peso secco effettivi del tessuto analizzato, insieme alla concentrazione dei contaminanti. In alternativa si possono utilizzare valori generici per una particolare specie, eventualmente disponibili nella letteratura scientifica o in database come FishBase³. È sempre preferibile usare l'esatto contenuto lipidico o peso secco per i campioni di biota rispetto ad un valore generico per la specie.

³ <http://www.fishbase.org>

Per calcolare le concentrazioni normalizzate rispetto ai lipidi ($\text{conc}_{\text{norm},\text{lipide}}$) o rispetto al peso secco ($\text{conc}_{\text{norm},\text{peso_secco}}$) da misure di concentrazione su peso umido (conc_{mis}) per la specie x, si può usare la seguente equazione dove il contenuto lipidico e il peso secco sono espressi come frazione della massa:

$$\text{conc}_{\text{norm},\text{lipide}} = \text{conc}_{\text{mis}} / \text{frazione lipidica}_x$$

dove:

$\text{conc}_{\text{norm},\text{lipide}}$ = concentrazione normalizzata rispetto al contenuto lipidico espressa in [$\mu\text{g kg}^{-1}$ lipide]

conc_{mis} = concentrazione misurata

oppure

$$\text{conc}_{\text{norm},\text{peso_secco}} = \text{conc}_{\text{mis}} / \text{peso secco}_x$$

dove:

$\text{conc}_{\text{norm},\text{peso_secco}}$ = concentrazione normalizzata rispetto al peso secco espressa in [$\mu\text{g kg}^{-1}$ peso secco]

1.2.6 LIVELLO TROFICO

Gli $\text{SQA}_{\text{biota}}$ devono essere applicati al livello trofico dove le concentrazioni interne sono massime, come ad esempio il predatore della specie che a quel livello trofico è esposto alla più alta concentrazione nel cibo. Il livello trofico (TL) definisce la posizione della specie all'interno della catena alimentare. In generale, per le sostanze soggette a biomagnificazione, la concentrazione critica è raggiunta al livello trofico 4 nelle catene alimentari di acqua dolce.

Esistono, tuttavia, eccezioni alla regola generale. Per le sostanze metabolizzabili, ad esempio IPA, gli invertebrati (ad un livello più basso della catena trofica), potrebbero accumulare queste sostanze in misura maggiore dei vertebrati come i pesci. In questo caso lo standard di qualità viene derivato per la specifica catena trofica che dipende da invertebrati come i molluschi al suo livello più basso (i.e. TL=2). Per IPA $\text{SQA}_{\text{biota}}$ è quindi espresso come concentrazione nei molluschi o crostacei.

A causa del differente bioaccumulo di sostanze nelle diverse specie con diversi livelli trofici, gli $\text{SQA}_{\text{biota}}$ per PBDE, esaclorobenzene, esaclorobutadiene, mercurio, dicofol, PFOS, esabromociclododecano, eptacloro e eptacloroepossido si riferiscono al pesce, per diossine e composti diossine-simili a pesci, crostacei e molluschi, mentre per fluorantene e benzo[a]pirene si riferiscono a crostacei e molluschi (Tabella 1.1).

Il D.Lgs. 172/2015, stabilisce che, al posto dello specifico taxon per il biota, possono essere monitorati un taxon alternativo, o un'altra matrice, fermo restando che lo $\text{SQA}_{\text{biota}}$ applicato fornisca un equivalente livello di protezione. Questo implica che se, per esempio, si implementa un programma di monitoraggio con i mitili (TL=2), i dati di monitoraggio dovrebbero essere confrontati con $\text{SQA}_{\text{biota}}$ corretti per il livello trofico degli organismi campionati. Le specie utilizzate per il monitoraggio delle sostanze con $\text{SQA}_{\text{biota}}$ possono essere considerate appropriate se rappresentano un livello tra 3,5 e 4,5. Quando si considera il consumo umano di pesce, si stima ragionevolmente che i pesci a livello trofico 4 siano le specie principalmente consumate dall'uomo.

La posizione trofica non ha un valore fissato per ogni specie, ma può variare da un ecosistema all'altro e anche da un individuo all'altro. Per questo motivo è necessario determinare il livello trofico del biota campionato insieme all'analisi dei contaminanti secondo la procedura suggerita nel paragrafo seguente.

DETERMINAZIONE DEL LIVELLO TROFICO

Esistono vari metodi per stimare il livello trofico dei pesci. Un primo metodo si basa sulla misura dell'abbondanza degli isotopi stabili dell'azoto sia nei campioni di biota oggetto di analisi, sia nei produttori primari e/o consumatori primari dello stesso ambiente, che occupano rispettivamente i livelli trofici 1 e 2. I molluschi sono organismi filtratori e, come tali, i valori $\delta^{15}\text{N}$ per questi consumatori primari (che occupano il livello trofico 2) possono essere usati come valore di riferimento per la catena trofica di un certo ambiente. L'arricchimento medio in $\delta^{15}\text{N}$ in questo livello trofico è 3,4%. Il livello trofico di una specie di pesce (o altro consumatore secondario) può essere quindi calcolato in accordo con l'equazione (Vander Zanden et al 1997):

$$\text{Livello trofico (TL)} = [\delta^{15}\text{N}(\text{pesce}) - \delta^{15}\text{N}(\text{mollusco})]/3,4 + 2$$

ove:

$\delta^{15}\text{N}(\text{pesce})$ = misura del rapporto tra gli isotopi stabili $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ per la specie ittica o altro consumatore secondario

$\delta^{15}\text{N}(\text{mollusco})$ = misura del rapporto tra gli isotopi stabili $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ per la specie del mollusco

I mitili sono tipicamente organismi filtratori. Per questo motivo definiscono il livello trofico 2 nella catena alimentare in quanto consumatori primari di alghe. Conseguentemente non è necessario definire il livello trofico dei mitili poiché rientrano per definizione nel livello trofico 2.

Un secondo metodo, quello presente sulla banca dati FishBase e utilizzato in tabella 1.2, è invece basato sugli studi di composizione della dieta della specie in esame. Per stimare il TL di un taxon è necessario considerare sia la composizione della dieta della specie in esame sia il livello trofico della specie di cui si ciba.

Gli erbivori hanno generalmente un livello trofico tra 2,0 e 2,19; quelli che consumano maggiormente animali (carnivori) hanno un livello trofico uguale o maggiore di 2,8 mentre gli onnivori hanno un livello trofico tra 2,2 e 2,79.

Entrambi i metodi utilizzati per la stima dei TL danno valori molto simili, validando così sia il concetto di livello trofico che i metodi definiti per il calcolo.

STABILIRE SQA EQUIVALENTEMENTE PROTETTIVI PER TAXA ALTERNATIVI

Per stabilire un SQA equivalentemente protettivo per un altro taxon biotico è necessario tenere in considerazione il livello trofico. L'equazione seguente permette di calcolare l'SQA del taxon alternativo e può essere utilizzata per la conversione di standard di qualità ambientale a diversi livelli trofici per catene trofiche pelagiche sia di acqua dolce sia marine, dove x è il taxon che viene monitorato per il quale si deve stabilire un $\text{SQA}_{\text{biota},x}$ equivalentemente protettivo, ed $\text{SQA}_{\text{biota}}$ è lo standard esistente riferito al livello trofico 4:

$$\text{SQA}_{\text{biota}, x} = \text{SQA}_{\text{biota}} / \text{TMF}^{(4-\text{TL}(x))}$$

Ove TMF è il fattore di biomagnificazione per una determinata sostanza, elencati in tabella 1.5, e TL è il livello trofico della specie prelevata per la determinazione analitica (vedi tabella 1.2).

Questa equazione è stata sviluppata per correggere l' $\text{SQA}_{\text{biota}}$ passando da una specie ad un livello trofico più alto ad un'altra di livello trofico più basso. L' $\text{SQA}_{\text{biota}}$ derivato per gli IPA, da monitorare in crostacei e molluschi, non può essere convertito in $\text{SQA}_{\text{biota}}$ per i pesci.

I valori di TMF (fattori di magnificazione) per le diverse sostanze, ricavati come media geometrica dei dati disponibili nella letteratura scientifica, sono riportati in tabella 1.5. Nel caso non vi siano dati disponibili o non sia applicabile questa equazione, si utilizzano $\text{SQA}_{\text{biota}}$ definiti dal D.Lgs. 172/2015, eventualmente normalizzati per il diverso contenuto lipidico o peso secco del biota in esame, come descritto nella procedura al paragrafo seguente.

Per rendere più semplice l'intera procedura, è stata redatta la tabella 1.5 dove sono riportati gli $\text{SQA}_{\text{biota},x}$ già corretti per i livelli trofici 2, 3, 4, avendo tenuto in considerazione i valori di riferimento di lipidi e peso secco per i diversi taxa presentati in tabella 1.4.

