
Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA)

**“Linee Guida per la redazione del Progetto di Monitoraggio Ambientale
delle opere soggette a procedura di VIA”**

(Bozza del documento ai fini della consultazione pubblica)

BOZZA

13 marzo 2026

Sommario

Premessa	4
PARTE I – INDICAZIONE DI CARATTERE GENERALE	4
1 Riferimenti normativi e metodologici	4
2 Criteri per la redazione del PMA	4
3 Indicazioni operative generali	4
4 Modalità di restituzione dei dati	4
5 Figure organizzative di riferimento	4
6 Coordinamento con ulteriori strumenti di gestione ambientale	4
PARTE II – INDICAZIONI OPERATIVE SPECIFICHE	5
7 Biodiversità	5
8 Patrimonio agroalimentare	5
9 Suolo	6
10 Sedimenti	7
10.1 Sedimenti marini e di ambienti di transizione	7
10.1.1 Obiettivi specifici del monitoraggio ambientale	7
10.1.2 Ambito oggetto del monitoraggio ambientale	7
10.1.2.1 Ambito normativo	7
10.1.2.2 Ambito di indagine	7
10.1.3 Localizzazione delle aree di indagine e dei punti di monitoraggio	7
10.1.4 Parametri descrittivi (indicatori)	8
10.1.5 Frequenza e durata dei monitoraggi	9
10.1.6 Metodologie di riferimento/tecniche di misura	10
10.1.7 Valori di riferimento	11
10.2 Approfondimento: analisi di <i>biomarker</i>	11
10.2.1 Obiettivi specifici del monitoraggio ambientale	11
10.2.2 Ambito oggetto del monitoraggio ambientale	11
10.2.2.1 Ambito normativo	11
10.2.2.2 Ambito di indagine	11
10.2.3 Localizzazione delle aree di indagine e dei punti di monitoraggio	12
10.2.4 Parametri descrittivi (indicatori)	12
10.2.5 Frequenza e durata dei monitoraggi	12
10.2.6 Metodologie di riferimento/tecniche di misura	12
10.2.7 Valori di riferimento	13
10.2.8 Bibliografia	14
10.2.9 Scheda tecnica	16

11 Geologia	18
12 Acque	18
13 Atmosfera	18
14 Sistema paesaggistico	18
15 Agenti fisici	18
16 Cambiamenti climatici	18

BOLZA

10 Sedimenti

10.1 Sedimenti marini e di ambienti di transizione

10.1.1 Obiettivi specifici del monitoraggio ambientale

I sedimenti, oltre a costituire il substrato che accoglie innumerevoli forme di vita, creando habitat essenziali per la biodiversità, rappresentano la via preferenziale di accumulo e scambio con la colonna d'acqua e con gli stessi organismi, non soltanto di nutrienti ed elementi essenziali, contribuendo alla regolazione dei cicli biogeochimici, ma anche di contaminanti di origine antropica.

Il monitoraggio dei sedimenti deve tener conto delle caratteristiche dell'opera e dell'area circostante. A tal fine occorre considerare se si tratta di un'opera lineare (es. cavi o condotte oppure dragaggio di canali navigabili) o areale (es. terminali di rigassificazione, parchi eolici off-shore, dighe o porti) e tener conto delle tipologie di impatto connesse alla realizzazione e all'esercizio dell'opera.

Particolare attenzione deve essere posta all'eventuale presenza di obiettivi sensibili quali: aree protette a vario titolo, impianti di acquacoltura, aree balneabili, zone di interesse alieutico, ecc.

Laddove esistano Linee guida per il piano di monitoraggio ambientale che siano applicabili a specifiche opere, queste dovranno essere tenute in considerazione nella progettazione del PMA.

10.1.2 Ambito oggetto del monitoraggio ambientale

10.1.2.1 Ambito normativo

Le attività di monitoraggio del comparto ambientale sedimenti si inseriscono in un contesto normativo disciplinato in ambito europeo da numerose Direttive e Regolamenti, tra i quali si cita la Direttiva Quadro sulla Strategia Marina 2008/56/CE (MSFD), che costituisce il principale strumento giuridico di protezione dell'ambiente marino (recepita con il D.Lgs. 190/2010), e la Direttiva Quadro sulle Acque 2000/60/CE (DQA), che istituisce un quadro a livello comunitario in materia di acque (recepita con il D.Lgs. 152/2006).

