

2. CONTAMINANTI NELLO ZOOPLANCTON

*Roberta Bettinetti, Emanuela Boggio, Carlo Dossi, Università degli Studi dell'Insubria;
Roberta Piscia, Marina Manca, CNR ISE, Verbania*

I campionamenti dello zooplancton sono stati eseguiti in maggio, agosto, novembre 2014 e gennaio 2015 nella stazione di Ghiffa, alla massima profondità del lago, considerando che anche per la contaminazione da DDT e PCB la stazione di Ghiffa è rappresentativa della zona centro-settentrionale del bacino.

Ad ogni campionamento sono stati raccolti tre campioni con retini da zooplancton a bocca larga (diametro pari a 58 cm) armati rispettivamente con rete in nylon da 450 μm di luce e da 850 μm di luce entro lo strato 0-50 m. La raccolta dello zooplancton ha così permesso di ottenere tre diverse frazioni dimensionali, con organismi di dimensioni superiori a 450 μm , organismi superiori a 850 μm e organismi di dimensioni comprese tra 450 μm e 850 μm . Una parte di ciascun campione è stata filtrata su filtri in microfibra di vetro con pori di 1,2 μm (GF/C, diametro 4,7 cm), congelata a -20 °C e successivamente liofilizzata per la determinazione analitica dei pesticidi clorurati e dei PCB; l'altra parte (pari a circa un terzo del volume totale campionato) è stata fissata in alcool per la classificazione tassonomica.

I composti prioritari analizzati sono stati: il pp'-DDT e i due metaboliti pp'-DDE e pp'-DDD e i rispettivi isomeri op' e 14 congeneri di policlorodifenili (PCB); sono stati anche analizzati gli esaclorocicloesani e l'esaclorobenzene – non misurati lo scorso anno – per verificare che le concentrazioni si siano mantenute come in passato (indagini precedenti al 2011) a livelli vicini al limite di rilevabilità dello strumento. Per tutti i composti il limite di rilevabilità analitica è pari a 0,1 ng g^{-1} di peso secco.

I campioni, dopo liofilizzazione, sono stati pesati per la determinazione del peso secco e sottoposti ad estrazione mediante estrattore Soxhlet utilizzando una miscela di acetone-*n*-esano (1:1 v/v) in un ditale di microfibra di vetro (19x9x90 mm, Whatman, England). L'estratto concentrato di ciascun campione è stato purificato ed analizzato in GC con ECD utilizzando per la quantificazione uno standard esterno preparato a partire dai singoli composti in isoottano.

La misura della frazione lipidica è stata effettuata mediante determinazione gravimetrica sul campione estratto, essiccato sotto flusso di azoto e portato a peso costante. Le percentuali lipidiche dello zooplancton delle tre frazioni dimensionali nelle diverse stagioni sono riportate nella tabella 2.1.

Tab. 2.1. Percentuale lipidica delle tre frazioni dimensionali dello zooplancton campionato a Ghiffa per i quattro campionamenti stagionali, espressa sul peso secco.

	2014			2015
	maggio	agosto	novembre	gennaio
fraz. $\geq 450 \mu\text{m}$	13,13	12,02	23,92	18,52
fraz. $450 \mu\text{m} - 850 \mu\text{m}$	9,44	20,97	19,32	20,14
fraz. $\geq 850 \mu\text{m}$	10,27	8,77	9,41	8,69

La frazione $\geq 850 \mu\text{m}$ presenta una percentuale lipidica piuttosto costante nel tempo così come la frazione di dimensioni intermedie, ad eccezione in questo caso del mese di maggio; nel caso della frazione dimensionale ≥ 450 si osserva un aumento in lipidi con un picco a novembre. Su base media annuale la frazione $\geq 850 \mu\text{m}$ risulta essere quella con minore contenuto di lipidi, mentre le altre due sono confrontabili. I risultati relativi alla concentrazione di DDT totali (somma

dei pp' e degli op') nelle diverse frazioni dimensionali dello zooplancton ($\geq 450 \mu\text{m}$; $450 \mu\text{m} - 850 \mu\text{m}$; $\geq 850 \mu\text{m}$) sono riportati rispettivamente nelle figure 2.1, 2.2 e 2.3.

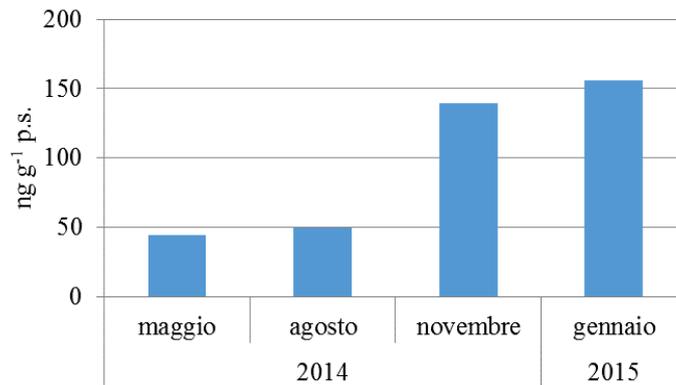


Fig. 2.1. DDT totali nello zooplancton, frazione $\geq 450 \mu\text{m}$. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