Tabella 1.4 - *Contenuto lipidico e peso secco di riferimento per i diversi taxa*

TAXA	PESCE	MOLLUSCO	CROSTACEO
------	-------	----------	-----------

Frazione lipidica di riferimento	0,05	0,01	0,01
Frazione peso secco di riferimento	0,26	0,083	0,24

Se, infatti, per il pesce i valori di riferimento sono contenuto lipidico del 5%, usato nella derivazione degli SQA_{biota} (EC 2011a), e peso secco pari al 26% (Smit 2005; EFSA 2009), per i mitili, EFSA suggerisce che il peso secco sia considerato pari a 8,3% (Smit 2005; EFSA 2009) e il contenuto energetico di 19,3 kJ/g su peso secco (Smit 2005; EFSA 2009), corrispondente ad un contenuto lipidico approssimativo dell'1% per i molluschi (Bruner et al. 1994; Lazzara et al. 2012; Pleissner et al. 2012). I contenuti lipidici e il peso secco di riferimento per i diversi taxa, utilizzati nella correzione degli $SQA_{biota,x}$ in tabella 1.5, sono riportati in tabella 1.4.

PROCEDURA OPERATIVA

Per riassumere quanto detto nei paragrafi precedenti, si propone la seguente procedura operativa:

1. Selezione della specie più opportuna per il campionamento, secondo i criteri proposti nel paragrafo 2.2
2. Stima del livello trofico (TL) per la specie prescelta, mediante misure degli isotopi stabili dell'N nell'area della stazione di misura o nel corpo idrico selezionato oppure mediante l'uso di dati bibliografici disponibili in letteratura scientifica o database come FishBase (<http://www.fishbase.org/>) (paragrafo 1.2.6).
3. Scelta del tessuto da analizzare in funzione della specie di pesce, della disponibilità di materiale per l'analisi, tenendo conto della sensibilità della metodica analitica, e dell'obiettivo di protezione secondo i criteri espressi nel paragrafo 1.2.5 e tabella 1.3 anche se in un programma di monitoraggio con l'obiettivo della protezione degli ecosistemi auspicabile la scelta dell'analisi sull'organismo intero.
4. Misura diretta del contenuto lipidico o del peso secco del tessuto sottoposto all'analisi. Se non è possibile effettuare queste misure, si possono utilizzare valori medi per la specie e il tessuto disponibili in letteratura scientifica o database.
5. La concentrazione misurata nel campione x deve essere normalizzata per la frazione lipidica (per le sostanze organoclorurate e IPA) o la frazione di peso secco sul totale (per Hg, PFOS), secondo le seguenti equazioni.

$$conc_{norm, lipide} = conc_{mis} / \text{frazione lipidica}_x$$

dove:

$conc_{norm, lipide}$ = concentrazione normalizzata rispetto al contenuto lipidico

$conc_{mis}$ = concentrazione misurata nel campione umido

oppure

$$conc_{norm, peso_secco} = conc_{mis} / \text{peso secco}_x$$

dove:

$conc_{norm, dry\ weight}$ = concentrazione normalizzata rispetto al peso secco

6. Per la classificazione dello stato chimico si confrontano le concentrazioni misurate nel biota e normalizzate con $SQA_{biota,x}$ presentati in tabella 1.5, già corretti per i livelli trofici 2, 3, 4, tenendo in considerazione i valori di riferimento di lipidi e peso secco per i diversi taxa. Si consiglia di approssimare il livello trofico al valore unitario più prossimo, cioè ad es. per livelli trofici da 2,5 a 3,4 si approssima al livello trofico 3.

Tabella 1.5 - SQA_{biota} corretti per il livello trofico in funzione del contenuto lipidico e di peso secco dei diversi taxa; N.A.: non applicabile; N.D.: dati non disponibili

N	Sostanza	Matrice da monitorare secondo DLgs 172/2015	SQA_{biota} (DLgs 172/2015)	TMF	SQA_{biota} Corretti e normalizzati					Unità di misura	
					SQA_{pesce}	SQA_{pesce}	SQA_{pesce}	$SQA_{mollusco}$	$SQA_{crostaceo}$		
			[$\mu\text{g}/\text{kg}$ peso umido]		TAXA LIVELLO TROFICO	PESCE 4	PESCE 3	PESCE 2	MOLLUSCO 2	CROSTACEO 2	
(5)	Difenileteri bromurati (PBDE)	Pesci	0,0085	1,8*		0,2	0,1	0,05	0,05	0,05	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]
(9 ter)	DDT	Pesci (<5% grassi)	50	N.A.		50	50	50	N.A.	N.A.	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ peso umido]
(9 ter)	DDT	Pesci (>5% grassi)	100	N.A.		100	100	100	N.A.	N.A.	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ peso umido]
(15)	Fluorantene	Crostacei e molluschi	30	N.A.		N.A.	N.A.	N.A.	3000	3000	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]
(16)	Esaclorobenzene (HCB)	Pesci	10	2,7*		200	74	27	27	27	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]
(17)	Esaclorobutadiene (HCBd)	Pesci	55	N.D.		1100	1100	1100	1100	1100	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]
(21)	Mercurio e composti	Pesci	20	2,2**		77	35	16	16	16	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ peso secco]
(28)	Benzo[a]pirene	Crostacei e molluschi	5	N.A.		N.A.	N.A.	N.A.	500	500	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]
(34)	Dicofol	Pesci	33	N.D.		660	660	660	660	660	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]
(35)	Acido perfluorottansolfonico e suoi sali (PFOS)	Pesci	9,1	2,1***		35	17	8	25	9	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ peso secco]
(37)	Diossine e composti diossina-simili	Pesci, crostacei e molluschi	0,0065 TEQ	N.A.		0,0065 TEQ	0,0065 TEQ	0,0065 TEQ	0,0065 TEQ	0,0065 TEQ	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ peso umido]
(43)	Esabromociclododecano (HBCDD)	Pesci	167	2,7*		3340	1231	454	454	454	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]
(44)	Eptacloro ed eptacloro epossido	Pesci	0,0067	N.D.		0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	[$\mu\text{g}/\text{kg}$ lipide]

TMF calcolati *su base lipidica; **su peso secco; ***su peso fresco

2 PARTE II: CRITERI FISICO-CHIMICI PER VALUTARE LA CONCENTRAZIONE DI PIOMBO E NICHEL IN BASE ALLA BIODISPONIBILITÀ SITO-SPECIFICA NELLE ACQUE INTERNE

2.1 INTRODUZIONE

Il D.Lgs.172/2015, fissa dei limiti di concentrazione, detti Standard di Qualità Ambientale (SQA), nelle acque superficiali per 45 sostanze, o gruppi di sostanze prioritarie, tra le quali quattro elementi in traccia (Cd, Hg, Ni e Pb). Nel caso degli elementi in traccia, gli SQA sono stabiliti in termini di concentrazioni totali (intese come somma di tutti i composti che contengono l'elemento senza distinzione, per esempio, tra la forma ionica e i complessi inorganici od organici di un dato elemento) previa filtrazione del campione acquoso su un filtro con porosità di 0,45 µm.

La concentrazione totale di un elemento non necessariamente è concentrazione biodisponibile dello stesso. La frazione biodisponibile, cioè passibile di essere assunta dagli organismi ed avere effetti negativi su di essi, dipende infatti da svariati fattori ambientali (come spiegato nel CIS-WFD Guidance 27; EU, 2011). Innanzitutto, solo una parte della concentrazione totale di un elemento è potenzialmente bioaccessibile agli organismi biologici a causa dei fenomeni di speciazione dell'elemento e complessazione da parte di molecole presenti nelle acque (Semple et al., 2004). Per esempio, la ripartizione di un elemento tra le fasi particolata e disciolta è controllata da fattori come il pH, la conducibilità e il carbonio organico disciolto ed è evidente che gli elementi temporaneamente immobilizzati sulla frazione particolata non saranno generalmente accessibili ad alghe, batteri e protozoi. Inoltre, solo una parte della frazione bioaccessibile sarà incorporata all'interno delle cellule/organismi andando a formare la parte realmente biodisponibile (Semple et al., 2004).

Il problema della biodisponibilità è stato affrontato dalla legislazione europea (Direttiva 2013/39/UE) e nazionale (D.Lgs.172/2015) per tre metalli inclusi tra le sostanze prioritarie.

Nel caso di Cd, il D.Lgs.172/2015 ha fissato SQA variabili in funzione delle classi di durezza dell'acqua.

