

2. CONTAMINANTI NELLO ZOOPLANCTON

Silvana Galassi, Università degli Studi di Milano

Roberta Bettinetti, Silvia Quadroni Università degli Studi dell'Insubria, Como/Varese

Marina Manca, Roberta Piscia CNR-ISE Verbania

Licia Guzzella, Giulia Poma, Claudio Roscioli CNR-IRSA Brugherio

I campionamenti dello zooplancton sono stati eseguiti in maggio, agosto, novembre 2011 e gennaio 2012 nelle stazioni di Ghiffa, Baveno e Lesa, rappresentative rispettivamente della zona centro-settentrionale a cui corrisponde la massima profondità, della baia di Pallanza e della zona meridionale del lago. A queste stazioni è stata aggiunta anche quella di Locarno a novembre 2011 e gennaio 2012, rappresentativa della zona più settentrionale del lago.

I campionamenti sono stati effettuati con retino da zooplancton a bocca larga (diametro pari a 58 cm) armato con rete in nylon da 450 μm di luce entro lo strato 0-50 m.

Una parte del campione è stata filtrata su filtri in microfibra di vetro con pori di 1,2 μm (GF/C, diametro 4,7 cm), congelata a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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, i due metaboliti pp'DDE e pp'DDD e i rispettivi isomeri op' e 14 congeneri di policlorodifenili (PCB). Nei campioni di zooplancton prelevati nel corso del 2011/2012 non sono stati determinati gli esaclorocicloesani e l'esaclorobenzene in quanto indagini precedenti hanno evidenziato livelli sempre vicini al limite di rilevabilità dello strumento. In queste condizioni l'errore associato alla determinazione non consente di percepire variazioni temporali e/o spaziali. Si è invece privilegiata la determinazione dei livelli degli isomeri op' dei DDT, favorendo anche la possibilità di confronto con le determinazioni analitiche operate nei pesci nei quali questi composti sono risultati essere presenti nelle indagini precedenti. Per tutti i composti il limite di rilevabilità analitica era pari a $0,5\text{ ng g}^{-1}$ di peso secco.

I campioni, dopo liofilizzazione, sono stati pesati per la determinazione del peso secco e sottoposti ad estrazione con solvente a caldo per la determinazione della frazione lipidica (Tab. 2.1).

Tab. 2.1. Percentuale lipidica dello zooplancton nelle quattro stazioni del Lago Maggiore per i quattro campionamenti stagionali, espressa sul peso secco.

	Baveno	Lesa	Ghiffa	Locarno
maggio	17,3	21,0	19,0	//
agosto	13,7	15,9	19,1	//
novembre	5,1	14,5	12,3	16,8
gennaio 2012	20,8	19,4	21,3	14,2

La differente ricchezza in lipidi dei campioni zooplanctonici non è indipendente dalla composizione tassonomica degli stessi. La relativa concentrazione dei lipidi è infatti positivamente correlata (Spearman Rank $R=0.705$; $n=14$) a un buon livello di significatività statistica ($p<0,05$) con il contributo alla biomassa totale di ciclopidi, diaptomidi e *Daphnia* nel loro insieme.

I risultati relativi alla determinazione del pp'DDE, op'DDE pp'DDD, op'DDD, pp'DDT e op'DDT riferiti al peso secco del campione sono riportati nella figura 2.1.

A ogni data di campionamento e ad ogni stazione si osserva la netta prevalenza degli isomeri pp'rispetto ai corrispondenti op'.

Nonostante gli isomeri pp'-sostituiti rimangano quelli più rappresentati nella maggior parte delle stazioni campionate, si osserva un livello non trascurabile anche degli isomeri op', in particolare dell'op'DDT.

Il pp'DDD è il metabolita prevalente ad ogni campionamento ed ad ogni stazione ad eccezione del mese di novembre alla stazione di Ghiffa in cui il pp'DDE ha concentrazione maggiore. L'aumento dei livelli di questo contaminante potrebbe essere dovuto a un rilascio da parte dei sedimenti che fungono da deposito e in cui solitamente avviene la degradazione anaerobica del pp'DDT a pp'DDD.

La concentrazione massima di pp'DDT è stata misurata nel mese di agosto a Baveno mentre la concentrazione minima è stata misurata a Locarno nel campionamento di novembre. A gennaio anche in questa stazione i livelli hanno raggiunto a valori paragonabili a quelli misurati a Baveno e Ghiffa nel campionamento precedente.

I valori massimi di contaminazione da pp'DDD sono risultati paragonabili a quelli misurati nel 2010, mentre sono risultati leggermente più bassi per quanto riguarda il pp'DDT e pp'DDE.

Le concentrazioni alla stazione di Lesa sembrano progressivamente aumentare nel tempo, mentre nel caso degli altri siti di campionamento non sembra esserci questo tipo di andamento. Rispetto al 2010 (CIPAIS, 2011) in cui non si erano notate grandi differenze tra i siti di campionamento, nel 2011 le differenze sembrano più evidenti anche grazie all'inserimento della stazione di Locarno che nel mese di gennaio è risultata molto meno contaminata delle altre tre stazioni.

Tra gli isomeri, l'op'DDD è il prevalente ad eccezione di agosto a Lesa in cui la concentrazione è paragonabile a quella dell'op'DDE e op'DDT. Gli isomeri orto-para (op') sono da considerare indicatori dell'origine industriale della contaminazione perché la produzione industriale di pp'DDT prevede la formazione anche di un 15-25% dell'isomero op'DDT, che può essere convertito nel suolo e nei sedimenti nei metaboliti op'DDD e op'DDE. Il *fingerprint* della contaminazione da residui dei DDT nel Lago Maggiore risulta quindi essere ancora caratterizzato dall'origine prevalentemente industriale della contaminazione