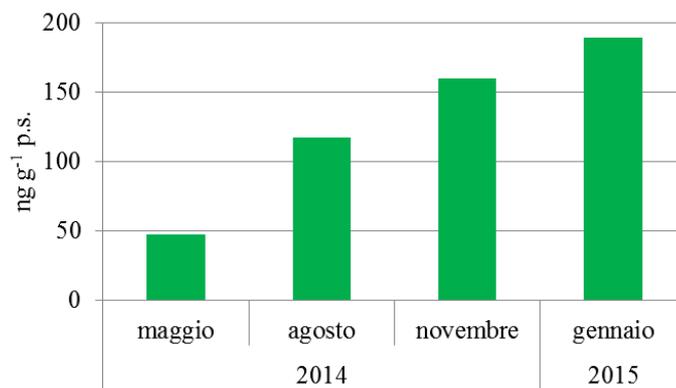


Fig. 2.2. DDT totali nello zooplancton, frazione $450 \mu\text{m} - 850 \mu\text{m}$. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

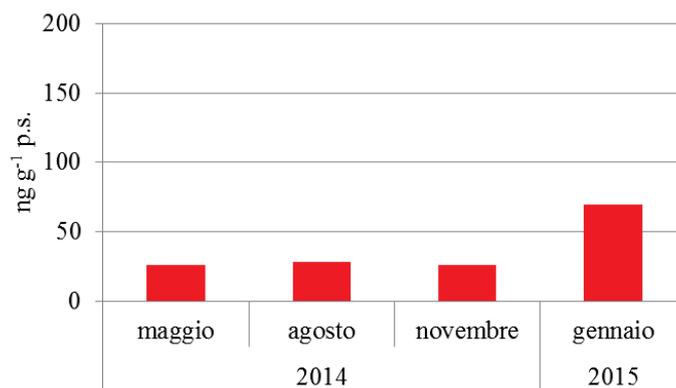


Fig. 2.3. DDT totali nello zooplancton, frazione $\geq 850 \mu\text{m}$. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

In tutte e tre le frazioni dimensionali la concentrazione massima è stata misurata a gennaio 2015. Tra le tre frazioni quella più contaminata è risultata essere quella compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$, seppur di poco superiore a quella dello zooplancton con dimensioni $\geq 450 \mu\text{m}$. La frazione di dimensioni $\geq 850 \mu\text{m}$ è risultata essere mediamente meno contaminata rispetto alla frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ e a quella intermedia rispettivamente di 2,6 e 3,4 volte.

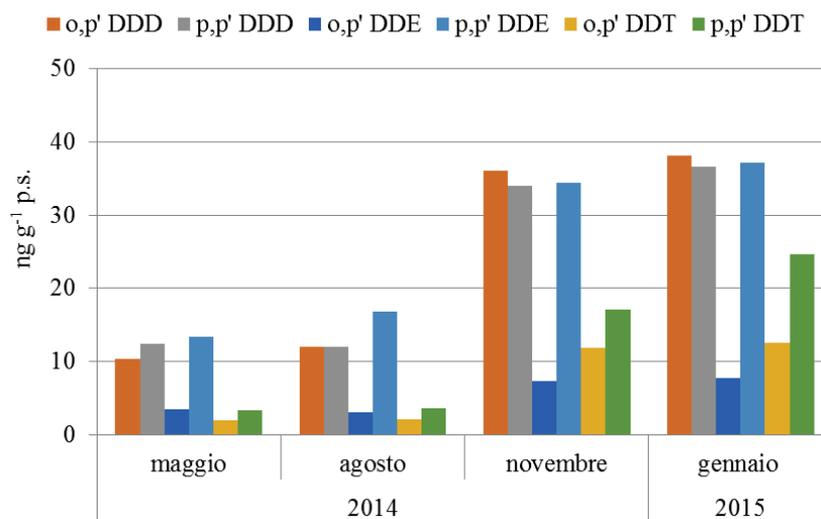


Fig. 2.4. pp'-DDT, suoi metaboliti e isomeri nello zooplancton (frazione $\geq 450 \mu\text{m}$) nella stazione di Ghiffa nel 2014/15. I dati sono espressi in ng g^{-1} di peso secco.

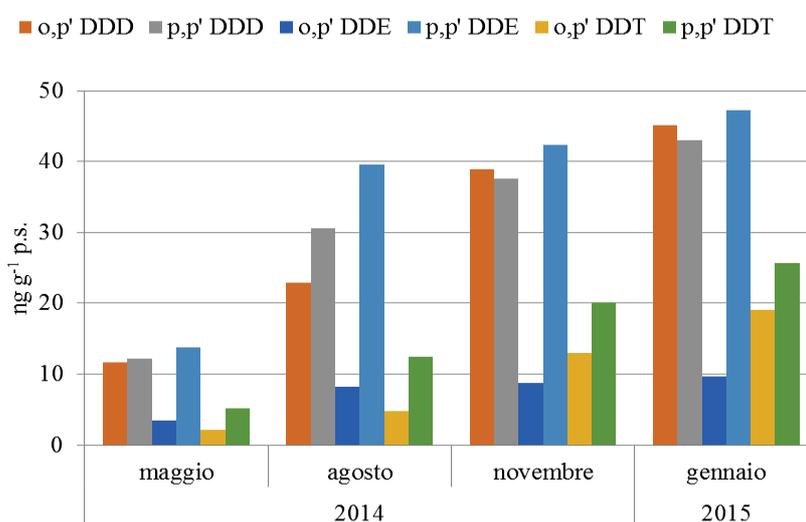


Fig. 2.5. pp'-DDT, suoi metaboliti e isomeri nello zooplancton (frazione $450 \mu\text{m}-850 \mu\text{m}$) nella stazione di Ghiffa nel 2014/15. I dati sono espressi in ng g^{-1} di peso secco.