Per Pb e Ni, il decreto definisce che gli SQA, per le acque interne, si riferiscono alle concentrazioni biodisponibili delle sostanze, cioè nelle condizioni ambientali di massima biodisponibilità.

È necessario quindi stabilire dei criteri o modelli che permettano di confrontare il dato misurato nelle condizioni di biodisponibilità reali del corpo idrico con lo SQA stabilito nelle condizioni teoriche di massima biodisponibilità.

Poiché indagini sperimentali di tipo biologico per lo studio della biodisponibilità degli elementi sono lunghe, costose e complesse, da tempo si studiano approcci che permettano di prevedere la frazione biodisponibile di un elemento a partire da un numero ridotto di variabili routinariamente misurate. Uno di questi approcci è costituito dal Biotic Ligand Model (BLM) che, una volta validato e fatte salve alcune ipotesi (Di Toro et al. 2001, Vink and Verschoor, 2010), è in grado di calcolare la frazione biodisponibile di un elemento a partire esclusivamente da misure chimiche. L'utilizzo di modelli BLM per la valutazione di biodisponibilità di un metallo nell'ambiente acquatico è stato validato dal comitato scientifico europeo SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks) (SCHER,2010).

2.1.1 APPLICAZIONI DISPONIBILI

Nella sua versione completa, il BLM richiede la determinazione di dieci o più parametri (pH, carbonio organico disciolto, concentrazione di Ca, Mg, Na, K, solfato, cloruro, alcalinità, carbonio inorganico disciolto, Fe, Al e temperatura) oltre alla concentrazione dell'elemento di interesse. Poiché il monitoraggio di tali parametri accessori non è uniforme a livello comunitario e poiché alcuni parametri hanno effetti più marcati di altri sulla biodisponibilità degli elementi in traccia, alcuni ricercatori hanno sviluppato dei modelli BLM semplificati in grado di prevedere la frazione biodisponibile di un dato elemento a partire da un numero ridotto di variabili, come pH, carbonio organico disciolto (DOC), concentrazione disciolta di Ca e concentrazione dell'elemento di interesse

(Peters et al., 2011). I modelli semplificati utilizzano le proprietà di covarianza tra la concentrazione disciolta di Ca e gli altri componenti ionici principali.

Allo stato attuale sono disponibili le seguenti applicazioni, basate su modelli BLM semplificati, validate per **Ni, Cu e Zn**:

1. BioMetTool (BMT) disponibile sul sito www.bio-met.net, sviluppato da un gruppo di lavoro guidato dall'Istituto Europeo del Rame (www.eurocopper.org), dall'Associazione Internazionale dello Zinco (www.zinc.org) e dall'Associazione per la Ricerca Ambientale dei Produttori di Nichel (NiPERA, www.nipera.org) in collaborazione con le società di consulenza ARCHE (www.arche-consulting.be) e wca environment (www.wca-environment.com).
2. M-BAT, un'applicazione modificata a partire da BMT, disponibile sul sito (<http://www.wfduk.org/resources/rivers-lakes-metal-bioavailability-assessment-tool-m-bat>) dell'Agenzia per l'Ambiente britannica.
3. PNEC-Pro, sviluppata da DELTARES, NL, e disponibile sul sito (<http://www.pnec-pro.com/>) e approvato dal Ministero olandese delle Infrastrutture e dell'Ambiente

Per il **Pb** è disponibile, sul sito dell'Agenzia dell'Ambiente del Regno Unito (UK Environment Agency), un'applicazione Microsoft-Excel (<http://www.wfduk.org/resources/rivers-lakes-metal-bioavailability-assessment-tool-m-bat>) che utilizza la seguente equazione semplificata, che richiede come unica variabile aggiuntiva la concentrazione di carbonio organico disciolto (DOC).

$$\text{BioF} = 1,2 / [1,2 + 1,2 \times (\text{DOC} - 1)]$$

dove $\text{BioF} = \text{SQA}_{\text{riferimento}} / \text{SQA}_{\text{sito-specifico}}$.

$\text{SQA}_{\text{riferimento}}$ corrisponde al valore di $\text{SQA}_{\text{biodisponibile}}$ stabilito nel D.Lgs. 172/2015 ($1,2 \mu\text{g L}^{-1}$), ad una concentrazione prefissata di $1,0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ DOC, posta come la concentrazione di massima biodisponibilità. L'equazione è utilizzabile nel campo di validità tra 1 e $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ DOC (Tabella 6).

2.2 LE APPLICAZIONI PER BLM SEMPLIFICATI: PRINCIPI E DESCRIZIONE

Il software BioMetTool (BMT) è un pacchetto informatico, funzionante con diverse versioni di Microsoft-Excel, che può essere scaricato gratuitamente, previa registrazione dell'utente, dal sito www.bio-met.net. È disponibile anche una versione utilizzabile direttamente in rete senza bisogno di installare alcun programma sul proprio computer. Infine, è disponibile anche un pacchetto supplementare (*Hardness Conversion Tool*) che permette di calcolare la concentrazione di Ca necessaria al funzionamento del BMT nei casi in cui sia disponibile solo la misura della durezza. Nella conversione si presuppone che Ca e Mg contribuiscano entrambi alla durezza (Peters et al., 2011).

Il BMT semplifica l'utilizzo del tradizionale BLM per il calcolo della frazione biodisponibile di un elemento. Mentre per il funzionamento dei software BLM sono necessari più di 10 parametri fisico-chimici e tempi di calcolo dell'ordine di 1 minuto a campione, il BMT necessita solamente che siano determinati pH, DOC e la concentrazione di calcio.

Il BMT si basa sull'utilizzo di un database di migliaia di combinazioni di pH, DOC e Ca insieme con le corrispondenti Hazard Concentration 5% (HC5) ottenute tramite i modelli BLM completi. HC5 sono le concentrazioni il cui superamento non rappresenta un rischio per più del 5% delle specie presenti in un dato ambiente. I dati chimico-fisici forniti dall'utilizzatore vengono confrontati con le combinazioni inserite nel database di riferimento del BMT e la miglior approssimazione disponibile per HC5 viene selezionata per derivare l'SQA locale. Il modello semplificato è stato validato a partire da un set di dati provenienti da diversi Stati Membri europei (Merrington et al., 2016), tra i quali l'Italia nella prima fase di sviluppo (Vignati e Polesello, 2012). Per ulteriori dettagli sulla validazione del BMT e sui principi e le ipotesi si rimanda alla guida dell'utilizzatore (www.bio-met.net) e alla pubblicazione di Peters et al. 2011.

L'applicazione M-BAT è stata sviluppata dall'Agenzia dell'Ambiente del Regno Unito a partire dall'applicazione BioMetTool, Dettagli sui modelli utilizzati per sviluppare l'applicazione e sulle prove di validazione, nonché informazioni pratiche sull'uso dell'applicativo sono raccolte in una Linea Guida disponibile a livello di bozza finale, ma non ancora inclusa formalmente tra le linee guida riconosciute dalla Common Implementation Strategy della WFD (WCA, 2015).

In alternativa è disponibile l'applicazione PNEC-Pro, sviluppata da una società di consulenza ambientale olandese (Deltares) con l'Università di Leida, approvata dal Ministero olandese delle Infrastrutture e dell'Ambiente e disponibile gratuitamente su un sito web dedicato (<http://www.pnec-pro.com/>) previa registrazione. Essa è basata su dataset diversi ed utilizza un differente approccio per normalizzare i dati ecotossicologici e un diverso numero di BLM. I modelli utilizzati per costruire l'applicazione sono descritti in dettaglio in Verschoor et al., 2012.

Nei paragrafi seguenti descriveremo le modalità operative e le caratteristiche dell'applicazione M-BAT, messa a disposizione in versione italiana sul sito SINTAI.

2.2.1. UTILIZZO DEL M-BAT E SUA INTERPRETAZIONE

Una volta inserite le informazioni necessarie (parametri e concentrazioni degli elementi), il M-BAT fornisce quattro tipi di risultati:

- a) La concentrazione predittiva di non effetto (PNEC) sito specifica: si tratta di un PNEC ($\mu\text{g L}^{-1}$) calcolato in base ai valori specifici di pH, DOC e Ca del sito in esame.
- b) Il fattore di biodisponibilità (BioF): si tratta di un numero adimensionale che indica la biodisponibilità relativa di un elemento nelle condizioni sito specifiche rispetto a quelle di riferimento (massima biodisponibilità). In termini pratici, il BioF è il rapporto tra l' $\text{SQA}_{\text{biodisponibile}}$ e il PNEC sito-specifico. Gli $\text{SQA}_{\text{biodisponibile}}$ corrispondono a situazioni di massima biodisponibilità di un elemento (massimo rischio) e sono le concentrazioni riportate nella tabella 1/A del DLgs 172/2015 (Ni: $4 \mu\text{g L}^{-1}$; Pb $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$).
- c) La stima della concentrazione biodisponibile (Concentrazione di Metallo Biodisponibile): rappresenta la concentrazione biodisponibile di un elemento (in $\mu\text{g L}^{-1}$) per un dato sito. Si calcola moltiplicando il BioF per la concentrazione misurata.
- d) Il Rapporto di Caratterizzazione del Rischio (RCR): si tratta di un numero adimensionale che, per valori maggiori di 1, identifica situazioni di rischio potenziale. Si calcola dal rapporto la concentrazione biodisponibile, ottenuta moltiplicando la concentrazione totale per il BioF, e il valore di $\text{SQA}_{\text{biodisponibile}}$ dell'elemento in esame.

