

**Indagine sulla fauna ittica del lago di Cadore (Belluno): prove di genotossicità e bioaccumolo dei metalli pesanti.**

***Investigation on fishes of the lake of Cadore (Belluno - Northeastern Italy): genotoxicity test and bioaccumulation of heavy metals.***

MARCO ZANETTI

DIANA PICCOLO

MANUEL BELLIO

PAOLO TURIN

Bioprogramm srl - Fontanelle (TV) - PADOVA

BRUNO FLORIS

ARPAS - CAGLIARI

GUGLIELMO RUSSINO

Amministrazione Provinciale di Belluno -

Assessorato alla Tutela della Fauna e delle Risorse Idriche

**Key Words**

Genotoxicity, bioaccumulation, micronuclea.

**Summary**

The ALPRESERV project "Sustainable Sediment Management of Alpine Reservoirs considering ecological and economical aspects" is included in the EU Community Initiative INTERREG III B Alpine Space Programme. This work is a multi task research developed on the lake of Cadore in the provincial territory of Belluno (Italy), that includes chemical and biological analysis on waters, sediments and biota, with particular reference to the macrozoobenthos and fishes.

The investigations are concerned particularly on the determination of heavy metals in fishes (whole body and muscular tissue), in the sediment and in the water. Tests of genotoxicity (MN test) have been effected on fishes, through the microscopic examination of the peripheral blood of the caudal vein.

The purpose of the study is to estimate the entity of metal bioaccumulation (BAF) and the possible genotoxic effects on fishes.

**Riassunto**

Nell'ambito del progetto ALPRESERV "Gestione sostenibile dei sedimenti dei serbatoi alpini in considerazione di aspetti ecologici ed economici" relativo al programma di iniziativa comunitaria INTERREG III B Spazio Alpino, si è svolta una indagine multidisciplinare sul lago di Cadore in provincia di Belluno, che comprende analisi chimiche e biologiche su acque, sedimenti e biota, con particolare riferimento al macrozoobenthos e alla fauna ittica.

Le indagini condotte hanno riguardato in particolare la determinazione di metalli pesanti nei pesci (in toto e sul tessuto muscolare) in parallelo alla determinazione degli stessi nei sedimenti e nelle acque. Sui pesci sono state inoltre effettuate prove di genotossicità (MN test), attraverso l'esame microscopico del sangue periferico prelevato dalla vena caudale.

Lo scopo dello studio era di valutare l'entità del bioaccumulo di metalli (BAF) e gli eventuali effetti genotossici nei pesci.

## Introduzione

Il lago di Cadore è un bacino artificiale, costruito nel periodo che va dal 1946 al 1949. È ubicato nella zona del Centro Cadore in provincia di Belluno ed occupa i territori comunali di Lozzo, Domegge, Calalzo e Pieve di Cadore. La diga è posizionata in località "Pian delle Ere" ed al massimo invaso il lago raggiunge i 9,3 km di lunghezza.

Gli immissari principali, oltre al fiume Piave, sono i torrenti Cridola e Talagona sulla sinistra idrografica e Molinà sulla destra idrografica, a cui si aggiungono, ma con modesti apporti, i rii Anfela e Galghena, immissari rispettivamente di sinistra e destra idrografica. Al momento della costruzione, il serbatoio artificiale possedeva le seguenti caratteristiche:

- livello massimo invaso 683,5 m. s.l.m.;
- capacità di invaso complessiva  $68,550 \times 10^6 \text{ m}^3$ ;
- capacità di invaso utile:  $64,300 \times 10^6 \text{ m}^3$ ;
- superficie di bacino imbriferò direttamente sotteso  $818,5 \text{ Km}^2$ ;
- area glaciale  $1,63 \text{ km}^2$  (Zanetti *et al.*, 1990).

Questo progetto si inserisce nell'ambito del progetto "Gestione sostenibile dei sedimenti dei serbatoi alpini in considerazione di aspetti ecologici ed economici" relativo al programma di iniziativa comunitaria INTERREG III B Spazio Alpino del progetto generale ALPRESERV.