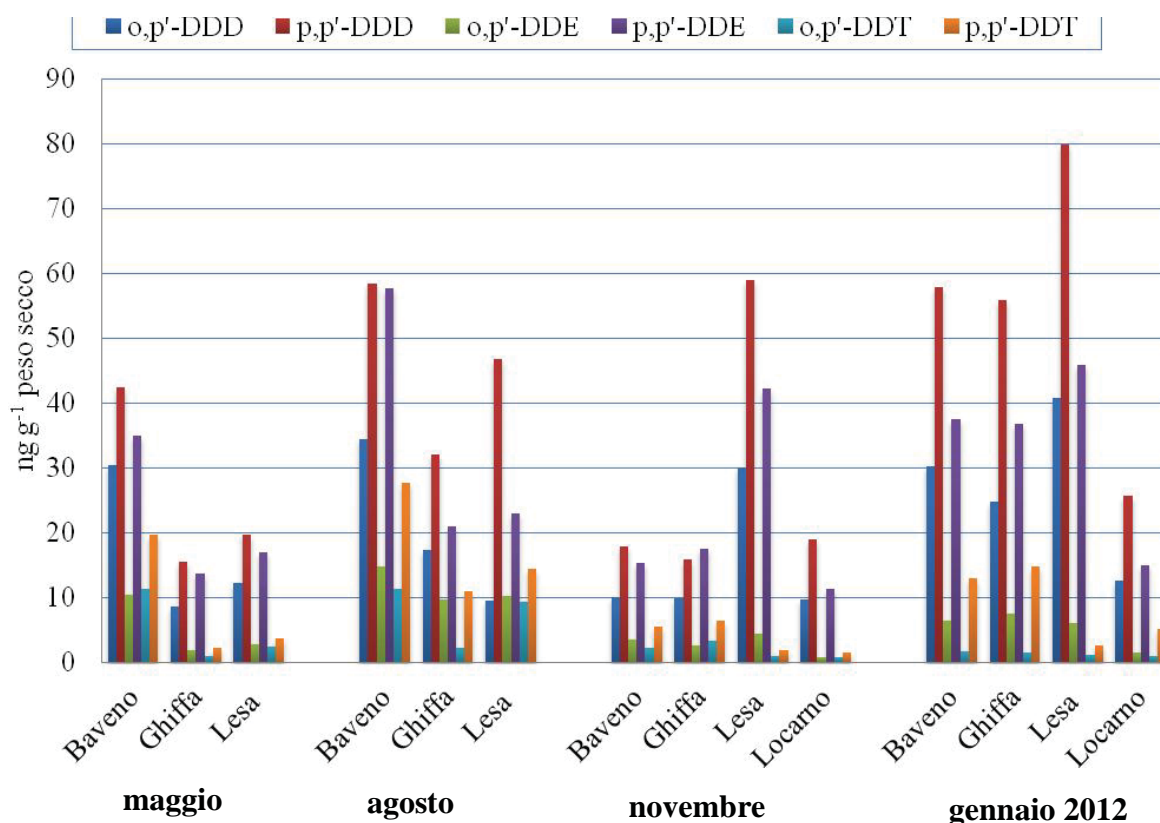


Fig. 2.1. Contaminazione del pp'DDT e dei suoi metaboliti nello zooplancton delle stazioni del Lago Maggiore nel 2011/12. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

Nel loro complesso, i composti parentali del DDT e i loro derivati sono risultati variare nel corso dell'anno nelle tre stazioni. La stazione di Baveno è risultata quella maggiormente contaminata e con le maggiori differenze stagionali. La concentrazione di questi contaminanti ha qui raggiunto livelli di ca. 200 ng g^{-1} peso secco in agosto e di ca. 150 ng g^{-1} peso secco a maggio e gennaio. In detta stazione, come pure in quella di Ghiffa, le concentrazioni di DDT e derivati sono risultate più basse a novembre, con valori di ca. $50\text{-}60 \text{ ng g}^{-1}$ peso secco. Valori massimi comparabili a quelli di Baveno sono stati misurati a Lesa a gennaio; in questa stazione del basso lago l'aumento delle concentrazioni è stato graduale nel tempo, con valori minimi (dell'ordine di 60 ng g^{-1} peso secco) registrati a maggio. Valori complessivamente più bassi, e in aumento tra novembre e gennaio, sono stati misurati nella stazione di Locarno (45 e 60 ng g^{-1} peso secco, rispettivamente).

Nel caso dei PCB totali il valore massimo di contaminazione nello zooplancton è stato raggiunto in maggio a Lesa (Fig. 2.2). Il valore minimo è stato invece misurato a gennaio 2012 a Baveno. La concentrazione massima dei PCB è risultata maggiore rispetto a quella misurata nel 2010, che era intorno a 100 ng g^{-1} p.s. Le concentrazioni minime sono invece confrontabili. A Baveno le concentrazioni sembrano diminuire a partire da novembre mentre a Ghiffa e a Lesa si mantengono più costanti nel tempo. A Locarno sono state misurate concentrazioni confrontabili ai livelli di Ghiffa nello stesso campionamento.