Si noti che i risultati di tipo 'a' e 'b' sono calcolati a partire dai valori di pH, DOC e Ca, senza bisogno di inserire la concentrazione misurata degli elementi di interesse. In questo modo è possibile ottenere indicazioni sulla sensibilità relativa di vari corpi idrici all'inquinamento da elementi in traccia. All'opposto, per il calcolo dei risultati 'c' e 'd' è necessario inserire la concentrazione misurata degli elementi in traccia.

Dal punto di vista operativo, per utilizzare questa applicazione, si devono compiere le seguenti operazioni:

1. Inizio: "cliccare" sul pulsante Start posto in alto a sinistra della pagina di Introduzione. Ciò consentirà l'apertura del foglio 'Metal Bioavailability Assessment Tool'.
2. Questo foglio contiene una tabella vuota (qualora non lo fosse, clicca sul pulsante Clear Data per svuotarlo).
3. I dati relativi ai campionamenti devono essere riportati nelle colonne grigie sulla sinistra del foglio, come segue:

- Località (in cui il campione è stato raccolto)
- CI (nome del Corpo Idrico contenente la località del campionamento)
- Data (in cui il campione è stato raccolto)
- pH del campione (obbligatorio)
- DOC misurato nel campione (mg/L) (obbligatorio)
- Ca misurato nel campione (mg/L) (obbligatorio)

Inoltre è possibile immettere le concentrazioni disciolte ($\mu\text{g L}^{-1}$) del Cu, Ni, Zn e Mn misurate nei campioni in esame. Il modello funzionerà con o senza questi valori.

Qualora queste celle restassero vuote, l'output rappresenterà una valutazione del pericolo. Questa tipologia di valutazione fornisce PNEC sito-specifiche, e pertanto un'indicazione sulla potenziale sensibilità delle acque in esame.

4. Una volta immessi i dati, premi sul pulsante "Calculate" per continuare. Si aprirà una finestra automatica non appena completati i calcoli. Clicca su OK per continuare.

5. I risultati corrispondenti ai diversi metalli sono mostrati nella porzione di destra della tabella: i risultati per il rame nelle colonne arancioni, quelli per lo zinco nelle colonne verdi, il manganese nelle colonne gialle e il nichel in quelle blu.

In tutti i casi, i seguenti risultati sono mostrati:

- PNEC sito-specifiche (in forma disciolta) per ogni metallo ($\mu\text{g L}^{-1}$)
- BioF per ogni metallo

Qualora le concentrazioni misurate dei quattro metalli siano state immesse nella tabella di input, si ottengono anche i seguenti risultati:

- Concentrazioni biodisponibili per ciascun metallo ($\mu\text{g L}^{-1}$)
- Rapporto di caratterizzazione del rischio (RCR) per ogni metallo.

6. Le celle verranno evidenziate in rosso ogni qualvolta il valore della Caratterizzazione del Rischio sarà uguale, o maggiore, a 1 ($\text{RCR} \geq 1$).

7. Per vedere l'informazione contenuta nel riquadro dei commenti delle celle (laddove compare), sposta il cursore sopra di esse.

Il riquadro dei commenti verrà generato quando i valori di pH, Ca o DOC sono al di fuori dei loro limiti prefissati (vedi paragrafo 2.2). In questo caso la corrispondente cella contenente il valore del parametro viene identificata con un triangolo rosso nell'angolo superiore destro. Posizionando il puntatore sul triangolo è possibile leggere il corrispondente avviso che indicherà quale valore ha superato tale limite, e qual è stato il valore di riferimento usato nel calcolo di quel risultato.

Attualmente, M-BAT effettua calcoli per il rame (Cu), nichel (Ni), zinco (Zn) e manganese (Mn). Ulteriori informazioni sull'utilizzo di questo strumento e sull'interpretazione dei risultati possono essere richieste sulla contact page del sito-web del gruppo UKTAG (UK WFD Technical Advisory Group; www.wfduk.org).

2.3 INTERVALLO DI VALIDITÀ E FONTI DI INCERTEZZA

I modelli BLM semplificati, come M-BAT, sono stati validati per intervalli definiti di pH, DOC e Ca (Tabella 2.1). La guida dell'utilizzatore dell'applicazione BMT (www.bio-met.net) fornisce vari suggerimenti sui comportamenti più idonei da adottare per utilizzare i modelli semplificati quando i parametri aggiuntivi sono al di fuori degli intervalli di validazione.

Tabella 2.1 - Intervalli di validità del modello

	pH	Calcio [mg L^{-1}]	DOC [mg L^{-1}]
Nichel	6,5-8,7	2-88	1-20
Piombo	-	-	1- 20

Nel caso dell'applicazione ad altri metalli non inclusi nell'elenco delle sostanze prioritarie, i limiti di utilizzo per il modello M-BAT sono i seguenti:

per il Rame: Calcio: 3,1-93 mg L^{-1} ; pH: 6,0-8,5; DOC: 1-15 mg L^{-1}

per il Manganese: Calcio: 1-200 mg L^{-1} ; pH: 5,5-8,5; DOC: 1-20 mg L^{-1}

per lo Zinco: Calcio: 3,0-160 mg L^{-1} ; pH: 6,0-8,0; DOC: 1-20 mg L^{-1}

Non esistono, allo stato attuale, modelli BLM semplificati per altri metalli.

Le applicazioni basate sui modelli BLM sono state validate per acque superficiali, e sicuramente sono escluse dal campo di applicabilità acque marine e acque di scarico. Vi sono poi particolari tipologie di corpi idrici per le quali il modello può essere gravato da una incertezza molto elevata:

- Acque dolci con concentrazioni di calcio molto basse. Lo ione Ca^{2+} non compete con l'elemento in traccia nel legame con il legante organico.
- Acque acide con valori bassi di pH. Lo ione H^+ compete con l'elemento per l'interazione col legante, riducendo la capacità complessante, con un aumento della biodisponibilità del metallo.
- Acque alcaline, con valori elevati di pH, che dovrebbe favorire la complessazione da parte del legante.

In tutti questi casi si applica lo $\text{SQA}_{\text{biodisponibile}}$ senza correzioni.

Bisogna però ricordare che i modelli BLM hanno alcune limitazioni di carattere generale:

- sono stati sviluppati a partire dai risultati di test di tossicità acuta, ma vengono applicati in un contesto di esposizione cronica (a lungo termine)
- partono dal presupposto che non vi sia assunzione efficace attraverso la dieta (assunzione in generale valida per Ni e Pb)
- non tengono conto degli effetti tossici combinati delle miscele

2.4 APPLICAZIONE DEI MODELLI BLM AL MONITORAGGIO E ALLA CLASSIFICAZIONE

La Figura 2.1 presenta lo schema dell'applicazione dei modelli BLM nel monitoraggio e nella classificazione secondo uno schema a più livelli.

Nel livello 1 si confronta la media annuale dei dati analitici di una stazione di monitoraggio con lo $\text{SQA}_{\text{biodisponibile}}$ riportato nella Tabella 1/A del D.Lgs. 172/2015. Se si verifica un superamento del limite, si prosegue con il livello 2 prendendo in considerazione la biodisponibilità sito-specifica.

In questo caso le singole misure analitiche devono essere corrette per le caratteristiche misurate nel sito di campionamento attraverso i modelli BLM semplificati. Si calcola la media annuale di queste concentrazioni biodisponibili e si confronta con $\text{SQA}_{\text{biodisponibile}}$. Nel caso la media "biodisponibile" sia inferiore allo standard di qualità, lo stato chimico viene classificato "buono" per quell'elemento.

In caso contrario, si prosegue col livello 3 nel quale si prendono in considerazione le concentrazioni di fondo nel sito per l'elemento in esame. Se le concentrazioni di fondo non sono in grado di spiegare l'entità del superamento, si devono mettere in atto le misure per la ricerca delle fonti, la mitigazione delle concentrazioni e l'eventuale ripristino.