## Materiali e metodi

Le specie guida scelte per il presente studio sono state: il Triotto (*Rutilus erythrophthalmus*), la Scardola (*Scardinius erythrophthalmus*) ed il Persico reale (*Perca fluviatilis*) in quanto specie che da molti decenni non sono soggette a ripopolamento (Zanetti *et al.*, 1993; Zanetti *et al.*, 2000; Zanetti *et al.*, 2005).

Gli esemplari ittici sono stati catturati con diverse tecniche di pesca come riportato nella Figura 1 ove sono riportati anche i siti campionamento dei sedimenti e delle acque.

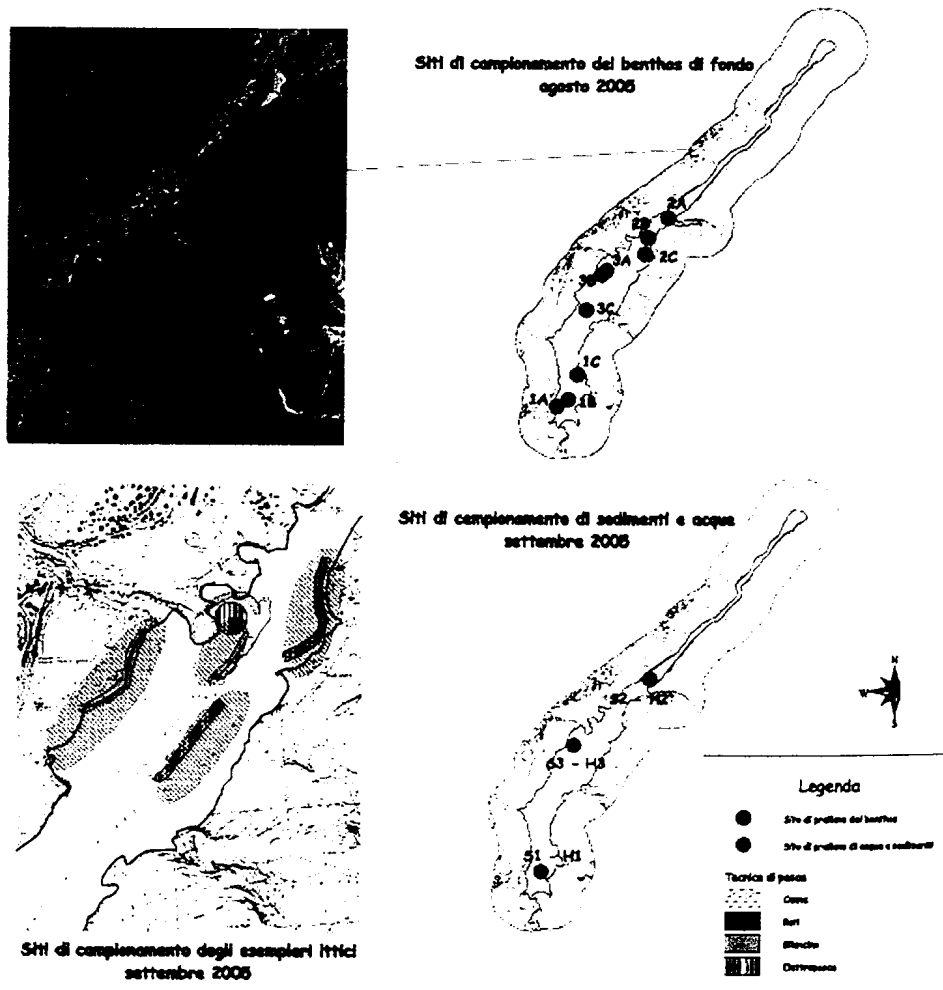


Fig. 1 - Siti di cattura degli esemplari ittici e di campionamento di sedimenti a acqua nel lago di Cadore.  
Fig. 1 - Sampling sites: fish capture, sediment and water. In the lake of Cadore.