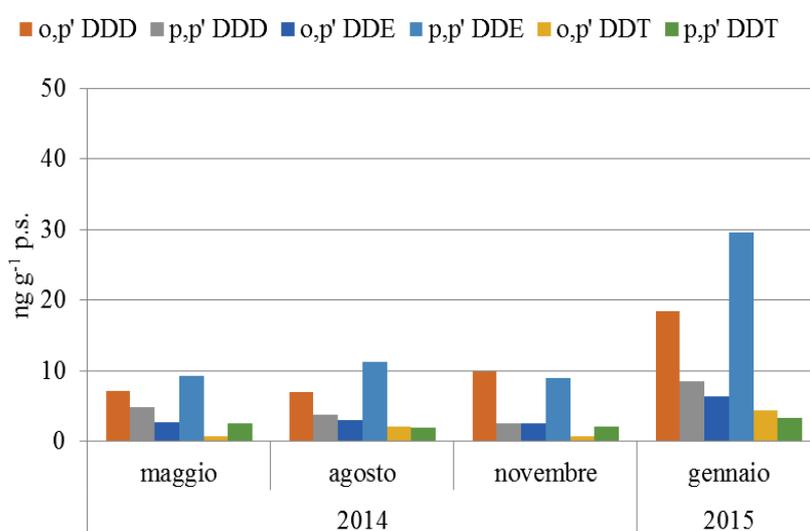


Fig. 2.6. pp'-DDT, suoi metaboliti e isomeri nello zooplancton (frazione $\geq 850 \mu\text{m}$) nella stazione di Ghiffa nel 2014/15. I dati sono espressi in ng g^{-1} di peso secco.

Le concentrazioni minime sono state misurate a maggio, in particolare nella frazione $\geq 850 \mu\text{m}$, in cui si rilevano concentrazioni paragonabili anche nei due periodi successivi di campionamento. Nella frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ le concentrazioni di maggio sono simili a quelle di agosto, mentre nella frazione compresa tra 450 e $850 \mu\text{m}$ maggio rappresenta il minimo annuale.

I risultati relativi alla determinazione del *o,p'*-DDD, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDE, *p,p'*-DDE, *o,p'*-DDT e *p,p'*-DDT riferiti al peso secco dei campioni sono riportati nelle figure 2.4, 2.5 e 2.6 rispettivamente per la frazione dimensionale $\geq 450 \mu\text{m}$, per quella $450 \mu\text{m}$ - $850 \mu\text{m}$ e per quella $\geq 850 \mu\text{m}$.

Tra i metaboliti del *pp'*-DDT, il *pp'*-DDE risulta essere sempre prevalente nelle frazioni $450 \mu\text{m}$ - $850 \mu\text{m}$ e per quella $\geq 850 \mu\text{m}$, mentre nella frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ le concentrazioni di *pp'*-DDE sono simili e talvolta uguali a quelle del *pp'*-DDD. La frazione più contaminata di *pp'*-DDE è quella compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$.

Considerando gli isomeri, quello prevalente è l'*op'*-DDD in tutte le frazioni di zooplancton e la concentrazione maggiore è nella frazione compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$, seguita da quella $\geq 450 \mu\text{m}$.

Considerando tutti i composti, il *pp'*-DDE risulta essere sempre prevalente, anche se è bene sottolineare che le concentrazioni *op'*-DDD e *pp'*-DDD hanno spesso valori confrontabili, soprattutto nella frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ e in quella compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$. Le concentrazioni degli isomeri *op'* permangono ancora non trascurabili e nel caso dell'*op'*-DDD sono considerevoli, confermando l'origine industriale della contaminazione. La produzione di *pp'*-DDT prevede la formazione dell'isomero *op'*-DDT (in misura del 15-25%), che può essere convertito nel suolo e nei sedimenti nei metaboliti *op'*-DDD e *op'*-DDE.

In tutte le frazioni dimensionali i PCB totali (Fig. 2.7, Fig. 2.8 e Fig. 2.9) presentano un andamento in aumento da maggio verso gennaio e raggiungono la massima concentrazione in gennaio 2015 nella frazione compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$ (Fig. 2.8). La frazione meno contaminata da PCB è quella $\geq 850 \mu\text{m}$, che comunque presenta il trend di aumento, anche se lieve a partire da maggio verso gennaio come osservato in modo evidente soprattutto nella frazione di dimensioni intermedie.

Lo zooplancton di questa frazione inoltre risulta più contaminato di quello della frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ nei mesi di agosto 2014 e gennaio 2015.

Il profilo dei congeneri (Fig. 2.10, Fig. 2.11 e Fig. 2.12) evidenzia in tutti i periodi di campionamento la prevalenza di PCB 153, PCB 138 e di PCB 180 in tutte le frazioni; nella frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ e in quella compresa tra 450 e $850 \mu\text{m}$ assume importanza nel tempo anche il PCB 101.