Il fattore ovviamente limitante per l'applicazione dei modelli di biodisponibilità è la disponibilità delle variabili aggiuntive in ogni sito e data di campionamento.

È possibile ovviare all'assenza parziale di questi dati applicando valori tipici per il bacino o sottobacino in esame. Questi valori, in accordo con i dossier europei di derivazione degli standard di qualità per gli elementi in traccia, possono essere ricavati come il 25percentile della distribuzione delle concentrazioni di Ca disciolto e DOC misurate nel bacino o sottobacino, mentre, nel caso di pH, come il 75percentile della distribuzione dei valori di pH (ovvero l'antilog del 25percentile delle concentrazioni di ione H^+).

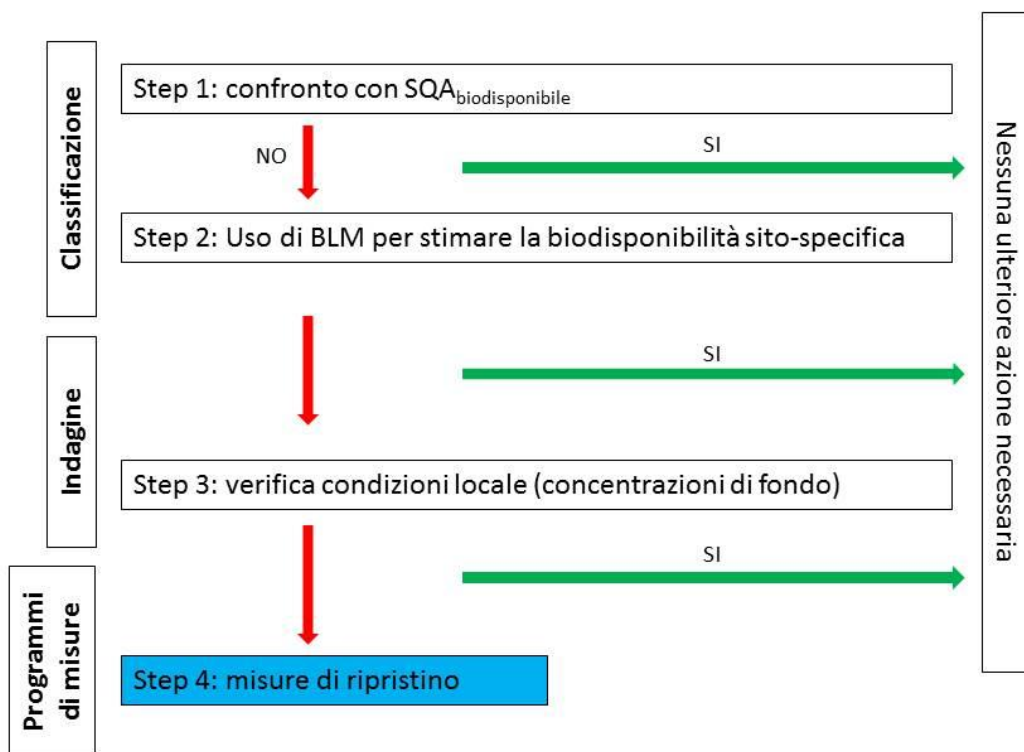


Figura 2.1 Schema a più livelli di implementazione dei modelli di biodisponibilità nella classificazione di un corpo idrico.

Bibliografia

Parte I:

Amrhein JF, Stow CA, Wible C, 1999. Whole-fish versus filet polychlorinated-biphenyl concentrations: an analysis using classification and regression tree models. *Environ Toxicol Chem*, 18: 1871-1823.

Besse JP, Geffard O, Coquery M., 2012. Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive, *Trends Anal Chem*, 36:113–127.

Bevelhimer MS, Beauchamp JJ, Sample BE, Southworth GR. 1997. Estimation of whole-fish contaminant concentrations from fish fillet data. ES/ER/TM-202. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, USA. <https://rais.ornl.gov/documents/tm202.pdf>

Bruner KA, Fisher SW, Landrum PF. 1994. The Role of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in contaminant cycling: I. The effect of body size and lipid content on the bioconcentration of PCBs and PAHs. *J Great Lakes Res* 20: 725-734.

Cantillo AY, 1998. Comparison of Results of Mussel Watch Programs of the United States and France with Worldwide Mussel Watch Studies. *Mar. Pollut. Bullet.*, 36: 712-717.

EC 2006a. Commission Regulation (EC) No 1883/2006 of December 2006 laying down methods of sampling and analysis for the official control of levels of dioxins and dioxin-like PCBs in certain foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 364/32.

EC 2006b. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, *Official Journal of the European Union* L 364, 20.12.2006, p. 5–24.

EFSA 2009. Guidance Document on Risk Assessment for Birds and Mammals. Parma, Italy: European Food Safety Authority. 358 pp.

EU 2010. CIS-WFD Guidance Document No. 25 Guidance on chemical monitoring of sediment and biota under the Water Framework Directive, Technical Report 2010-041, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2010

EU 2011. CIS-WFD Guidance Document No. 27 Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards. Technical Report-2011-055. Office for Official Publications in the European Communities, Luxembourg.

EU 2014a. CIS-WFD Guidance Document No. 32 on Biota Monitoring (The Implementation of EQS_{biota}) under the Water Framework Directive, Technical Report 2014-083, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2014.

EU 2014b. CIS-WFD Guidance Document No. 33 on Analytical Methods for Biota Monitoring under the Water Framework Directive, Technical Report 2014-084, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2014.

Goeritz I, Falk S, Stahl T, Schäfers, Schlechtriem C. 2013. Biomagnification and tissue distribution of perfluoroalkyl substances in market-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 32(9): 2078-2088.

Goldstein RM, Brigham ME, Stauffer JC. 1996. Comparison of mercury concentrations in liver, muscle, whole bodies, and composites of fish from the Red River of the North. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 244-252.

ISPRA 2014, Metodi biologici per le acque superficiali interne, Manuali e Linee Guida 111/2014.

Lazzara R, Fernandes D, Faria M, López JF, Tauler R, Porte C. 2012. Changes in lipid content and fatty acid composition along the reproductive cycle of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*: Its modulation by clofibrate exposure. *Sci Total Environ* 432: 195-201.

Peterson SA, Van Sickle J, Hughes RM, Schacher JA, Echols SF. 2005. A biopsy procedure for determining filet and predicting whole-fish mercury concentration. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 48: 99-107.

Pleissner D, Eriksen NT, Lundgreen K, Riisgård HU. 2012. Biomass composition of blue mussels, *Mytilus edulis*, is affected by living site and species of ingested microalgae. *ISRN Zoology* 2012: 1-12.

Smit CE. 2005. Energy and moisture content and assimilation efficiency of bird and mammal food. Bilthoven, The Netherlands: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM). Report nr. RIVM report 601516013/2005. 57-71 pp. (rivm.openrepository.com/rivm/.../601516013.pdf)

Vander Zanden MJ, Cabana G, Rasmussen JB. 1997. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54 (5): 1142-1158.

Parte II: Criteri fisico-chimici per valutare la concentrazione di piombo e nichel in base alla biodisponibilità sito-specifica nelle acque interne

Di Toro D, Allen HE, Bergman HL, Meyer JS, Paquin PR, Santore RC, 2001. Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical Basis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20: 2383–2396.

EU, 2010. Guidance document No. 25 on chemical monitoring of sediment and biota under the Water Framework Directive. Technical Report – 2010 – 041, ISBN 978-92-79-16224-4.

EU, 2011. Guidance document No. 27. Technical guidance for deriving Environmental Quality Standards. Technical report – 2011 – 055, ISBN 978-92-79-16228-2.

Merrington G, Peters A, Schlekatz CE, 2016. Accounting for Metal Bioavailability in Assessing Water Quality: A Step Change?, *Environmental Toxicology & Chemistry*, 35:257–265

Peters A., Merrington G., de Schamphelaere K., Delbeke K. 2011. Regulatory consideration of bioavailability for metals: simplification of input parameters for the chronic copper biotic ligand model. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7: 437 – 444.

SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks), Opinion on the Chemicals and the Water Framework Directive: Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards, 2010. http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/docs/scher_o_127.pdf

Semple KT, Doick KJ, Jones KC, Burauel P, Craven A, Harms H, 2004. Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediments is complicated. *Environmental Science Technology*, 38: 228A–231A.

Verschoor AJ, Vink JPM, Vijver MG (2012). Simplification of biotic ligand models of Cu, Ni, and Zn by 1-, 2-, and 3-parameter transfer functions. *Integrated Environmental Assessment and Management* 8: 738-748

Vignati D, Polesello S, 2012. Definizione di standard di qualità ambientale sito-specifici, *Laboratorio2000*, aprile 2012, 32-37.