Gli esemplari ritenuti idonei sono stati testati secondo il seguente schema (Tabella I e II):

TRIOTTO - SCARDOLA							
Classe 1 (Triotto)				Classe 2 (Scardola)			
Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4
1	1	1	1	1	1	1	1
2	2	2	2	2	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	3

Tab. I - Schema delle repliche per *Rutilus e.* e *Scardinius e.*  
Tab. I - Scheme of the replicas for *Rutilus e.* e *Scardinius e.*

PERSICO REALE							
Classe 1				Classe 2			
Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4
1	1	1	1	1	1	1	1
2	2	2	2	2	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	3

Tab. II - Schema delle repliche per *Perca fluviatilis.*  
Tab. II - Scheme of the replicas for *Perca fluviatilis.*

Le classi sono state suddivise sulla base delle curve di accrescimento di ogni singola specie in modo da avere pesci delle classi giovanili (1+ e 2+) ed esemplari adulti (> 2+).

Per ogni replica sono stati usati 3 pesci, per un totale di 4 repliche. In totale sono state effettuate n°16 determinazioni per ogni parametro e, considerando n°8 metalli (Arsenico, Cadmio, Mercurio, Nichel, Piombo, Rame, Zinco, Cromo totale), il numero totale delle determinazioni è stato di 128. Tali determinazioni sono state effettuate sia sul tessuto muscolare sia sull'intero corpo, così il totale delle determinazioni ha raggiunto le 256.

Su quattro pesci (quattro repliche) per ogni classe e per ogni specie, è stato effettuato anche il test di genotossicità, per un totale di 16 test base a cui si sono aggiunti numerosi test di conferma. Il test di genotossicità è stato eseguito con il metodo dei Micronuclei (Nepomuceno, 1997; Conti *et al.*, 2005).

#### Campioni acqua

I prelievi di acqua sono stati effettuati in tre punti di prelievo a tre altezze (a 1 metro dalla superficie, a 1 metro dal fondo ed a metà colonna d'acqua) per un totale di 72 determinazioni (n° 8 metalli x 3 campioni x 3 profondità = n° 72 determinazioni) di metalli sull'acqua. I campioni di acqua sono stati raccolti utilizzando una bottiglia tipo

Van Dorn ed immediatamente trasferiti in contenitori di polietilene da litro, che sono stati riposti poi in frigobox per la conservazione ed il trasporto in laboratorio.

Le analisi sono state svolte secondo le metodiche IRSA ed EPA.

#### Campioni sedimento

Il prelievo dei sedimenti è avvenuto tramite l'utilizzo di una benna di tipo Van Veen che ha permesso di prelevare lo strato superficiale dei sedimenti (circa 15 - 20 cm). I punti di prelievo sono corrispondenti a quelli individuati per i campioni d'acqua.

Sui campioni di sedimento si sono effettuate analisi chimiche per l'identificazione della concentrazione dei metalli pesanti, sia sul tal quale che sull'elutriato. Le analisi sono state svolte secondo le metodiche indicate da IRSA ed EPA. Oltre alla determinazione della concentrazione dei metalli pesanti, è stato misurato direttamente sul campo il potenziale redox con una sonda multiparametrica Steiel.

#### Risultati

##### Valutazione del Bioaccumolo sui pesci

Nelle Tabelle III e IV vengono riportati i risultati delle determinazioni dei metalli sul pesce intero e sul tessuto muscolare. Sul Triotto (Classe I) i valori di metalli hanno

superato i limiti della soglia di rilevabilità solo per Rame e Zinco, ed in una sola replica anche sul Piombo; anche sulle altre specie e classi si conferma la presenza significativa di Zinco mentre il Rame risulta trascurabile solo nella Classe

II del Persico reale.

I dati riscontrati sul tessuto muscolare hanno evidenziato in generale minori concentrazioni di metalli pesanti rispetto al pesce intero.

<b>Risultati analisi chimiche – Pesce intero (valori medi)</b>					
<b>ANALISI CHIMICA</b>	<b>U.M.</b>	<b>Triotto - I</b>	<b>Scardola - II</b>	<b>Persico reale - I</b>	<b>Persico reale - II</b>
Arsenico	mg/Kg SS	<0.5	<0.5	<0,5	<0.5
Cadmio	mg/Kg SS	<1,0	<1	<1	<1
Mercurio	mg/Kg SS	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
Nichel	mg/Kg SS	<1,0	3,6	4,5	<1
Piombo	mg/Kg SS	<2,0	<2,0	<2,0	<2
Rame	mg/Kg SS	2,0	1,6	2,2	<1
Zinco	mg/Kg SS	194	140	99,5	87,5
Cromo totale	mg/Kg SS	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15

Tab. III - Risultati delle determinazioni dei metalli sul pesce intero.