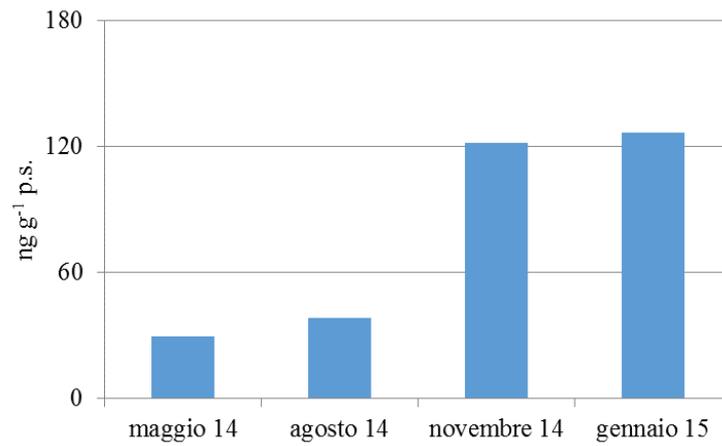


Fig. 2.7. PCB totali nella frazione di zooplancton frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ nel 2014/15. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

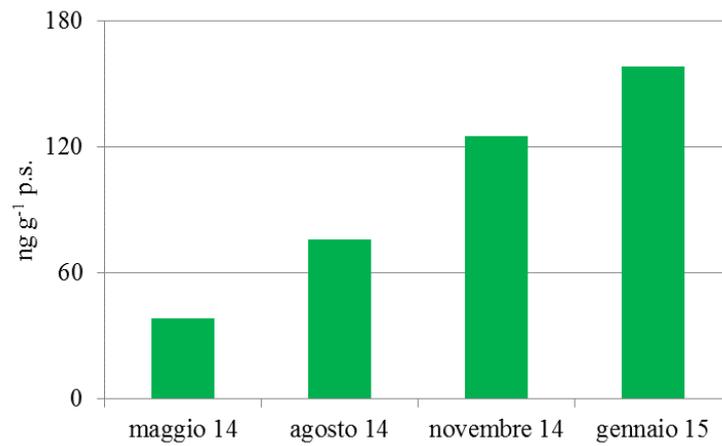


Fig. 2.8. PCB totali nella frazione di zooplancton compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$ nel 2014/15. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

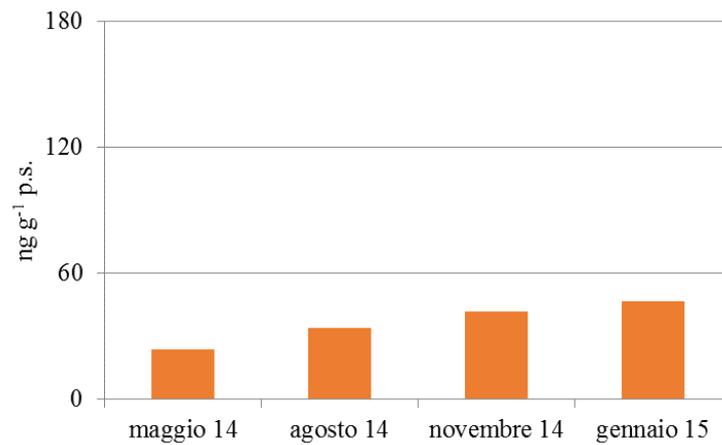


Fig. 2.9. PCB totali nella frazione di zooplancton $\geq 850 \mu\text{m}$ nel 2014/15. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

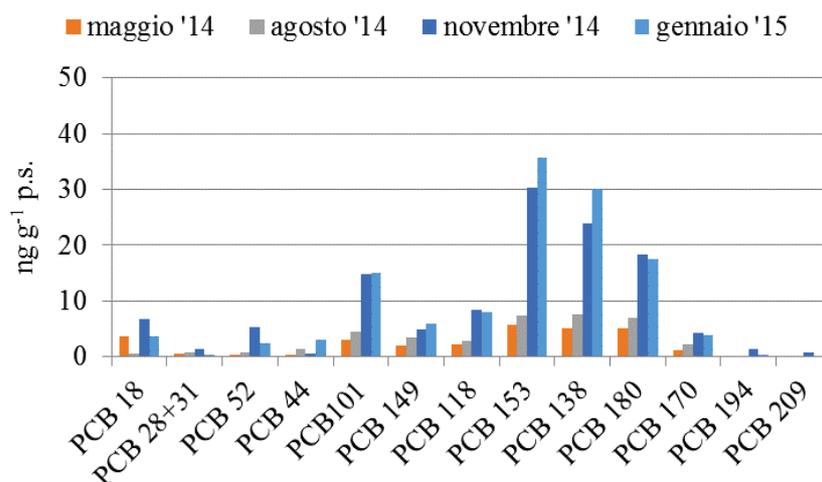


Fig. 2.10. Singoli congeneri di PCB nello zooplancton della frazione dimensionale $\geq 450 \mu\text{m}$ nelle diverse stagioni. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

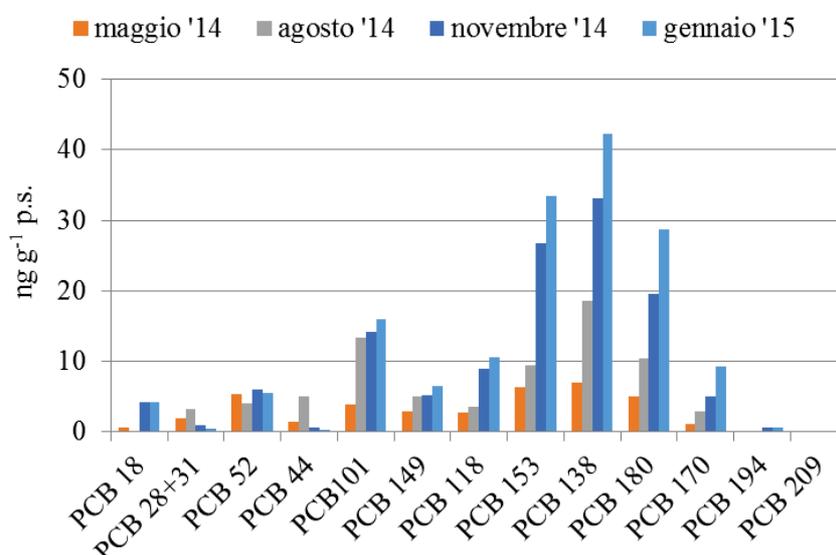


Fig. 2.11. Singoli congeneri di PCB nello zooplancton della frazione dimensionale compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$ nelle diverse stagioni. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