Vink J, Verschoor A, 2010. Biotic Ligand Models: availability, performance and applicability for water quality assessment. *Rapport Deltares* 1203842-000.

WCA, 2015. Technical guidance to implement bioavailability-based environmental quality standards for metals, Draft: April 2015

ALLEGATO A: SCHEDE PER LA REGISTRAZIONE DELLE INFORMAZIONI STAZIONALI E BIOLOGICHE

Sono fornite due schede: la prima per la raccolta di informazioni generali, la seconda per informazioni specifiche sul campione, di questa è fornita anche un esempio di compilazione. La versione in excel è disponibile su SINTAI.

LINEA GUIDA PER IL MONITORAGGIO AI SENSI DEL DLgs. 172/2015										
SCHEDA 1 di 2: Informazioni Generali										
PAG.1 di 2										
	FIUME				SITO (inserire anche Comune e Provincia)				DATA	
	STAZIONE (nome e codice)				OPERATORE (nome, cognome, tel.)					
	Coordinate		METEO							
			T(aria)		Vento		Pioggia		Nuvolos.	
	Largh. Alveo Attivo		Largh. Alveo Bagnato			Lungh.Tratto Quant.		Lungh.Tratto Qualit.		
	O2		pH		T(acqua)		Conducib.		fondo vis.	
SEGM	MESOHABITAT									
	Pozze	Laminare	Correntini	Raschi	Rapide	Saltelli	Cascata	Barre/ Isole		
	1									
	2									
	3									
SEGM	PROFONDITA'					OMBR.	SCHIUME IDROCARB	MEZZI IN ALVEO		
	=<20	21-40	41-60	60-80	>80			RECENTE	PASSATA	
	1									
	2									
	3									
SEGM	SUBSTRATO									
	ROCCIA	MGL _{>40cm}	MAC _{20-40cm}	MES _{6-20cm}	MIC _{2-6cm}	GHI _{0,2-2cm}	SAB _{6µ-2mm}	ARG _{<6µ}	ARTIFICIALE	M.emerg.
	1									
	2									
	3									
SEGM	TIPI DI FLUSSO									
	fl. Caotico	O. rotte	Scivolo	O. intatte	Incrispato	Risal. Bolle	Laminare	Ferma	Asciutto	
	1									
	2									
	3									
SEGM	VEGETAZIONE					MATERIALE ORGANICO			Deposito fine	
	Alge filam.	Alge feltro	Macr.somm	Macr.emerg	Rad.vive	xylal	C POM	FPOM		
	1									
	2									
	3									
4										

LINEA GUIDA PER IL MONITORAGGIO AI SENSI DEL DLgs. 172/2015
MONITORAGGIO
SCHEDA 1 di 2: Informazioni Generali
Pag. 2 di 2 PARAMETRI STAZIONALI

PARAMETRI STAZIONALI	
1	Temperatura
2	Conducibilità elettrica
3	Ossigeno disciolto
4	pH
5	Trasparenza dell'acqua
6	Condizioni meteo
7	Larghezza alveo attivo
8	Larghezza alveo bagnato
9	Ombreggiamento
10	Mesohabitat
11	Profondità
12	Tipo di flusso
13	Microhabitat – Tipologia di substrati
14	Copertura % vegetazione/materiale organico in alveo
15	Presenza evidente di schiume di origine sintetica e/o idrocarburi
16	Evidenza di attività antropica in alveo
17	Barre di meandro e/o isole

Note

- I dati 1-5 (chimico-fisici) devono essere rilevati una sola volta prima dell'inizio del campionamento ittico.
- I dati 6 (condizioni meteo) devono essere rilevati all'inizio e al termine del campionamento ittico
- I dati 7-8 (larghezza alveo) devono derivare dalla media di non meno di 3 misurazioni effettuate in punti adeguatamente distanziati della stazione.
- I dati 9-10 (Ombreggiamento e Mesohabitat) devono essere forniti stimandone la % di copertura su ciascun segmento.
- I dati 11-14 (Profondità, Tipo di flusso, Microhabitat, Vegetazione/materiale organico) devono essere forniti in % di copertura.
- I dati 15-17 (schiume/idrocarburi, disturbo antropico, barre/isole) devono essere registrati come presenza/assenza per ciascun segmento campionato o sull'intero tratto.

SCHEDA N.2 “ INFORMAZIONI SPECIFICHE CAMPIONE”

LINEA GUIDA PER IL MONITORAGGIO AI SENSI DEL DLgs. 172/2015								
SCHEDA 2 di 2: Informazioni Specifiche Campione :specie, lunghezza e peso								
PAG.1 di 1								
FIUME	STAZ (nome e cod.)				DATA	N.		
NOTE								
ID	SPECIE	L	P	ID	SPECIE	L	P	ID/NOTE
1				23				
2				24				
3				25				
4				26				
5				27				
6				28				
7				29				
8				30				
9				31				
10				32				
11				33				
12				34				
13				35				
14				36				
15				37				
16				38				
17				39				
18				40				
19				41				
20				42				
21				43				
22				44				

ID = da utilizzare per richiamare il numero del record nel caso di annotazioni aggiuntive sull'esemplare misurato
L= Lunghezza totale P = peso

ESEMPIO

LINEA GUIDA PER IL MONITORAGGIO AI SENSI DEL DLgs. 172/2015								
SCHEDA 2 di 2: Informazioni Specifiche Campione: specie, lunghezza e peso								
PAG.1 di 1								
FIUME			STAZ (nome e cod.)			DATA	N.SCHEDA	
Vara			Castiglione XXX			xxxxxx	1/n	
NOTE								
ID	SPECIE	L	P	ID	SPECIE	L	P	ID/NOTE
1	<i>Cavedano</i>	<i>14</i>	<i>23</i>	23				1/p.caudale erosa
2	<i>Anguilla</i>	<i>31,1</i>	<i>69</i>	24				
3	<i>Barbo</i>	<i>5,8</i>	<i>2</i>	25				
4	<i>Barbo can.</i>	<i>10,6</i>	<i>12</i>	26				4/funghi testa
5				27				
6				28				
7				29				
8				30				
9				31				
10				32				
11				33				
12				34				
13				35				
14				36				
15				37				
16				38				
17				39				
18				40				
19				41				
20				42				
21				43				
22				44				

ALLEGATO B: SCHEDE DELLE SPECIE INDIVIDUATE

Trota fario [*Salmo (trutta) trutta*]

Specie con discreta valenza ecologica. Nel suo areale occupa vari tipi di ambiente, purché le acque siano limpide, fredde (temperature normalmente al di sotto di 15°C) e ben ossigenate. Nelle acque interne occupa 2 diversi tipi di ambiente, mostrando differenti fenotipi in relazione alle caratteristiche ambientali (ecotipi). Mostra abitudini solitarie e territoriali. I vari gruppi di età occupano habitat diversi. Nei corsi d'acqua gli adulti tendono a distribuirsi uniformemente nel corpo centrale dell'alveo, mentre i giovani si concentrano soprattutto presso le rive, in aree con minore profondità e con corrente più moderata. Specie carnivora, gli esemplari di taglia maggiore predano anche piccoli pesci e, occasionalmente, anfibi. Nei corsi d'acqua le trote raggiungono mediamente 9-13 cm al termine del primo anno di vita, 16-20 cm nel secondo, 20-25 al 3°, circa 30 cm al 4° anno. La maturità sessuale viene di solito raggiunta nei maschi al 2° anno di età e ne 3° dalle femmine. Il dimorfismo sessuale riguarda solo la livrea durante il periodo riproduttivo, quando i maschi assumono una colorazione nerastra nella parte inferiore del capo e nella regione ventrale. La riproduzione ricade nella maggior parte dei casi in dicembre e gennaio. In questo periodo gli esemplari sessualmente maturi si spostano nei tratti più a monte dei fiumi e negli affluenti minori, alla ricerca di aree con fondo ghiaioso adatte alla deposizione dei gameti. Le femmine giungono per prime e, dopo intensa competizione, conquistano i siti riproduttivi idonei, posti generalmente in acque poco profonde e con velocità moderata. Qui preparano una sorta di nido ovale dove depongono le uova, fecondate subito dopo dei maschi. Le uova vengono quindi ricoperte dalla ghiaia spostata con forti colpi di coda da parte delle femmine. Lo sviluppo embrionale è piuttosto lungo e richiede un numero di giorni pari a circa 450°C totali (es. occorrono 45 giorni per la schiusa se la temperatura giornaliera è di 10°C). Gli avannotti stazionano per un lungo periodo nei pressi del luogo dove sono nati, solo dopo un anno circa si spingono verso valle.