A livello nazionale, il principale riferimento normativo è rappresentato dal D.Lgs. 152/2006 recante le Norme in materia ambientale, Parte Terza, Allegato I e s.m.i.

10.1.2.2 Ambito di indagine

L'analisi delle caratteristiche tessiturali dei sedimenti è il primo passo per valutare la frazione fine che potrebbe essere messa in sospensione durante le attività di movimentazione dei sedimenti, con conseguente messa in circolo dei contaminanti eventualmente presenti. In particolare, la frazione fine del sedimento, per sua stessa natura (elevata superficie specifica), costituisce un ambiente preferenziale per l'accumulo di contaminanti e la sua risospensione potrebbe comportarne la dispersione nella colonna d'acqua e nel ciclo del particolato.

La caratterizzazione chimica consiste nello studio della qualità dei sedimenti, attraverso la valutazione di parametri analitici rappresentativi, coerentemente con quanto specificato nelle normative nazionali ed europee. Per completare le indagini, le analisi chimiche vengono generalmente integrate con analisi di bioaccumulo per la valutazione del grado di biodisponibilità dei contaminanti ed indagini ecotossicologiche necessarie a registrare gli effetti biologici combinati dovuti all'azione simultanea delle complesse miscele di contaminanti presenti (inclusi quelli non analizzati).

Un approfondimento utile a rilevare effetti biologici precoci è rappresentato dall'applicazione di analisi di *biomarker* (cfr. paragrafo 10.2 "Approfondimento: analisi di *biomarker*") negli stessi organismi selezionati per il bioaccumulo.

10.1.3 Localizzazione delle aree di indagine e dei punti di monitoraggio

L'area di indagine, la sua estensione ed il relativo disegno di campionamento devono essere definiti in base alla tipologia dell'opera, alle risultanze ottenute dal SIA, ai potenziali impatti attesi sui sedimenti e agli esiti di

caratterizzazioni derivanti dall'applicazione di normative specifiche (ad esempio D.Lgs. 152/2006 art. 109 comma 5, D.M. 173/2016 così come modificato dal D.M. del 16 dicembre 2025).

Il disegno di campionamento deve rilevare eventuali gradienti di pressione dalla zona più impattata verso quella a minor impatto, con un numero di stazioni adeguato a rilevare le alterazioni riconducibili alla movimentazione dei sedimenti.

In particolare, nel caso di opere lineari, sia in ambiente marino che in ambiente di transizione, devono essere previsti transetti ortogonali alla direzione dell'opera, disposti lungo la sua lunghezza, con un numero di stazioni adeguato a rilevare i gradienti delle pressioni. Nel caso di più opere lineari parallele tra loro, il numero di stazioni dovrà essere proporzionato sia al numero di opere lineari da posare sia all'estensione della superficie oggetto di monitoraggio.

Nel caso di opere puntuali o areali in ambiente marino, devono essere previsti transetti disposti secondo uno schema radiale, in base alla corrente dominante, lungo i quali posizionare le stazioni di campionamento ad una distanza progressiva dall'opera.

Nel caso di opere areali in ambienti di transizione è opportuno prevedere un disegno di campionamento secondo maglie regolari, di dimensioni variabili in funzione dell'estensione dell'area potenzialmente soggetta ad impatto.

In generale, per la scelta del posizionamento e del numero delle stazioni, è opportuno valutare l'idrodinamica e le dinamiche di sedimentazione dell'area, anche mediante il supporto di modelli numerici.

Specifica attenzione deve essere posta nel caso di eventuali scarichi previsti nel corso della fase di esercizio.

È consigliabile identificare un'area di riferimento, non soggetta a pressioni riconducibili all'opera, con la quale confrontare i risultati del monitoraggio (bianco spaziale).

Al fine di verificare gli impatti dell'opera, si specifica che il disegno di campionamento deve essere replicato in tutte le fasi di indagine (*ante operam*, *corso d'opera*, *post operam*).

Nelle medesime stazioni di campionamento dei sedimenti dovrebbero essere posizionate le stazioni di indagine del macrozoobenthos di fondo mobile (vedi Capitolo 7 "Biodiversità").