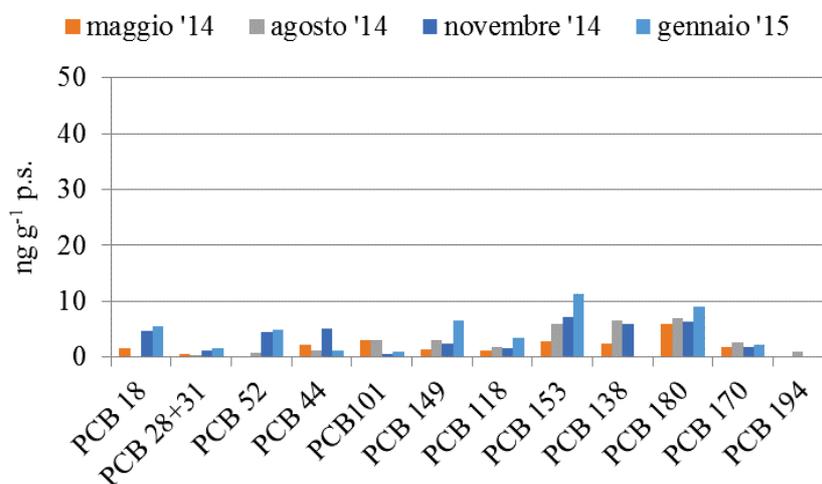


Fig. 2.12. Singoli congeneri di PCB nello zooplancton della frazione dimensionale $\geq 850 \mu\text{m}$ nelle diverse stagioni. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

Anche se esiste una variabilità delle concentrazioni a livello stagionale per le diverse frazioni dimensionali dello zooplancton, su media annuale le concentrazioni dei singoli congeneri sono generalmente più alte nella frazione intermedia (Fig. 2.13).

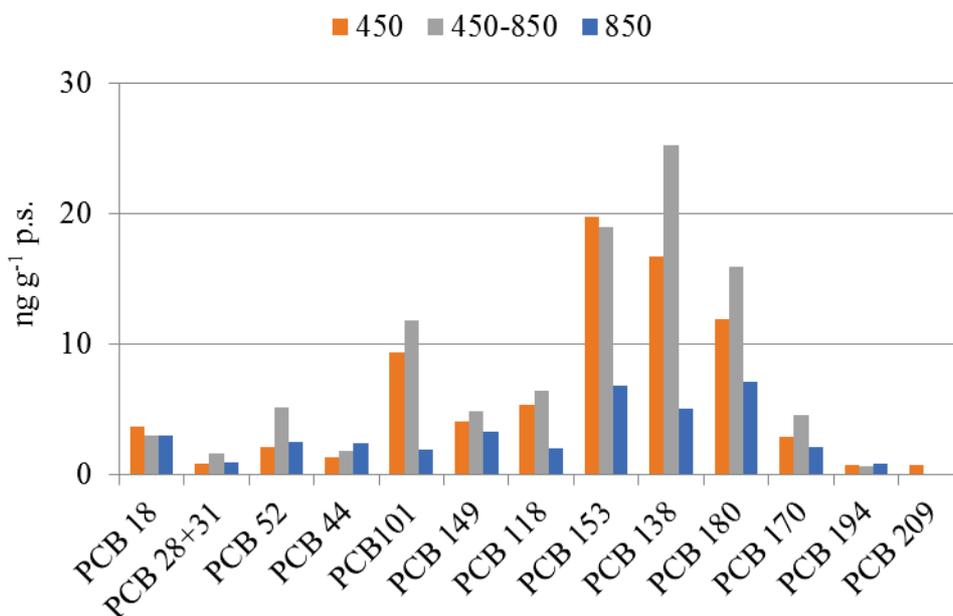


Fig. 2.13. Media annuale dei singoli congeneri di PCB nello zooplancton delle tre diverse frazioni dimensionali (in μm). Dati espressi ng g^{-1} di peso secco.

Dall'analisi della dinamica stagionale della biomassa zooplanctonica della frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ (Fig. 2.14) appare evidente un picco primaverile, mentre molto contenuti risultano i valori registrati nei mesi successivi (compresi tra 3,6 e 9,5 mg p.s. m^{-3}). Al valore di maggio misurato nel 2014 (32,9 mg p.s. m^{-3}) contribuiscono in modo paritetico *Daphnia*, ciclopidi e diaptomidi. Il contributo di questi tre gruppi di organismi alla biomassa totale risulta importante anche nella frazione compresa tra 450 e 850 μm , nella quale, tra i copepodi, predominano i diaptomidi rispetto ai ciclopidi. In entrambe le frazioni a dominare è *Cyclops abyssorum*, la specie di maggiori dimensioni caratterizzata da una tendenza a mantenersi in acque più profonde all'interno dei 50m (Manca *et al.* 2013). Nella frazione intermedia la persistenza di *Cyclops* durante tutto l'anno è ancor più evidente, come pure chiaro risulta il contributo alla biomassa totale registrato nel gennaio 2015. La frazione di dimensioni maggiori riflette la dominanza di *Daphnia* a maggio e quella di *Leptodora* in agosto. Così come atteso, valori molto bassi si registrano a novembre e gennaio.