La Trota fario risulta presente in tutte le regioni, preferisce le acque a corrente veloce con granulometria del substrato elevata (anche se per la riproduzione ricerca zone ghiaiose). È tipica della zona ittica a Salmonidi ma la si può ritrovare anche nella zona ittica a Ciprinidi litofili.

Cavedano [*Leuciscus cephalus cabeda*]

La specie può raggiungere i 4 chili di peso e mostra un rapido accrescimento negli ambienti che hanno buone condizioni trofiche e termiche. Età massima raggiungibile allo stato selvatico è di 15 anni (con le femmine più longeve dei maschi). In Italia sono stati osservati individui fino a 12 anni di età con lunghezza di circa 50 cm e peso di quasi 2 chili. L'accrescimento è simile nei due sessi fino al 4° anno di età, successivamente le femmine crescono con maggiore velocità. Studi condotti sull'accrescimento del fiume Po hanno portato i seguenti risultati: a un anno di età la lunghezza totale è di 14-16 cm (35-45 g di peso), a 3 anni è 23-30 cm (310-340 g), a 5 anni è 33-35 cm (450-600 g), a 7 anni (solo femmine) arriva 39 cm e 1,4 kg circa; oltre il 6° anno la popolazione è risultata costituita interamente da femmine. La maturità sessuale viene raggiunta a 2-4 anni, probabilmente con un anno di anticipo nei maschi. Il dimorfismo sessuale è evidente solo nel periodo riproduttivo: i maschi presentano piccoli tubercoli nuziali sul corpo e sul capo. Il periodo riproduttivo differisce nelle diverse popolazioni soprattutto in relazione alle condizioni termiche.

Il Cavedano risulta ben distribuito nella gran parte delle regioni, più localizzato in poche altre pressoché assente in Sicilia e Sardegna. Il periodo riproduttivo può andare da aprile a giugno. I giovani sono gregari mentre gli adulti tendono ad essere solitari. Predilige soprattutto acque a corrente veloce ma la sua plasticità gli consente di frequentare anche acque lente. La ghiaia è il substrato di elezione. Il Cavedano è tipico delle zone ittiche a Ciprinidi.

Barbo [*Barbus plebejus*]

È un pesce con discreta valenza ecologica in grado di occupare vari tratti di un corso d'acqua, anche quelli di piccole dimensioni, purché le acque risultino ben ossigenate. Predilige i tratti medio-alti dove la corrente è vivace, l'acqua è limpida e il fondo è ghiaioso. Tale tipo di fondo risulta indispensabile per la deposizione dei gameti. È specie considerata tipica della Zona dei Ciprinidi a deposizione litofila. Fuori dal periodo riproduttivo gli esemplari di taglia maggiore si spostano a valle, probabilmente per motivi trofici, mostrando la capacità di tollerare una certa torbidità dell'acqua e di vivere bene anche in ambienti dove la velocità di questa è moderata. Pesce gregario di taglia medio-grande che vive in piccoli gruppi preferibilmente in prossimità di "buche" o nei tratti dove l'acqua è più profonda. Le abitudini sono bentoniche. Studi sull'accrescimento condotti nel fiume Po hanno evidenziato le seguenti misure: a un anno di età la lunghezza totale è di 14-20 cm (20-100 g), a 3 anni è 32-34 cm (450-500 g), a 5 anni è 41-42 cm (950-1050 g), a 7 anni (solo femmine) arriva a 70 cm e 3.2 kg circa. L'accrescimento è simile nei due sessi. I maschi hanno un tasso di sopravvivenza inferiore delle femmine: fino al 3° anno di età rappresentano il 33-40% della popolazione, per decrescere progressivamente sino al 7° anno di età, dove la percentuale di maschi è quasi nulla. La maturità sessuale viene raggiunta a 2-3 anni nei maschi e 4-5 anni nelle femmine. Non c'è un evidente dimorfismo sessuale. La riproduzione ha luogo quando la temperatura dell'acqua raggiunge i 16-17°, tra aprile e luglio. Durante la stagione riproduttiva risalgono i corsi d'acqua occupando anche piccoli affluenti fino a trovare aree con fondali ghiaiosi e corrente vivace; qui i nuclei riproduttivi, composti da una sola femmina e da alcuni maschi, depongono i gameti. A 16°C la schiusa delle uova ha luogo dopo circa 8 giorni. 10-20 giorni dopo la nascita i piccoli, dopo aver consumato il sacco vitellino, iniziano la ricerca attiva del cibo muovendosi a mezz'acqua in sciame misti costituiti da varie specie di Ciprinidi da acqua corrente. Dopo alcuni mesi cominciano a condurre vita bentonica. Il Barbo è in grado di tollerare modeste compromissioni della qualità delle acque.

Il Barbo risulta ben distribuito in gran parte delle regioni italiane, assente in Calabria, Sicilia e Sardegna, localizzato/assente in Valle d'Aosta. Il periodo riproduttivo va da aprile a luglio e seleziona le aree ghiaiose per la deposizione. Predilige le acque a corrente piuttosto veloce ma si adatta anche a quelle a corrente più moderata.

Persico reale [*Perca fluviatilis*]

Specie con discreta valenza ecologica, è in grado di stabilire popolazioni autonome in differenti ambienti: bacini lacustri (purché con buona concentrazione di ossigeno); tratti medi e medio-bassi dei fiumi; acque salmastre e marine con bassa salinità. Mostra una preferenza per le acque limpide e non riesce a vivere in ambienti che hanno una concentrazione di ossigeno inferiore a 3 ml per litro. È un predatore di media taglia che mostra nelle prime classi di età uno spiccato comportamento gregario: i gruppi, spesso numerosi, sono composte da giovani ma anche da qualche individuo più grande. Individui di età e taglia maggiore conducono vita solitaria. La livrea varia in relazione ai diversi tipi di habitat frequentati e può essere influenzata dall'alimentazione (es. colorazioni tendenti al giallo ed al rosso dipendono da una dieta ricca di crostacei). L'attività di caccia ha luogo durante le ore diurne ed è particolarmente intensa nel periodo primaverile ed estivo. Svolge un importante ruolo ecologico negli ecosistemi delle acque interne controllando la demografia delle popolazioni di pesci di piccola e media taglia ad alta fecondità (come la maggior parte dei Ciprinidi). Sul lago Trasimeno è stato osservato un accrescimento continuo durante tutto l'anno. Nel bacino del Po a un anno di età gli individui misurano circa 10 cm di lunghezza, a 2 anni 15 cm, a 3 anni 17-19 cm, a 5 anni 22-25 cm. L'età massima normalmente raggiunta è di 7-8 anni. Non sono state evidenziate differenze nella crescita tra maschi e femmine. Nel nostro ambiente la maturità sessuale viene raggiunta normalmente al 2° anno di età in entrambi i sessi.

Il Persico reale è presente nel 75% delle regioni italiane, ma in molte di queste è localizzato o molto localizzato. Il periodo riproduttivo può andare da marzo a giugno. I giovani sono gregari mentre gli adulti tendono ad essere solitari. Predilige le acque a corrente non eccessivamente veloce ma al riguardo risulta piuttosto plastico. È specie presente nella zona ittica a Ciprinidi fitofili e nelle acque di transizione.

Tinca [*Tinca tinca*]

La Tinca tollera le basse salinità, è specie euriterma, sopporta basse concentrazioni di ossigeno e predilige temperature di 15-23°C. Trascorre l'inverno in una sorta di letargo. Vive nelle acque lente o stagnanti dei tratti medio-bassi dei corsi d'acqua, dei canali, dei laghi mesotrofici ed eutrofici. Sono state rilevate lunghezze fino a 70 cm e pesi fino a circa 8 chili in esemplari di 15-20 anni di età. Nelle popolazioni italiane la lunghezza totale massima arriva normalmente 50 cm, con un peso di 2 kg. La velocità di accrescimento è strettamente condizionata dalle condizioni termiche e trofiche dei corpi d'acqua, non ci sono però studi sulle popolazioni italiane al riguardo. I dati che seguono si riferiscono a popolazione dell'Europa centrale dove la crescita più lenta: nella prima estate le giovani tinche misurano 4-8 cm di lunghezza (5-10 g di peso), nella seconda 10-15 cm (40-100 g), nella terza 20-30 cm (200-300 g). Le femmine mostrano un accrescimento maggiore rispetto ai maschi. L'età in cui viene raggiunta la maturità sessuale varia tra 2-3 anni nei maschi e un anno più tardi nelle femmine. Compare dimorfismo sessuale a partire dal 2° anno di età: nei maschi le pinne ventrali sono lunghe, fino a coprire l'ano, e con il primo raggio completo molto ingrossato. Il periodo riproduttivo dipende strettamente dalle condizioni termiche. La deposizione dei gameti ha luogo in acque basse e ricche di vegetazione, a una temperatura di 19-20°C. I raggruppamenti riproduttivi sono composti da una femmina e 2-3 maschi.