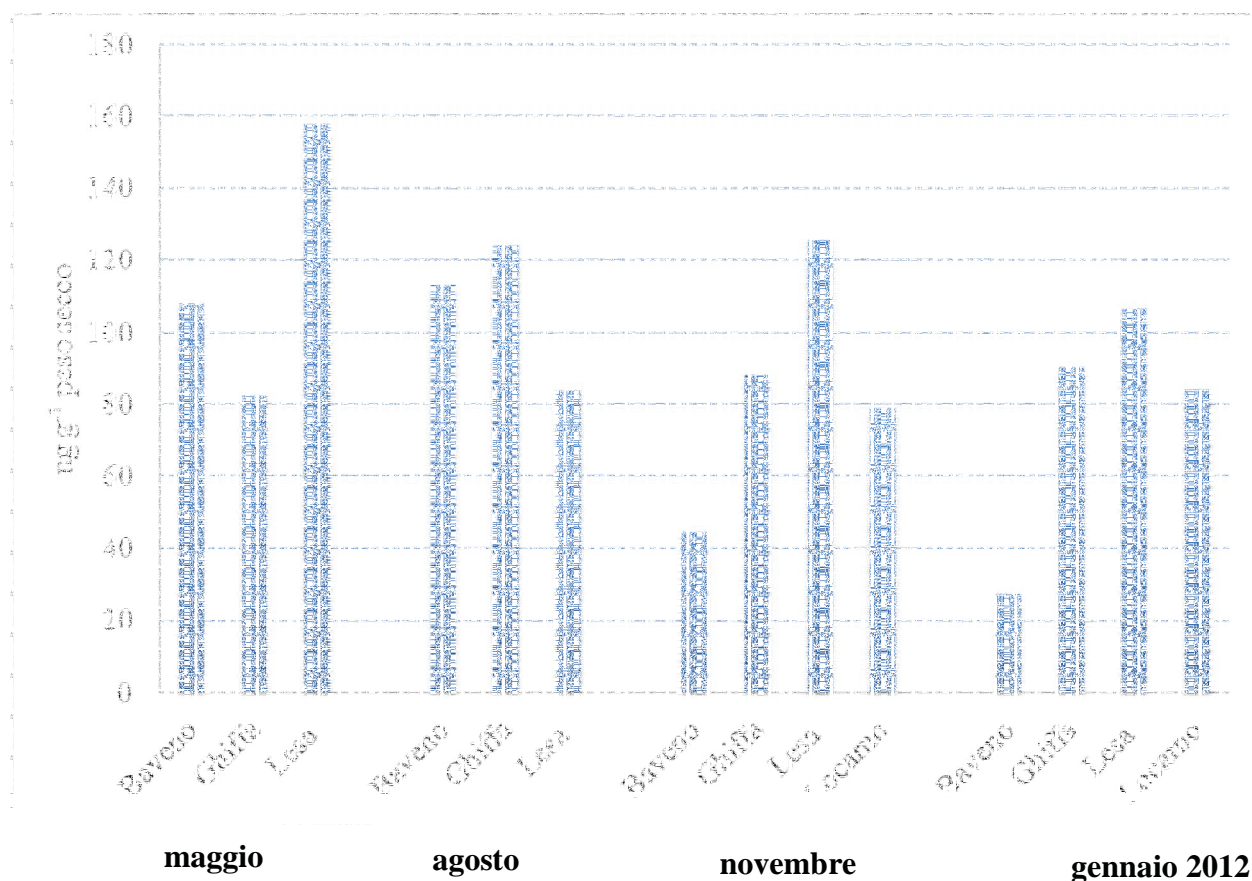


Fig. 2.2. PCB totali nello zooplancton delle stazioni del Lago Maggiore nel 2011/12. Dati espressi in ng g⁻¹ di peso secco.

Il profilo dei congeneri (Figg. 2.3; 2.4; 2.5; 2.6) evidenzia in tutte le stazioni e in tutti i periodi di campionamento la prevalenza di PCB 138. Altro PCB rappresentato è il PCB 153. I profili dei PCB sono simili nel tempo in ciascuna stazione; inoltre il profilo delle concentrazioni medie nel corso dell'anno dei singoli congeneri è simile anche tra le diverse stazioni di campionamento (Fig. 2.7).

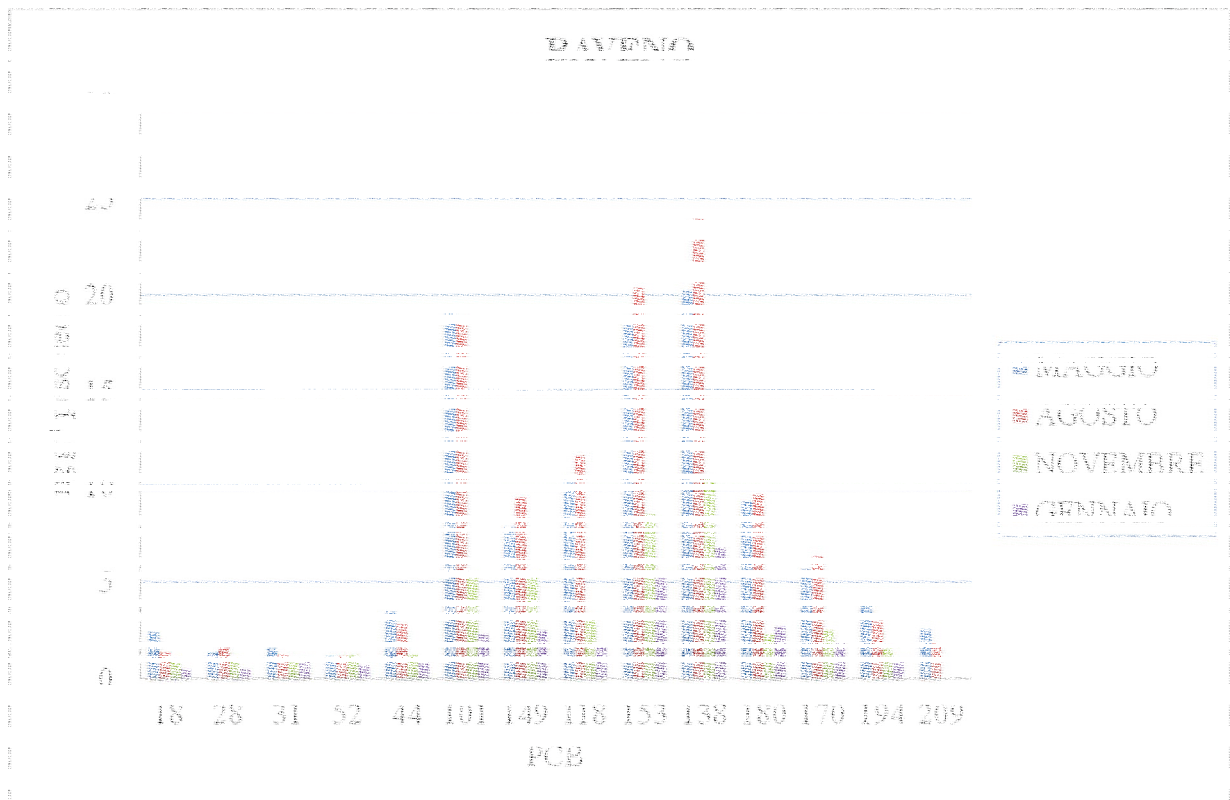


Fig. 2.3. Singoli congeneri di PCB nello zooplancton campionato a Baveno. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