Per il bioaccumulo sarà privilegiata l'analisi negli organismi nativi e pertanto il campionamento sarà condizionato dalla loro presenza. La distribuzione e il numero delle stazioni sarà definito in relazione all'estensione dell'area potenzialmente soggetta ad impatto (in accordo con quanto evidenziato nel SIA), considerando almeno una stazione di bianco "spaziale" (controllo) corrispondente ad un sito esterno all'area interessata dagli impatti.

10.1.4 Parametri descrittivi (indicatori)

In generale i parametri da analizzare fanno riferimento alle principali normative riguardanti la tutela dell'ecosistema marino e degli ambienti di transizione ai quali sono aggiunti ulteriori parametri sulla base delle risultanze del SIA, dei potenziali impatti attesi e degli esiti di caratterizzazioni derivanti dall'applicazione di normative specifiche.

I parametri riguardano sia il comparto abiotico sia quello biotico:

- Fisica e Chimica: nella tabella 10.1 sono elencati i criteri per la selezione dei parametri fisici e chimici da investigare nella matrice sedimento.

Tab. 10.1 – Criteri per la selezione dei parametri fisici e chimici da investigare.

Gruppo	Definizione	Elenco
1	Descrittori fisici caratteristici del sedimento	Granulometria, umidità e peso specifico
2	Descrittori chimici caratteristici del sedimento	Carbonio organico totale e/o sostanza organica totale, azoto e fosforo totale
3	Sostanze di origine naturale o antropica, con caratteristiche di tossicità intrinseca e ambientalmente rilevanti, non necessariamente riconducibili all'opera.	As, Hg, Ni, Cd, Pb, Cr _{tot} , Cr(VI), antracene, fluorantene, naftalene, benzo(a)pirene, benzo(b)fluorantene, benzo(k)fluorantene, benzo(g,h,i)perilene, indeno(1,2,3-cd)pirene,

		PCB (congeneri di cui all'Allegato 1 alla Parte III D.Lgs 152/2006 e s.m.ii.), DDT, DDD, DDE, HCB, Diossine e Furani, organostannici alifatici- [^] , HCH, Aldrin, Dieldrin, Idrocarburi C>12
4	Sostanze evidenziate dal SIA associabili all'opera o a contaminazione pregressa dell'area (nota o sospetta)	Esempi: sottoprodotti della clorazione (rigassificatori, scarichi degli impianti di depurazione, ecc.); Cu associato all'utilizzo di vernici antivegetative.

[^] tributilstagno (TBT), dibutilstagno (DBT) e monobutilstagno (MBT); il tributilstagno deve essere espresso in ug TBT kg⁻¹ mentre la sommatoria di TBT, DBT, MBT va espressa in ug Sn kg⁻¹.

Nel corso delle fasi *ante operam* e corso d'opera dovranno essere analizzati i descrittori fisici e chimici del sedimento (gruppo 1 e 2), le sostanze non necessariamente riconducibili all'opera (gruppo 3), i parametri riconducibili alla realizzazione e/o esercizio dell'opera e quelli legati ad una eventuale contaminazione pregressa (gruppo 4).

Sulla base delle risultanze ottenute, i parametri del gruppo 3 risultati non quantificabili in tutta l'area investigata e non riconducibili all'esercizio dell'opera possono essere omessi nella successiva fase di monitoraggio *post operam*.

- Ecotossicologia: batteria di saggi ecotossicologici costituita da almeno tre organismi appartenenti a livelli trofici distinti, di cui almeno uno da applicare alla fase solida. La scelta della batteria dovrà seguire i criteri riportati nella manualistica ISPRA (Manuali e Linee guida 67/2011, Allegato Tecnico D.M. 16 dicembre 2025). Qualora nelle fasi *ante operam* e corso d'opera non vengano riscontrati effetti tossicologici significativi, il numero di stazioni di sedimenti dove effettuare i saggi biologici può essere ridotto in maniera opportuna. In funzione delle specie e degli *end-point* scelti, potrebbe essere utile la misura di potenziali parametri interferenti quali ammonio e solfuri, direttamente nella matrice ambientale da saggiare. Le analisi di *biomarker*, se previste, dovranno essere effettuate almeno su una delle specie selezionate per il bioaccumulo (cfr. paragrafo 10.2 "Approfondimento: analisi di *biomarker*").
- Bioaccumulo: le analisi dovrebbero essere eseguite su specie bentoniche stanziali da selezionare tra pesci, molluschi bivalvi o gasteropodi, anellidi policheti, echinodermi, dando priorità a quelle per le quali esistono dei valori standard di riferimento. In fase *ante operam* e corso d'opera dovrebbero essere investigati i parametri per i quali sono definiti gli SQA per il biota ai sensi del D.Lgs. 152/2006 e le sostanze riconducibili alla realizzazione e/o esercizio dell'opera. Nel *post operam* dovrebbero essere monitorati i parametri risultati critici nelle precedenti fasi di monitoraggio nel sedimento e nel biota e quelli eventualmente introdotti nella fase di esercizio dell'opera.