Ad eccezione della Val d'Aosta, Trentino e Sardegna, dove risulta assente o molto localizzata, la Tinca è ben distribuita su tutto il restante territorio nazionale. Il periodo riproduttivo può andare da maggio sino a luglio-agosto. Specie caratteristica della zona ittica a Ciprinidi fitofili e delle acque di transizione, predilige le acque lente con substrato a limo-argilla.

Agone [*Alosa agone*]

Il nome della specie è data dal termine *Alosa* utilizzato per popolazioni migratrici (specie eurialina a migrazione facoltativa) e *Agone* utilizzato per popolazioni esclusivamente della zona pelagica dei laghi interni.

Specie molto plastica con un'ampia capacità di reazione del genotipo. Può mostrare rapide modificazioni di alcuni caratteri morfologici (ad esempio il numero delle branchiospine) in relazione alla pressione selettiva. Durante la migrazione gli individui sospendono l'alimentazione, che per i migratori avviene quindi esclusivamente in mare.

Per la riproduzione richiede una temperatura delle acque di 18-20°.

Il ciclo vitale dura normalmente 5-6 anni nelle popolazioni di acqua dolce e 8-9 anni nelle popolazioni migratrici. L'accrescimento è simile ai 2 sessi nel primo periodo di vita, mentre a partire dal 2°-3° anno, le femmine che crescono più velocemente. Non c'è dimorfismo sessuale. I gruppi in migrazione riproduttiva sono costituiti prevalentemente da maschi di 3-4 anni di età e femmine di 4-5 anni. Negli ambienti lacustri la maturità sessuale viene raggiunta al 2° anno di età.

Spigola [*Dicentrarchus labrax*]

Pesce ad ampia valenza ecologica (soprattutto per temperatura e la salinità), è in grado di vivere in ambienti diversi, anche in relazione alle diverse fasi del ciclo biologico: acque marine costiere fino a circa 100 m di profondità; estuari; lagune e laghi costieri. È un predatore di grande taglia. Gli adulti conducono vita solitaria in ambiente marino costiero, occupando di norma le acque superficiali.. Dopo la riproduzione e lo sviluppo embrionale, che hanno luogo in mare durante l'inverno, gli avannotti penetrano nelle lagune e negli estuari, dove trovano condizioni termiche e trofiche ottimali allo svolgimento delle fasi iniziali del ciclo biologico. Risalgono per brevi tratti anche i corsi d'acqua. La migrazione trofica è ampiamente influenzata dalla temperatura dell'acqua: lungo il litorale toscano, ad esempio, non si registrano movimenti migratori con valori inferiori ai 15-16°C. Le aree lagunari poste in prossimità degli estuari risultano particolarmente idonei all'accrescimento ("nursery areas") per l'elevata disponibilità alimentare e la ridotta pressione predatoria. L'accrescimento è rapido: nei primi 3-4 mesi di vita gli avannotti passano dalla lunghezza di 1,5-2 cm a circa 6 cm; mentre il peso di 250-400 g è raggiunto a 2-3 anni di età. Nel Mediterraneo la maturità sessuale viene raggiunta al 2° anno nei maschi e al 3° nelle femmine. Non c'è dimorfismo sessuale.

È presente in tutte le regioni costiere, si riproduce in dicembre-marzo e presenta movimenti di migrazione trofica e riproduttiva tra febbraio e maggio. I giovani sono gregari mentre gli adulti tendono ad essere solitari. Specie di mare e di acque di transizione, può spingersi anche nella zona a Ciprinidi fitofili dove predilige acque a corrente moderata.

Cefalo [*Mugil cephalus*]

Specie con ampia valenza ecologica (soprattutto per temperatura e salinità), è tipica della fascia costiera, sia marina che delle acque interne, prediligendo fondali molli e ricchi di vegetazione. Risale per brevi tratti il corso dei fiumi, mentre in mare si spinge raramente a profondità maggiori di 200 m. Si sposta in piccoli gruppi, di norma mantenendosi in acque superficiali. È in grado di compiere balzi fuori dall'acqua. La riproduzione e la prima fase dello sviluppo hanno luogo in mare. Gli avannotti penetrano quindi nelle acque interne costiere, soprattutto lagune ed estuari. Gli ambienti delle acque interne possono essere definiti "nursery areas" perché particolarmente idonei all'accrescimento (grazie l'elevata disponibilità alimentare ed alla minore pressione predatoria). L'accrescimento prosegue generalmente nelle acque interne fino al raggiungimento della maturità sessuale. Gli avannotti sono prevalentemente zooplantofagi. Il picco massimo dell'attività alimentare si ha nelle ore crepuscolari. Al raggiungimento di circa 35 mm di taglia i cefali cominciano a nutrirsi essenzialmente da microalghe, detrito vegetale, particelle di sedimento (dalle quali è in grado di estrarre materiale organico costituito da batteri, protozoi ed altri microrganismi). I sintesi, si ha una prima migrazione trofica dal mare verso le acque interne da parte degli avannotti di 15-25 mm, seguita da una migrazione definita "rimonta" da parte degli individui che superano i 25 mm e, infine, una migrazione riproduttiva da parte degli individui ormai di taglia superiore ai 50 mm. L'accrescimento è piuttosto rapido nei primi 2 anni di vita. Non c'è dimorfismo sessuale. Le femmine crescono più velocemente dei maschi e a 3-4 anni possono superare 1 kg di peso mentre i maschi alla stessa età raggiungono al massimo i 0,7 kg. Durante la riproduzione ogni singola femmina viene seguita da uno stuolo di maschi.

Distribuito in tutte le regioni costiere. Da giugno a dicembre la specie presenta una migrazione degli individui riproduttivi che dal mare si dirigono verso i fiumi, mentre da gennaio ad aprile si assiste ad una migrazione detta di "rimonta" alla quale partecipano gli individui di lunghezza superiore ai 25 mm che dai fiumi vanno verso il mare.

Orata [*Sparus auratus*]

Specie ampiamente eurialina e caratterizzata da discreta valenza ecologica, può vivere in ambienti diversi (anche in relazione alle diverse fasi del ciclo biologico): acque marine costiere fino a 150 m circa di profondità (dove predilige le scogliere e le praterie di poseidonia); estuari; lagune e laghi costieri. Vive prevalentemente in piccoli gruppi ma con l'aumentare della taglia le abitudini diventano meno gregarie e vengono frequentate anche acque più profonde. Dopo la riproduzione e lo sviluppo embrionale in mare, gli avannotti penetrano nelle lagune e negli estuari dove trovano condizioni termiche e trofiche ottimali allo svolgimento delle fasi iniziali del ciclo biologico. Lagune ed estuari rappresentano "nursery areas". Nei mesi invernali torna in mare, spingendosi in acque calde e relativamente profonde. La dentatura è composta da 4-6 grossi denti a forma di canino e 3-5 serie di denti a forma di molari (con i posteriori particolarmente grande). Questo apparato dentale supportato dalle robuste mascelle è funzionale all'alimentazione carnivora, prevalentemente malacofaga, degli adulti. Oltre ai molluschi (mitili, ostriche, ecc.), di cui viene triturrata agevolmente la conchiglia, la dieta si compone in misura minore anche di crostacei e, occasionalmente, vegetali. Gli stadi giovanili si nutrono prima di zooplancton e poi di organismi bentonici. L'accrescimento è piuttosto rapido nelle acque interne dove, nell'arco di 2-3 mesi, gli avannotti passano da 2 a 8 cm di lunghezza (14 g di peso). Alla fine del primo anno il peso è di circa 150-200 g, al 2° è di circa 400 g e al 3° tocca 800 g. La specie è normalmente ermafrodita proterandrica: l'area testicolare della gonade matura alla fine del 2° anno di vita e poi regredisce, mentre l'area ovarica matura alla fine del 3° anno. In una percentuale del 20% circa degli individui l'inversione sessuale si blocca e gli esemplari tornano di sesso maschile. La riproduzione avviene in mare. Tra gennaio e giugno si verificano movimenti migratori trofici (individui giovani non riproduttivi che dal mare si dirigono verso i fiumi) e riproduttivi (individui che hanno raggiunto la maturità sessuale che dal fiume tornano al mare). Nei corsi d'acqua la specie rimane tendenzialmente confinata nelle acque salmastre dove tende a frequentare i tratti a corrente lenta o moderata.