Tab. III - Results of metal determinations on the whole fish.

<b>Risultati analisi chimiche – Tessuto muscolare (valori medi)</b>					
<b>ANALISI CHIMICA</b>	<b>U.M.</b>	<b>Triotto - I</b>	<b>Scardola - II</b>	<b>Persico reale - I</b>	<b>Persico reale - II</b>
Arsenico	mg/Kg SS	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Cadmio	mg/Kg SS	<1	<1	<1	<1
Mercurio	mg/Kg SS	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
Nichel	mg/Kg SS	<1	<1	<1	<1
Piombo	mg/Kg SS	<2	<2	<2	<2
Rame	mg/Kg SS	<1	<1	<1	2.2
Zinco	mg/Kg SS	143	94,5	77,5	68
Cromo totale	mg/Kg SS	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15

Tab. IV - Risultati delle determinazioni dei metalli sul tessuto muscolare.

Tab. IV - Results of metal determinations on the muscular tissue.

I dati relativi al bioaccumulo di zinco e rame sul pesce intero per le varie specie ittiche studiate, possono essere messi in relazione sia alla classe che al regime alimentare. Triotto e Scardola si nutrono principalmente di forme vegetali anche se la Scardola col passare degli anni diviene predatrice. Il Persico reale nei primi anni di vita è prevalentemente planctonico mentre diventa ittiofago col passare dell'età (Gandolfi *et al.*, 1991).

Si nota infatti, confrontando questi due aspetti con i valori di bioaccumulo come ad un aumento dell'età corrisponde una riduzione del metallo accumulato così come passando da una dieta legata alla componente vegetale a quella animale. Questo fa pensare ad un legame tra l'entità del bioaccumulo e il regime alimentare del pesce (Figure 2 e 3).

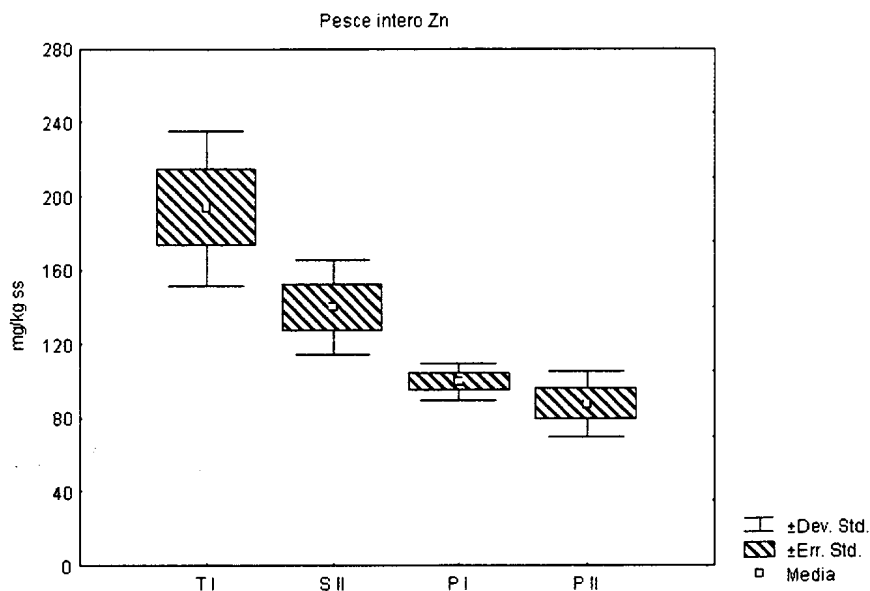


Fig. 2 - Deviazione standard, errore standard e media delle concentrazioni dello zinco su pesce intero.  
 Fig. 2 - Standard deviation, standard error and average of Zn concentrations on whole fish.