L'analisi del contributo dei diversi taxa zooplanctonici alla biomassa totale nei quattro momenti stagionali nella frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ consente di evidenziare una crescente importanza dei ciclopidi tra maggio-agosto (ca. 30%) e novembre-gennaio (ca. 65%, Fig. 2.15).

Così come evidenziato dai valori di SSB ("Standing Stock Biomass") a maggio non si osserva l'usuale netta dominanza di *Daphnia* su ciclopidi e diaptomidi. In agosto il contributo dei ciclopidi risulta paragonabile a quello di *Bythotrephes* (31 e 33%, rispettivamente), mentre abbastanza modesto è quello di *Leptodora* (11%).

La frazione intermedia mostra, ancor più chiaramente, la dominanza dei ciclopidi da agosto a gennaio. Molto diverso è il contributo relativo dei diversi taxa alla biomassa nella frazione dimensionale $\geq 850 \mu\text{m}$ del popolamento zooplanctonico (Fig. 2.15). Appare evidente la netta dominanza di *Daphnia* a maggio (85%), di *Leptodora* ad agosto (85%), un simile contributo di *Leptodora* e *Daphnia* a novembre (41 e 46%, rispettivamente), e un'ulteriore accresciuta importanza di *Daphnia* a gennaio (76%). Si nota, inoltre, la persistenza di *Bythotrephes* durante tutto l'arco dell'anno.

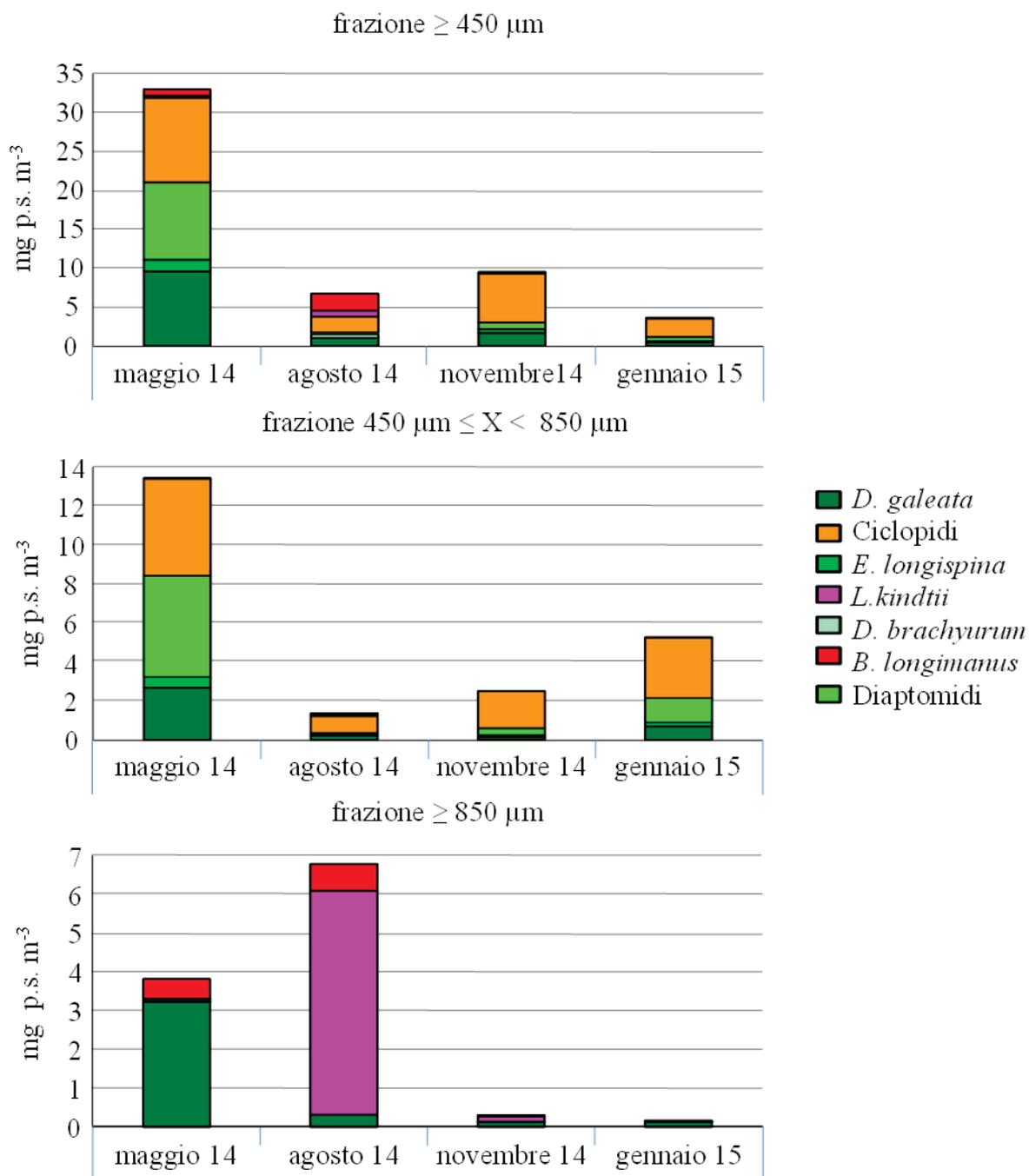


Fig. 2.14. Biomassa dei taxa zooplanctonici del Lago Maggiore nelle tre frazioni dimensionali nei quattro momenti stagionali.