10.1.5 Frequenza e durata dei monitoraggi

La frequenza di campionamento e la durata del monitoraggio della matrice sedimento devono consentire la verifica delle alterazioni dovute alla realizzazione e all'esercizio dell'opera.

Si dettagliano di seguito la frequenza e la durata del monitoraggio per la matrice sedimento, con specifico riguardo alle indagini fisiche, chimiche ed ecotossicologiche:

- fase *ante operam*: almeno 1 volta prima dell'inizio dei lavori di cantiere;
- fase corso d'opera: 1 volta al termine dell'attività di cantiere oppure, nel caso di cantieri di durata pluriennale, al termine delle principali fasi di realizzazione dell'opera;
- fase *post operam*: 1 volta l'anno per almeno tre anni e comunque sino alla verifica della tendenza al ripristino delle condizioni iniziali.

Per quanto concerne le indagini di bioaccumulo, la frequenza di campionamento dipende dalle caratteristiche biologiche della specie selezionata. Nel caso dei bivalvi la frequenza è preferibilmente stagionale, mentre nel caso dei pesci la frequenza è preferibilmente semestrale. Nella scelta della stagione in cui effettuare il campionamento dovrebbe essere evitato il periodo riproduttivo, e il periodo di campionamento dovrebbe essere mantenuto invariato in tutte le fasi del monitoraggio e per tutta la sua durata, al fine di ridurre la variabilità legata al ciclo biologico degli organismi.

Di seguito si dettaglia la frequenza e durata del monitoraggio per le indagini di bioaccumulo:

- fase *ante operam*: frequenza preferibilmente stagionale o semestrale in funzione della specie selezionata, per una durata di almeno un anno;
- fase corso d'opera: frequenza preferibilmente stagionale o semestrale in funzione della specie selezionata, per l'intera durata del cantiere;
- fase *post operam*: frequenza preferibilmente stagionale o semestrale in funzione della specie selezionata, per almeno tre anni e comunque sino alla verifica della tendenza al ripristino delle condizioni iniziali.

Qualora siano previste analisi di *biomarker*, queste devono essere eseguite con la stessa frequenza di campionamento di quelle di bioaccumulo (cfr. paragrafo 10.2 "Approfondimento: analisi di *biomarker*").

10.1.6 Metodologie di riferimento/tecniche di misura

Il prelievo del sedimento superficiale e sub-superficiale può essere effettuato mediante benna oppure *box corer*. Il prelievo e la conservazione dei campioni dovranno essere effettuati sulla base della metodologia di riferimento in funzione dei parametri da analizzare.

Si riporta di seguito un elenco, non esaustivo, di riferimenti bibliografici.

Analisi granulometriche

- SNPA, 18/2018. Analisi granulometriche dei sedimenti marini. Linee guida 18/2018; ISBN: 978-88-448-0925-6.

Analisi chimiche sedimenti e bioaccumulo

- SNPA, 09/2018. Linee Guida sulle analisi di sostanze prioritarie in matrici marine. Parte I. Verifica delle metodologie ufficiali esistenti e loro applicabilità alle matrici marine. Linee guida 09/2018. ISBN 978-88-448-0884-6.
- SNPA, 10/2018. Linee Guida sulle analisi di sostanze prioritarie in matrici marine. Parte II. Idrocarburi policiclici aromatici e metalli ed elementi in traccia. Linee guida 10/2018. ISBN 978-88-448-0885-3.
- SNPA, 20/2019. Linea Guida per la scelta dei metodi per l'analisi delle sostanze prioritarie ai sensi della Direttiva 2000/60/CE. Linee guida 20/2019. ISBN 978-88-448-0944-7
- SNPA, 2024. Metodologie analitiche utilizzate per la determinazione di sostanze organoalogenate in campioni di biota. Pubblicazioni Tecniche SNPA 2024. ISBN 978-88-448-1243-0