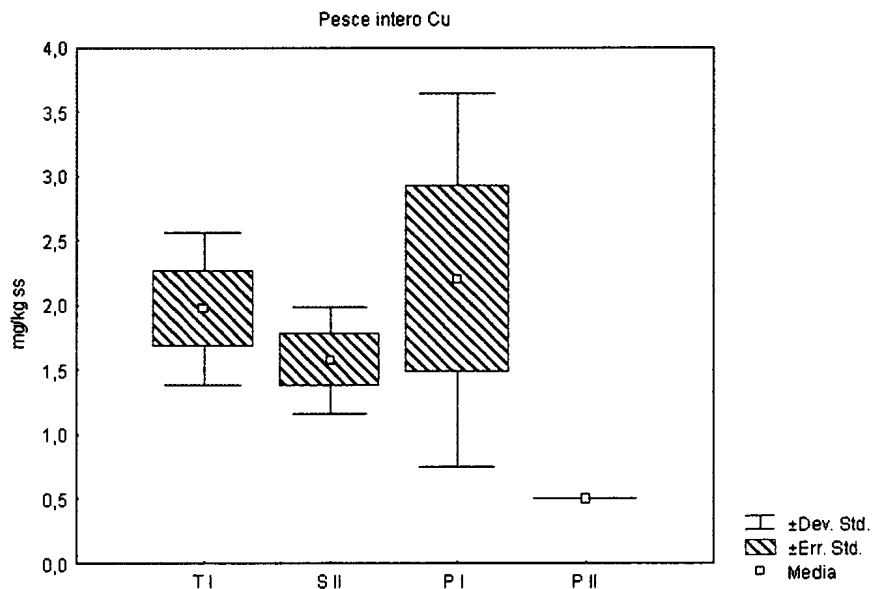


Fig. 3 - Deviazione standard, errore standard e media delle concentrazioni di rame su pesce intero.  
 Fig. 3 - Standard deviation, standard error and average of Cu concentrations on whole fish.

**Concentrazione dei metalli nell'acqua**

- Nella Tabella V si riportano i valori medi delle analisi chimiche effettuate nella colonna d'acqua nei punti di prelievo denominati 1<sub>H</sub>, collocato di fronte alla diga, all'altezza di Pieve di Cadore, 2<sub>H</sub>, posto all'altezza di Vallesella e 3<sub>H</sub>, situato all'altezza di Calalzo di Cadore.

PARAMETRI	UM	1 <sub>H</sub>	2 <sub>H</sub>	3 <sub>H</sub>
Arsenico (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	1,3	1,7	2
Cadmio (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 5	< 5	< 5
Mercurio (APAT CNR IRSA Met. 3200 A1 man 29/2003)	µg/l	< 1	< 1	< 1
Nichel (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 2	< 2	2
Piombo (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 5	< 5	< 5
Rame (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	7,7	5,3	6,3
Zinco (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	94	43	91,3
Cromo totale (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 5	< 5	< 5

Tab. V - Analisi chimiche effettuate nella colonna d'acqua (valori medi).

Tab. V - Chemical analysis effected in the water column (middle values).

Dall'esame dei dati relativi alle acque si osserva una presenza significativa di Arsenico, Rame e Zinco; per quest'ultimo le concentrazioni sono superiori nella stazione 1<sub>H</sub> rispetto alle altre stazioni, mentre i valori più bassi li troviamo nella stazione 2<sub>H</sub>. In ogni caso le concentrazioni rilevate appaiono di non rilevante entità.

**Concentrazione dei metalli nel sedimento**

Nell'elutriato i valori di concentrazione, riportati nella Tabella VI, appaiono relativamente bassi.

PARAMETRI	UM	1 <sub>s</sub> (elutriato)	2 <sub>s</sub> (elutriato)	3 <sub>s</sub> (elutriato)
Arsenico (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	2	3	2
Cadmio (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 5	< 5	< 5
Mercurio (APAT CNR IRSA Met. 3200 A1 man 29/2003)	µg/l	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Nichel (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	3	4	4
Piombo (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 5	< 5	< 5
Rame (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 5	< 5	< 5
Zinco (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	20	7	8
Cromo totale (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	µg/l	< 5	< 5	< 5

Tab. VI - Analisi chimiche effettuate sull'elutriato dei sedimenti.

Tab. VI - Chemical analysis effected on the sediment elutriato.