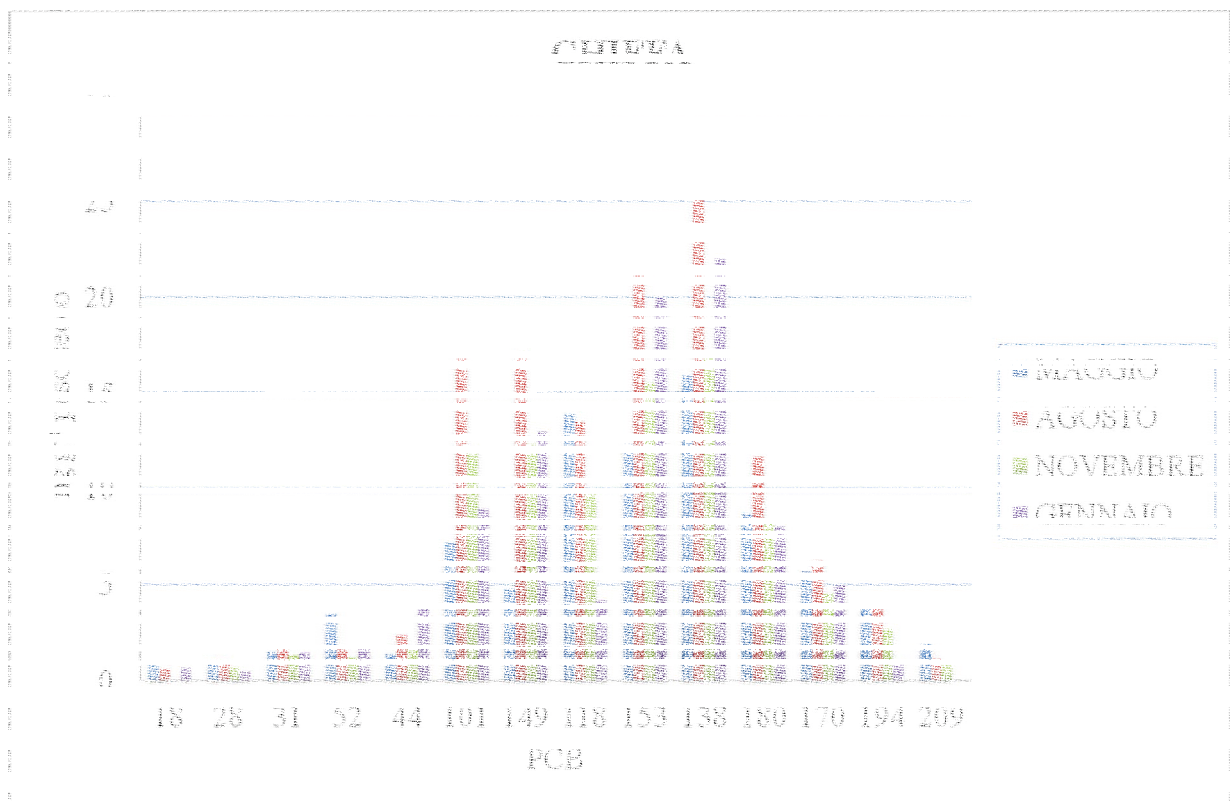


Fig. 2.4. Singoli congeneri di PCB nello zooplancton campionato a Ghiffa. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

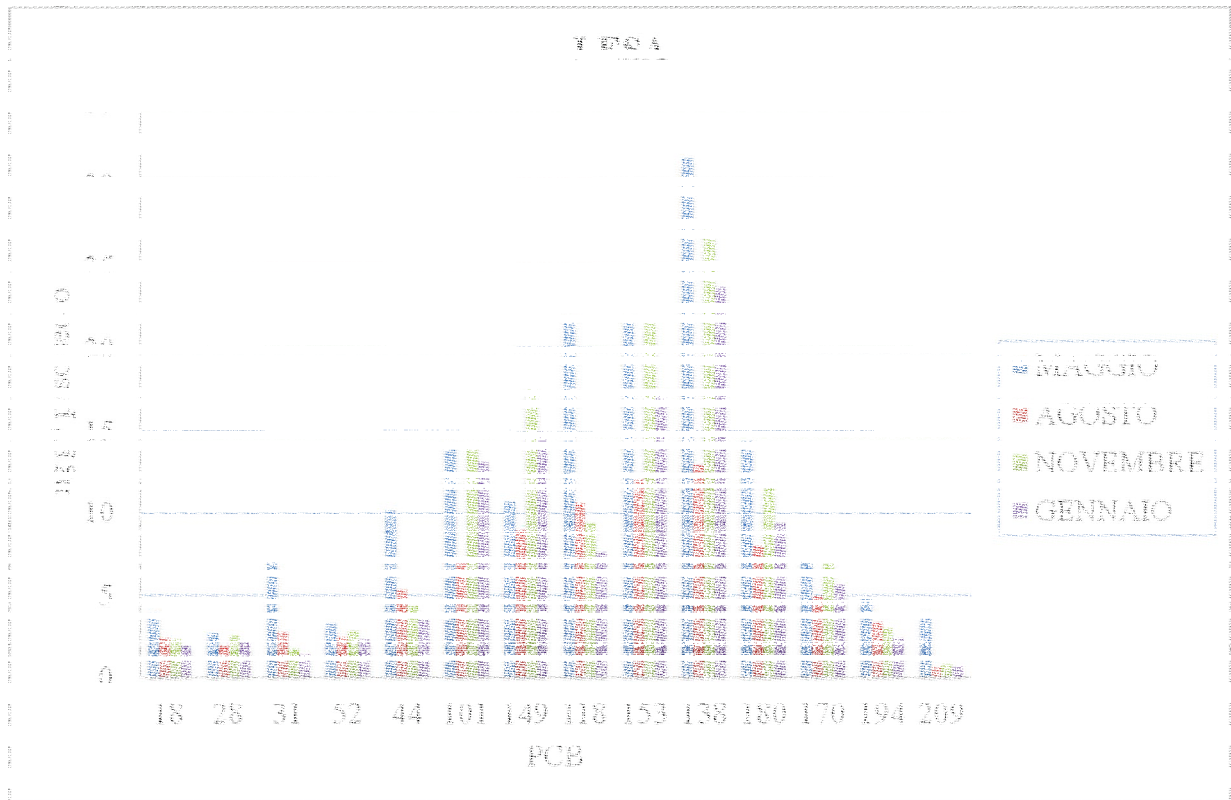


Fig.2.5. Singoli congeneri di PCB nello zooplancton campionato a Lesa. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