Per la scelta dei metodi analitici è opportuno prediligere metodi normati (es. UNI EN ISO, EPA). In ogni caso i metodi dovrebbero essere validati e documentati in conformità ai criteri descritti in Linee guida riconosciute a livello nazionale o internazionale (ad esempio, "Guida Eurachem - Idoneità per lo scopo dei metodi analitici. Guida per i laboratori sulla validazione dei metodi e argomenti correlati", Rapporti Istisan 16/39). A garanzia della qualità del dato si raccomanda la partecipazione del laboratorio a circuiti di *proficiency testing* specifici per le matrici investigate.

Per la determinazione dei parametri chimici per i quali è previsto uno SQA, i requisiti di prestazione dei metodi analitici impiegati (limite di quantificazione e incertezza di misura) devono essere conformi a quelli indicati dal D.Lgs. 219/2010.

Ecotossicologia

- ISPRA, 2011. Batterie di saggi ecotossicologici per sedimenti di acque salate e salmastre. Manuali e Linee guida ISPRA 67/2011. ISBN 978-88-448-0498-5.
- ISPRA, 2013. Batterie di saggi biologici per sedimenti e acque interne. I manuali di Ecotossicologia. Manuali e Linee Guida 88/2013. ISBN 978-88-448-0607-1.
- ISPRA, 2021. Aspetti metodologici finalizzati all'applicazione dei saggi biologici previsti dall'Allegato Tecnico al D.M. 173/2016: protocollo per la preparazione dell'elutriato. Quaderni di Ecotossicologia 16/2021. ISBN 978-88-448-1079-5.

Per le analisi di *biomarkers* si vedano le indicazioni e i riferimenti riportati nel paragrafo 10.2 “Approfondimento: analisi di *biomarker*”.

10.1.7 Valori di riferimento

Per i parametri chimici nei sedimenti e negli organismi il riferimento è rappresentato dagli Standard di Qualità Ambientale (SQA) di cui al D.Lgs. 152/2006.

Si evidenzia che il criterio guida per la valutazione dell'entità e della durata dell'impatto è costituito dal non peggioramento delle condizioni rilevate in fase di *ante operam* o rispetto all'eventuale area di riferimento; tale valutazione dovrebbe essere effettuata utilizzando approcci statistici avanzati.

La gestione della molteplicità di dati relativi ai sedimenti può essere agevolata da un approccio del tipo *Weight Of Evidence* (WOE) che, avvalendosi di indici sintetici, può esprimere il concetto di pericolo ambientale in modo integrato ed oggettivo (Benedetti *et al.*, 2011; Piva *et al.*, 2011; Regoli *et al.*, 2019).

10.2 Approfondimento: analisi di *biomarker*

10.2.1 Obiettivi specifici del monitoraggio ambientale

Nei casi in cui, per alcune tipologie di opera (es. rigassificatori, opere di dragaggio), insieme al bioaccumulo, vengano eseguite analisi di *biomarker*, queste verranno effettuate negli stessi organismi bioindicatori e con la frequenza di campionamento simile alle analisi di bioaccumulo.

Le analisi dei *biomarker* permettono di valutare gli effetti, a livello fisiologico, molecolare e cellulare degli organismi, di una o più fonti di stress (es. contaminazione, differenze di salinità o temperatura) in una fase precoce di disturbo, prima che le alterazioni si trasmettano a livelli più elevati, di individuo e di comunità. Tali indagini consentono, quindi, un'eventuale azione preventiva, prima che il danno sia manifesto.

10.2.2 Ambito oggetto del monitoraggio ambientale

10.2.2.1 Ambito normativo

L'importanza di valutare gli effetti biologici associati alla contaminazione tramite biomarcatori è riconosciuta a livello normativo nella Decisione UE 2017/848 emanata nell'ambito della Direttiva Quadro sulla Strategia Marina. Inoltre, la misura degli effetti dei contaminanti mediante analisi di *biomarker* (biomarcatori) risulta essere uno dei *Common Indicators dell'Integrated Monitoring Assessment Programme* (Programma di Monitoraggio per la Valutazione Integrata – UNEP/MAP, 2016), approvato dai Paesi contraenti della Convenzione di Barcellona (1976), in ambito UNEP, per il monitoraggio ambientale in Mar Mediterraneo.