La Tabella VII riporta i dati di concentrazione dei metalli nei tre campioni di sedimento.

I dati evidenziano presenze significative di As, Ni, Pb, Cu, Zn, Cr totale. Le concentrazioni rilevate confermano la tendenza dei sedimenti ad "intrappolare" i metalli per cui in essi vi si trovano concentrazioni notevolmente superiori rispetto all'acqua soprastante.

PARAMETRI	UM	1 <sub>s</sub> (tal quale)	2 <sub>s</sub> (tal quale)	3 <sub>s</sub> (tal quale)
Potenziale redox	mV	-120	-131	-150
Arsenico (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	mg/kg	6,4	7,5	6,1
Cadmio (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	mg/kg	< 1	< 1	< 1
Mercurio (APAT CNR IRSA Met. 3200 A1 man 29/2003)	mg/kg	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Nichel (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	mg/kg	10	12	8,5
Piombo (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/20 03)	mg/kg	17	18,8	7,5
Rame (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	mg/kg	8,9	13	9,4
Zinco (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	mg/kg	69	98	29
Cromo totale (APAT CNR IRSA Met. 3020 Man 29/2003)	mg/kg	13	10,9	14,9

Tab. VII - Concentrazione dei metalli nei tre campioni di sedimento.

Tab. VII - Metal concentration in the three sediment samples.

In ogni caso, anche le concentrazioni rilevate nei sedimenti superficiali possono ritenersi non elevate, mentre lo sono per gli strati più profondi i cui dati non sono riportati nel presente studio (come esempi si riportano alcuni valori rilevati di Zinco 3.900 mg/Kg ss e 4.300 mg/Kg ss e di Rame 32 mg/Kg ss e 27 mg/Kg ss).

#### Determinazione del Fattore di Bioaccumulo (BAF; BSAF)

Nella Tabella VIII sono riportati i Bioaccumulation Factors (BAF) per Rame e Zinco sui Ciprinidi e Percidi di I e II classe.

Si nota che i valori di BAF per lo Zn appaiono sensibilmente più elevati rispetto al Rame e, come già detto in precedenza, questo può essere messo in relazione anche ai ruoli trofici.

In Tabella IX si riportano i valori di Biota – Sediment Accumulation Factor (BSAF) dove le concentrazioni di metalli nei pesci sono poste in relazione con quelle riscontrate nel sedimento superficiale. Ovviamente in questo caso, avendo nel sedimento concentrazioni molto più elevate rispetto all'acqua, i valori di BSAF sono bassi (U.S. EPA, 1999; U.S. EPA, 2002).

BAF	Triotto – I	Scardola - II	Persico reale - I	Persico reale - II
<b>Rame</b>	<b>306</b>	<b>244</b>	<b>429</b>	<b>&lt;155</b>
<b>Zinco</b>	<b>2546</b>	<b>1836</b>	<b>1307</b>	<b>1150</b>

Tab. VIII - Bioaccumulation Factors (BAF) per Rame e Zinco.

Tab. VIII - Bioaccumulation Factors (BAF) in Cu and Zn.

BSAF	Triotto – I	Scardola - II	Persico reale - I	Persico reale - II
<b>Rame</b>	<b>0,2</b>	<b>0,2</b>	<b>0,2</b>	<b>&lt;0,1</b>
<b>Zinco</b>	<b>3,0</b>	<b>2,1</b>	<b>1,5</b>	<b>1,3</b>

Tab. IX - Biota – Sediment Accumulation Factor (BSAF).

Tab. IX - Biota – Sediment Accumulation Factor (BSAF).

## Determinazione degli eventuali effetti genotossici sui pesci

Le analisi microscopiche dei vetrini di eritrociti hanno mostrato l'assenza di significativi effetti genotossici (formazione di micronuclei) sui pesci. I risultati sono riportati in Tabella X.

Specie / Classe	% MN
Triotto / I	<0.5
Scardola / II	<0.5
Persico reale / I	<0.5
Persico reale / II	<0.5

Tab. X - Risultati delle analisi microscopiche dei vetrini di eritrociti.  
Tab. X - Results of eritrocites microscopic analyses.