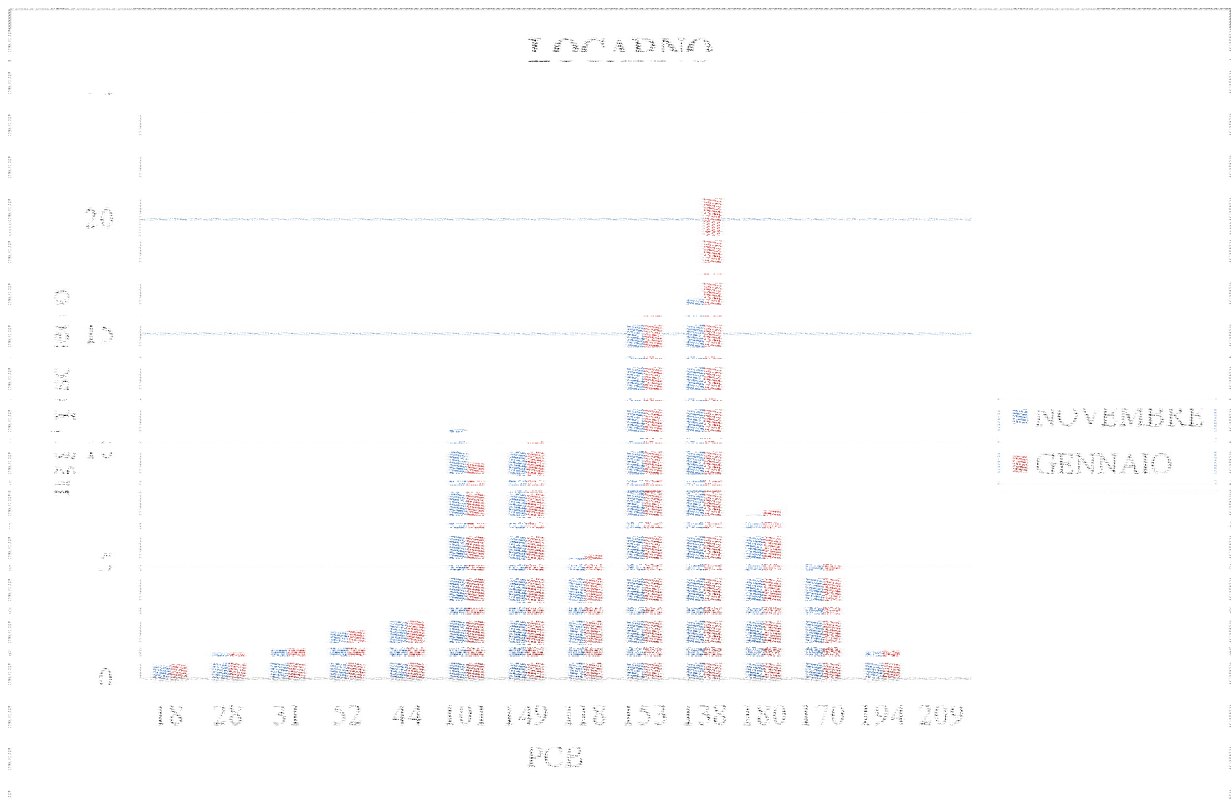


Fig. 2.6. Singoli congeneri di PCB nello zooplancton campionato a Locarno. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

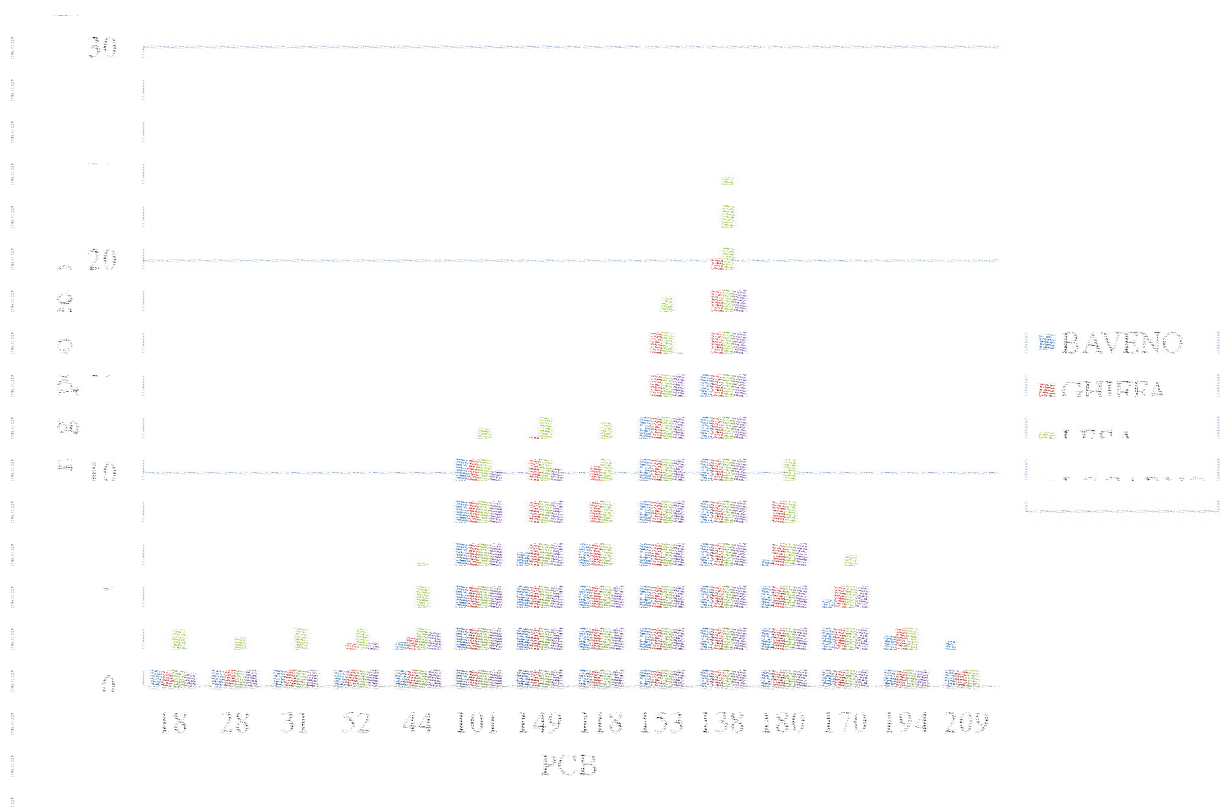


Fig. 2.7. Concentrazione media dei singoli congeneri di PCB nello zooplancton nelle diverse stazioni. Dati espressi in ng g^{-1} di peso secco.

Lo zooplancton di rete è costituito da due componenti differenti per ruolo ecologico, i consumatori primari e quelli secondari. Queste due componenti nel corso dell'anno tendono a succedersi in maniera abbastanza regolare nel tempo; la prima raggiunge il massimo sviluppo numerico, e fornisce il massimo contributo alla biomassa totale, a maggio; la seconda diventa un'importante componente della biomassa del mesozooplancton di rete nel periodo successivo e nel pieno inverno, quando l'omogeneità delle temperature consente ampie migrazioni verticali e una sostanziale omogeneità di prede nello strato d'acqua entro il quale si colloca la maggior parte degli organismi zooplanctonici (0-50 m).

I dati relativi al contributo dei diversi taxa alla biomassa (Fig. 2.8) e alla densità di popolazione totale dello zooplancton di rete nel 2011 hanno messo in luce molto chiaramente come l'importanza dei consumatori primari (indicati in figura nei diversi toni del verde) sia andata riducendosi da maggio 2011 a gennaio 2012, in modo graduale nella stazione di Lesa. Tale riduzione sembra ben collegarsi con il fatto che le concentrazioni di DDT e derivati siano risultate nel loro complesso aumentate da maggio 2011 a gennaio 2012. Più articolata è risultata la situazione relativa alle due stazioni di Baveno e Ghiffa, nelle quali ad un primo decremento nel contributo dei consumatori primari ad agosto, ha fatto seguito in novembre una seconda fase di incremento degli stessi. Tale fase tuttavia, sostanzialmente differiva dalla prima, in quanto a determinarla erano i cladoceri di piccola taglia, quali *Eubosmina longispina* e, in misura nettamente minore, *Diaphanosoma brachyurum*. L'efficienza di trasferimento di materia, energia e presumibilmente, di sostanze tossiche, di questi due taxa è con tutta probabilità differente da quella del grosso filtratore *Daphnia*. Quest'ultimo rappresentava la componente dominante della biomassa del popolamento mesozooplanctonico in maggio.