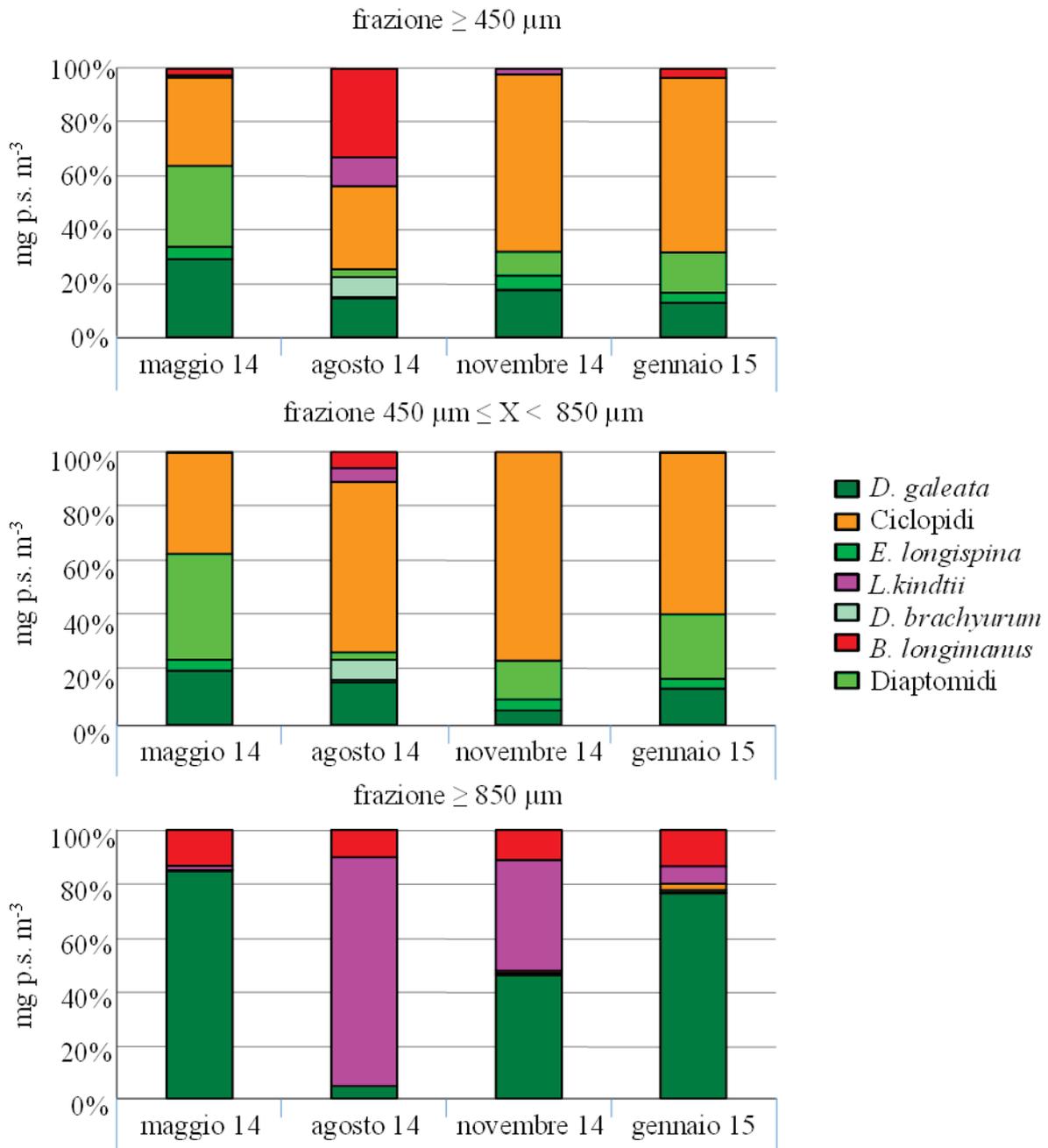


Fig. 2.15. Contributo percentuale alla biomassa dei taxa zooplanctonici del Lago Maggiore nelle tre frazioni dimensionali nei quattro momenti stagionali.

Una spiccata stagionalità caratterizza il segnale isotopico dell'azoto (Fig. 2.16), con valori più bassi in primavera e valori più alti in autunno e inverno. La variazione è evidente su tutte le frazioni da noi analizzate. Così come atteso, la frazione a dimensioni maggiori è quella che presenta la massima variabilità (5,01 ‰ a maggio e 12,3 ‰ a gennaio), con un valore massimo invernale superiore a quello delle altre frazioni.

La stagionalità che caratterizza il segnale isotopico del carbonio (Fig. 2.16) risulta ben evidente anche all'analisi delle tre frazioni dimensionali, nelle quali il popolamento zooplanctonico di rete è stato suddiviso.

L'intervallo di variazione del segnale isotopico del carbonio tra maggio e agosto risulta massimo per la frazione $\geq 850 \mu\text{m}$ (-33,7‰ e -25,7‰, rispettivamente), lievemente inferiore per quella $\geq 450 \mu\text{m}$ (-34,1‰ e -26,7‰), e decisamente contenuto (variando tra un minimo di -34,5‰ e un massimo di -29,9‰) per quella intermedia. La variazione tra i mesi estivi e quelli autunnali è, così come atteso, meno rapida rispetto all'incremento registrato tra maggio ed agosto.