La mancanza di effetti genotossici evidenti è comprensibile viste le basse concentrazioni di metalli nelle acque superficiali. Ciò consente di avere comunque un indispensabile riferimento per il futuro, in quanto eventuali operazioni di movimentazione dei sedimenti profondi possono determinare effetti tossici e genotossici sui pesci a causa del possibile rilascio di rilevanti concentrazioni di metalli nell'acqua.

## Conclusioni

Le condizioni fisiche, chimiche e biologiche rilevate sulle acque e sui popolamenti ittici del lago hanno evidenziato la presenza non significativa di elementi tossici. La situazione appare stabile, senza apparenti conseguenze genotossiche per i popolamenti ittici e le sostanze potenzialmente tossiche sono al momento relegate in profondità nel sedimento; con le dinamiche idrologiche attuali del lago il rischio di contaminazione da metalli pesanti appare piuttosto remoto, diverso invece è il discorso nel caso di una eventuale fluitazione a valle mediante spurgo del materiale litoide. La fluitazione a valle dei sedimenti più fini inoltre porterebbe ad amplificare il problema della diffusione dei metalli nel sedimento in quanto si passerebbe da una situazione controllabile e tutto sommato abbastanza stabile ad una situazione in cui la dinamica dei sedimenti del fiume a valle e dei metalli pesanti in essi contenuti sarebbe assolutamente fuori controllo e con impatti notevoli sui popolamenti macrobentonici ed ittici ed i cui costi di risanamento sarebbero elevatissimi.

## Ringraziamenti

Si ringrazia il bacino di pesca n° 4 "Centro Cadore", l'Ufficio Risorse Idriche, l'Ufficio Pesca ed il Corpo di Vigilanza provinciale, per la preziosa collaborazione offertaci nella realizzazione del presente studio.

## Bibliografia

- APAT-CNR-IRSA, 2003. Determinazione di elementi chimici mediante spettroscopia di emissione con sorgente al plasma (ICP-OES). Met. 3020 Man. 29/2003.
- CONTI D., BALZAMO S., BELLI M., 2005. Valutazione della genotossicità di inquinanti in ambienti acquatici: messa a punto di metodi per l'esecuzione del test del micronucleo in eritrociti di specie ittiche. APAT, 72 pp.
- GANDOLFI G., ZERUNIAN S., TORRICELLI P., MARCONATO A., 1991. I pesci delle acque interne italiane. Ministero dell'Ambiente, Unione Zoologica Italiana, Istituto Poligrafico dello Stato, 618 pp.
- NEPOMUCENO J.C., 1997. Environmental Molecular Mutagenesis, 30, 293-297.
- U.S. EPA, 1999. Screening level ecological risk assessment protocol. EPA, August 1999.
- U.S. EPA, 2002. A Guidance Manual to Support the Assessment of Contaminated Sediments in Freshwater Ecosystems. EPA-905-B02-001-A, December 2002.
- ZANETTI M., LORO R., TURIN P., SILIGARDI M., MORONI F., 1990. Il lago di Cadore - studi limnologici. Relazione tecnica. Amministrazione Provinciale di Belluno-Assessorato Agricoltura, Caccia e Pesca, 150 pp.
- ZANETTI M., LORO R., TURIN P., RUSSINO G., 1993. Carta ittica. Indagine idrologica, chimico-fisica e biologica delle acque fluenti bellunesi. Ed. Amministrazione Provinciale di Belluno-Assessorato Caccia e Pesca, 269 pp. + all.
- ZANETTI M., TURIN P., GRAVA VANIN B., BILÒ M.F., ROSSI V., GUERRA D., LORO R., 2000. Carta Ittica della Provincia di Belluno. Amministrazione Provinciale di Belluno. 288 pp. + all.
- ZANETTI M., TURIN P., PICCOLO D., BELLIO M., BILÒ M.F., ROSSI V., MONEGATO R., 2005. Carta Ittica della Provincia di Belluno 2005-2009. Amministrazione Provinciale di Belluno, Assessorato Tutela e Gestione della Fauna e delle Risorse Idriche. Vol. I pp. 178, Vol. II pp. 65, Vol. III pp. 59, Vol. IV pp. 43 + all.