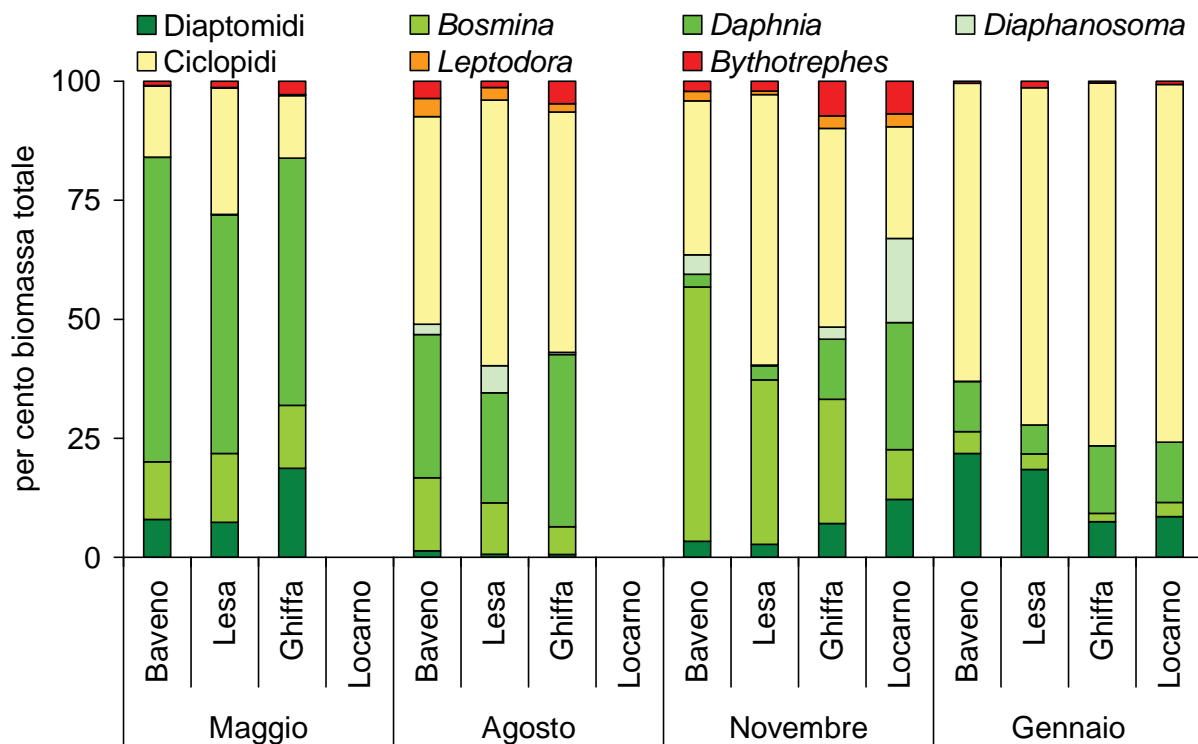


Fig. 2.8. Contributo relativo dei diversi taxa di consumatori primari alla biomassa totale del mesozooplankton ($\geq 450 \mu\text{m}$) del Lago Maggiore nelle diverse stagioni.

Nel loro complesso, i dati relativi al contributo dei consumatori primari alla biomassa totale del mesozooplankton ($\geq 450 \mu\text{m}$) sembrano suggerire come vi sia, pur nella variabilità legata alla stagione e alla stazione di campionamento (in particolare, relativamente a quella di Locarno, risultata tra le quattro quella maggiormente differenziata), un generale collegamento tra la struttura del popolamento zooplanctonico e le concentrazioni totali dei DDT e dei loro derivati misurate tra maggio 2011 e gennaio 2012. Tale collegamento sembra essere non casuale, anche alla luce del fatto che le concentrazioni totali di DDTs e loro derivati sono positivamente correlate con il contributo dei consumatori secondari alla biomassa totale del mesozooplankton (R di Spearman = 0.552; $n=14$; $p<0,05$).

Un parametro che ben rappresenta il diverso ruolo nel trasferimento di materia, energia, e composti tossici persistenti, attraverso il mesozooplankton è il segnale isotopico dell'azoto ($\delta^{15}\text{N}$). Analisi d'isotopi stabili di carbonio e azoto sono state previste nell'ambito delle ricerche limnologiche della CIP AIS per il periodo 2008-2012. Accanto alla stima delle variazioni stagionali dei diversi taxa zooplanctonici sono state eseguite anche analisi dei campioni zooplanctonici prelevati per le misure di composti tossici organici persistenti. In ambiente pelagico, gli organismi zooplanctonici che dipendono da una comune base alimentare possono essere caratterizzati per ruolo trofico attraverso la misura del loro segnale isotopico dell'azoto.

Quest'ultimo è largamente utilizzato in modo sia indiretto (es. per la stima dei cosiddetti fattori trofici, T , e dei coefficienti di arricchimento, Fisk *et al.*, 2001; Villa *et al.*, 2006) sia diretto (es. Broman *et al.*, 1999; Kidd *et al.*, 1995) in equazioni di regressione lineare contro le concentrazioni di inquinanti in differenti organismi.

Trattandosi di misure distruttive, per le quali è necessario sacrificare il materiale raccolto, è stato scelto di effettuare tali analisi sui campioni mesozooplanctonici solamente a seguito del completamento delle analisi microscopiche e chimiche. Così, a oggi sono disponibili solamente i dati relativi all'anno 2010. L'esame del grafico in figura 2.9, nel quale

sono riportati i risultati delle analisi effettuate in quell'anno, consente di tracciare l'andamento stagionale del $\delta^{15}\text{N}$ del mesozooplankton del Lago Maggiore.