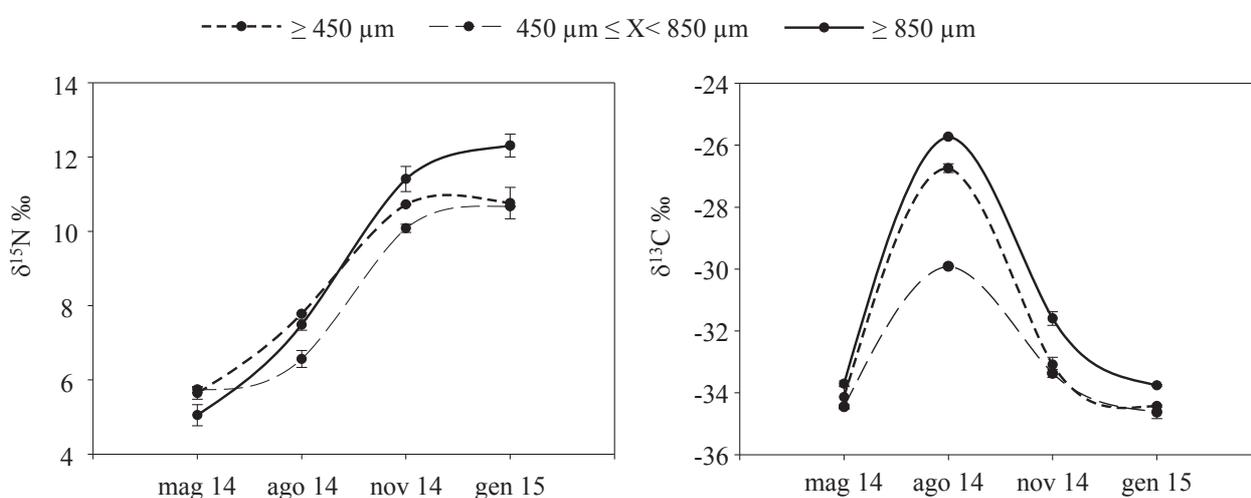


Fig. 2.16. Andamento stagionale dei segnali isotopici di carbonio e azoto ($\delta^{13}\text{C}\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N}\text{‰}$) nelle tre frazioni dimensionali analizzate.

La minore variazione stagionale nella frazione compresa tra $450 \mu\text{m}$ e $850 \mu\text{m}$ riflette la persistente dominanza, al suo interno, di *Cyclops abyssorum*, e il fatto che questo organismo zooplanctonico tende a occupare acque relativamente profonde e a mantenere anche nei mesi estivi un segnale isotopico del carbonio più negativo rispetto a quello degli altri taxa (Manca *et al.* 2013). Tale caratteristica di *Cyclops* sembra non essere limitata al Lago Maggiore, risultando confermata anche in altri ambienti lacustri analizzati (Boggio 2015).

Anche per il 2014-15 i dati confermano la buona corrispondenza tra i valori dei segnali isotopici di carbonio e azoto misurati e quelli calcolati a partire dal contributo dei diversi taxa alla biomassa totale nella varie frazioni. Tale corrispondenza riflette sia l'affidabilità delle stime di biomassa, basate sull'applicazione di regressioni lunghezza peso ottenute per i taxa del Lago Maggiore (Manca e Comoli 2000), sia la perfetta corrispondenza dei dati isotopici ottenuti sui singoli taxa e quelli ottenuti sulle frazioni dimensionali ($\delta^{13}\text{C}$, $F(1,10) = 76,61$ $p < 0,00001$; $\delta^{15}\text{N}$, $F(1,10) = 48,04$ $p < 0,00004$).

La dominanza di *Cyclops*, che rappresenta il tratto caratteristico della dinamica stagionale dell'anno 2014-15, risulta importante anche per spiegare il generale aumento delle concentrazioni di DDT e di PCB totali, con il contributo percentuale di questo ciclopide alla biomassa totale (DDT_{tot} , $R_{\text{spearman}} = 0,83$, $p < 0,001$, $n = 12$; PCB_{tot} $R_{\text{spearman}} = 0,76$, $p < 0,005$, $n = 12$). L'importante contributo di *Cyclops* alla biomassa totale di maggio nella frazione ≥ 450 e quello di *Bythotrephes* e

Cyclops in agosto si traduce in un arricchimento rispetto alla linea di base del segnale isotopico dell'azoto.

Il complesso di dati fino ad ora raccolti, relativamente alla frazione $\geq 450 \mu\text{m}$ dimostra come sia le concentrazioni di PCB totali, sia quelle di DDT totali risultino ben correlate con il segnale isotopico dell'azoto corrispondente (DDT: $R_{\text{spearman}} = 0,72$, $p < 0,05$, $n = 16$; PCB: $R_{\text{spearman}} = 0,86$, $p < 0,05$, $n = 16$)

Bibliografia

- Boggio E. 2015. Un approccio funzionale per lo studio della biomagnificazione: analisi degli isotopi stabili per indagare il trasferimento degli inquinanti lungo le reti trofiche lacustri. Tesi di dottorato.
- Manca M., Visconti A., Piscia R. 2013. Indagini sullo zooplancton e sulla rete trofica pelagica attraverso analisi di isotopi stabili. In: C.N.R.-I.S.E. Sede di Verbania. 2013. Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 2008-2012. Campagna 2012 e rapporto quinquennale. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 89-102.
- Manca M., Comoli P. (2000). Biomass estimates of freshwater zooplankton from length-carbon regression equations. *Journal of Limnology*, 59: 15-18.