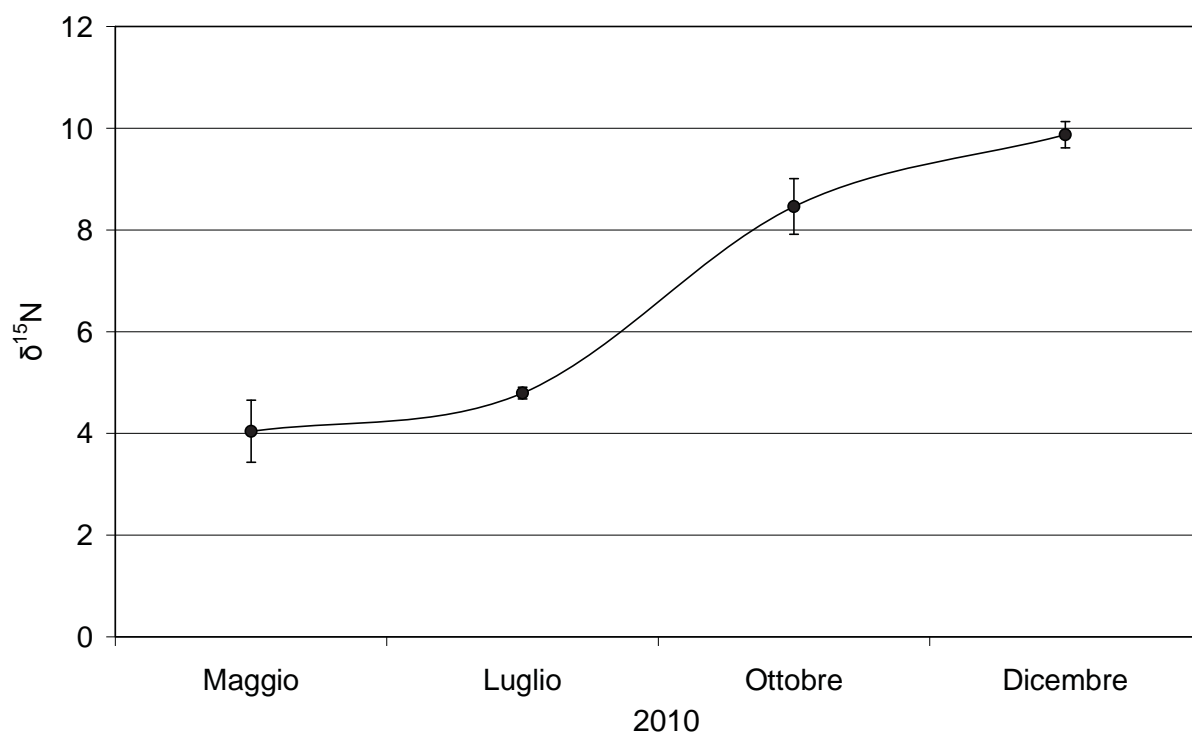


Fig. 2. 9. Grafico esemplificativo (campioni dell'anno 2010) delle variazioni stagionali nel segnale isotopico dell'azoto nel mesozooplankton ($\geq 450 \mu\text{m}$ strato 0-50 m di profondità; materiale fissato in alcol 90% v/v) nelle tre stazioni del Lago Maggiore (media \pm ES).

Ogni punto sul grafico rappresenta la media dei valori ottenuti per le tre stazioni di Baveno, Ghiffa e Lesa (2 repliche/stazione), nel 2010, data la sostanziale omogeneità di segnale nelle stesse. Il grafico consente di evidenziare un ciclo stagionale, con valori più bassi (meno arricchiti nell'isotopo pesante) a maggio, e valori più arricchiti a ottobre e dicembre. L'andamento generale è molto simile a quello tipicamente osservato nei laghi profondi a nord e a sud delle Alpi sebbene i valori assoluti siano anche molto differenti, in quanto in parte dipendenti dalle diverse condizioni di trofia. Il generale andamento riflette le variazioni nel segnale della fonte di azoto costituita dalla materia organica particellata, fortemente relazionata al fitoplancton. Così come osservato in studi precedenti, le variazioni sono riconducibili al fatto che a maggio, la netta dominanza dei consumatori primari e di *Daphnia* in particolare, comporta, tra le altre cose, l'escrezione di N/NH_4 , forma di azoto impoverita nell'isotopo pesante. Al contrario, quando a dominare sono i consumatori secondari, il fitoplancton potrebbe utilizzare in prevalenza N/NO_3 , forma di azoto più arricchita nell'isotopo pesante. A ciò va ad aggiungersi che i diversi gruppi algali che nei differenti momenti dell'anno contribuiscono alla biomassa totale fitoplanctonica (cfr. Morabito *et al.*, in CIP AIS, 2011) sono caratterizzati da valori differenti di frazionamento dell'azoto (Lehmann *et al.*, 2004).

Nel Lago Maggiore, diversamente da quanto osservato in precedenza per il Lemano, il segnale isotopico dell'azoto dello zooplankton in toto ("*pool zooplankton*") è molto ben correlato con quello dei principali taxa che compongono il popolamento nei diversi momenti dell'anno ($p < 0,001-0,002$). Tale apparente differenza di risultati può in larga misura essere attribuita al fatto che i campioni zooplanktonici del Lemano erano stati raccolti con reti a

maglie più fini di quelle utilizzate per il presente studio. Essi dunque recavano un segnale “disturbato” dalla presenza variabile nel corso dell’anno di materiale fitoplanctonico e di organismi di piccola taglia diversi tra loro per ruolo trofico (rotiferi, stadi naupliari di copepodi). L’utilizzo di reti a maglie relativamente larghe (a 450 μm di luce) ha permesso sia di ridurre sensibilmente il rumore di fondo, sia di concentrare l’attenzione sulla componente del popolamento mesozooplanctonico che maggiormente contribuisce alle fonti pelagiche di alimento dei pesci zooplanctivori. L’ottima corrispondenza generale tra i valori misurati alla stessa data di campionamento e nella medesima stazione nel campione pool e in singoli taxa zooplanctonici (prelevati da campioni differenti, secondo quanto previsto dal progetto CIP AIS-Ricerche limnologiche) è il risultato del fatto che i singoli taxa, così come il pool dello zooplancton, riflettono le variazioni stagionali nella linea di base, vale a dire nelle fonti di sostegno della rete trofica pelagica (Fig. 2.9). Tali variazioni sono molto ben tracciate dal segnale di *Daphnia*, organismo che, anche in virtù della natura non selettiva del suo essere filtratore, riflette quello del seston con grande livello di accuratezza (cfr. Manca *et al.*, 2009, 2010 e 2011; CIP AIS 2011). Presi nel loro insieme, i taxa zooplanctonici che svolgono il ruolo di consumatori primari (media dei segnali isotopici di *Daphnia*, *Diaphanosoma*, *Bosmina* e diaptomidi) presentano un segnale isotopico coincidente con quello misurato nel campione pool zooplancton a maggio (Fig. 2.10).

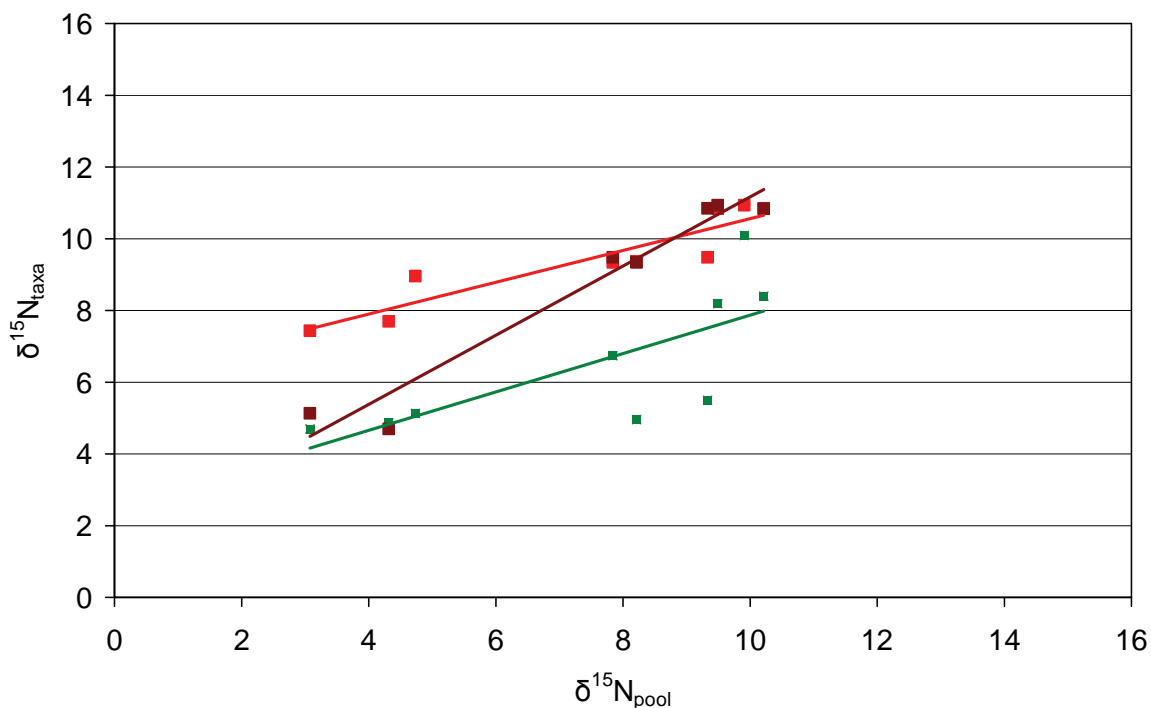


Fig. 2.10. Raffronto tra i segnali isotopici dell'azoto dei campioni di zooplancton pool con i valori medi calcolati dai singoli segnali dei taxa componenti i consumatori primari (in verde) e secondari (in rosso) e con quelli ottenuti mediando i dati dei primi nei campioni di maggio e di quelli dei secondi in ottobre e dicembre. I dati riportati si riferiscono alla campagna di monitoraggio del 2010.

Nel periodo ottobre-dicembre, quest'ultimo è perfettamente coincidente con quello misurato nei consumatori secondari (media dei valori dei taxa ivi presenti). La perfetta corrispondenza dei valori pool con le due diverse componenti del popolamento zooplanctonico rispettivamente, in due diversi periodi stagionali differenti fornisce un dato a supporto dell'importanza del contributo di consumatori primari e secondari zooplanctonici alla biomassa ai fini della valutazione della capacità di accumulo di microinquinanti organici.

Bibliografia

- Bettinetti R., Quadroni S., Manca M., Piscia R., Volta P., Guzzella L., Roscioli C. & Galassi S. 2012. Seasonal fluctuations of DDTs and PCBs in zooplankton and fish of Lake Maggiore (Northern Italy) Seasonal fluctuations of DDTs and PCBs in zooplankton and fish of Lake Maggiore (Northern Italy). *Chemosphere*, doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.03.009.
- Bettinetti R., Galassi S., Guzzella L., Quadroni S. & Volta P. 2010. The role of zooplankton in DDT biomagnification in a pelagic food web of Lake Maggiore (Northern Italy). *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 17: 1508-1518.
- Broman D., Di Guardo A. & Calamari D. 1999. Food chain accumulation of DDT and some of its metabolites in fish from Lake Maggiore (Italy) after an accidental release-evaluated by the use of stable isotopes and other biotic parameters. *Organohalogen Compounds* 43: 45-48.
- CIP AIS. 2011. *Indagini su DDT e sostanze pericolose nell'ecosistema del Lago Maggiore. Rapporto annuale 2011*. Ed. Commissione internazionale per la protezione acque italo-svizzere: 134 pp.

- Fisk A.T., Hobson K. & Norstrom R.J. 2001. Influence of Chemical and Biological Factors on Trophic Transfer of Persistent Organic Pollutants in the Northwater Polynya Marine Food Web. *Environmental Science and Technology* 35: 732-738.
- Hoekstra P. F., O'Hara T. M., Fisk A. T., Borgå K., Solomon K. R. & Muir D.C.G. 2003. Trophic transfer of persistent organochlorine contaminants (OCs) within an Arctic marine food web from the southern Beaufort–Chukchi Seas. *Environmental Pollution*, 124: 509–522.
- Kidd K.A., Schindler D.W., Hesslein R.H. & Muir D.C.G. 1995. Correlation between stable nitrogen isotope ratios and concentrations of organochlorines in biota from a freshwater food web. *Science of The Total Environment*, 160/161: 381-390.
- Lehmann M.F., Bernasconi S.M., McKenzie J.A., Barbieri A., Simona M. & Veronesi M. 2004. Seasonal variation of the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of particulate and dissolved carbon and nitrogen in Lake Lugano: Constraints on biogeochemical cycling in a eutrophic lake. *Limnol. Oceanogr.* 49: 415–429.
- Manca M., Visconti A., Fadda A., Caroni R., Cerutti I. & Volta P. 2009. Indagini sullo zooplancton e sulla rete trofica pelagica attraverso analisi di isotopi stabili di carbonio e azoto. In: *C.N.R.-I.S.E. Sede di Verbania. Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 2008-2012. Campagna 2008*. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 34-52.
- Manca M., Fadda A. & Visconti A. 2010. Indagini sullo zooplancton e sulla rete trofica pelagica attraverso analisi di isotopi stabili di carbonio e azoto. In: *C.N.R.-I.S.E. Sede di Verbania. Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 2008-2012. Campagna 2009*. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 32-43.
- Manca M., Piscia R. & Visconti A. 2011. Indagini sullo zooplancton e sulla rete trofica pelagica attraverso analisi di isotopi stabili di carbonio e azoto. In: *C.N.R.-I.S.E. Sede di Verbania. Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 2008-2012. Campagna 2010*. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 35-45.
- Morabito G., Oggioni A., Panzani P. & Austoni M. 2011. Struttura dei popolamenti fitoplanctonici. In: *C.N.R.-I.S.E. Sede di Verbania. Ricerche sull'evoluzione del Lago Maggiore. Aspetti limnologici. Programma quinquennale 2008-2012. Campagna 2010*. Commissione Internazionale per la protezione delle acque italo-svizzere (Ed.): 46-55.
- Visconti A., Volta P., Fadda A., Morabito M., Di Guardo A. & Manca M. 2012. Littoral vs. pelagic sources for planktivorous fish: applying a Dynamic Mixing Model to C, N Stable Isotope Analyses in a deep subalpine lake. *Freshwat. Biol.*: submitted.