10.2.2.2 Ambito di indagine

Al fine di avere indicazioni relative agli effetti della contaminazione nella matrice sedimento (marino e di ambiente di transizione), viene scelta una specie legata a questa specifica matrice (organismi bentonici quali ad esempio pesci, vongole, anellidi policheti) e avente le seguenti caratteristiche: ampia distribuzione, ruolo ecologico importante, sensibilità ai contaminanti, capacità di accumulare inquinanti, facilità di campionamento. La specie viene selezionata anche in base ai protocolli metodologici standard e gli eventuali valori di riferimento disponibili.

In ambiente marino, la specie bioindicatrice da utilizzare preferibilmente per questi scopi è *Mullus barbatus*. La triglia di fango è una specie ittica bentonica, ampiamente distribuita nel Mediterraneo in fondali fangosi (a volte anche in quelli sabbiosi) fino a circa 300 m di profondità, ha abitudini stanziali e si nutre prevalentemente di piccoli invertebrati come crostacei, molluschi e policheti (Follesa e Carbonara, 2019; Tserpes *et al.*, 2002). Questa specie viene utilizzata in molti studi di monitoraggio ambientale e nel Monitoraggio Nazionale Italiano previsto nell'ambito della Strategia Marina per valutare il bioaccumulo e gli effetti biologici di contaminanti ambientali (Mathieu *et al.*, 1991; Porte *et al.*, 2002; Regoli *et al.*, 2002; Viarengo *et al.*, 2007; Martínez-Gómez *et al.*, 2012, 2013, 2017). inoltre, viene raccomandata da UNEP nelle Linee Guida per il monitoraggio nazionale (UNEP/MAP, 2017) dei Paesi firmatari della Convenzione di Barcellona (1976). Per questa specie, infatti, l'UNEP ha

determinato le metodologie standard (protocolli metodologici) per il campionamento e le analisi di *biomarker* (LL.GG. IMAP, UNEP/MAP, 2021).

In ambienti di transizione, o nel caso in cui non fosse disponibile nell'area di studio la specie suddetta, è possibile utilizzare una specie bentonica alternativa, selezionata tra le specie residenti e più abbondanti, comunemente utilizzate come bioindicatori in studi in questo tipo di ambienti (es. vongole, anellidi policheti, altri pesci).

10.2.3 Localizzazione delle aree di indagine e dei punti di monitoraggio

Il posizionamento delle stazioni di campionamento dovrà tenere in considerazione la posizione dell'eventuale scarico e, se viene effettuato, i risultati di un eventuale modello di dispersione.

Sarà necessario individuare almeno 2 aree di campionamento, di cui una vicina alla struttura (possibilmente prossima al punto di scarico) e l'altra come area di controllo (bianco spaziale).

Il bianco spaziale dovrà avere caratteristiche simili all'area dove è posizionata la struttura (es. granulometria, temperatura, salinità), ma dovrà essere sufficientemente lontana da non essere soggetta a pressioni da parte della struttura stessa.

10.2.4 Parametri descrittivi (indicatori)

La batteria di risposte biologiche da analizzare nei tessuti target della specie selezionata dovrà essere sufficientemente ampia, al fine di individuare a quale livello biologico (es. molecolare, cellulare, fisiologico) si sia verificato l'eventuale effetto delle possibili fonti di stress individuate per la particolare opera in studio (vedi Studio di Impatto Ambientale), tenendo in considerazione le caratteristiche della specie target e le indicazioni dell'IMAP (UNEP/MAP, 2021; UNEP/MAP, 2017). Un esempio di batteria di analisi da effettuare nei pesci per individuare eventuali effetti fisiologici, di genotossicità, di neurotossicità e alterazioni specificamente legate alla presenza di contaminanti organici viene di seguito riportata:

- stabilità delle membrane lisosomiali (SML-ESO, metodo citochimico, oppure SML-NRRT *Neutral Red*);
- frequenza dei micronuclei (MN);
- attività dell'acetilcolinesterasi (AChE);
- attività dell'etossiresorufina-O-deetilasi (EROD);
- metallotioneine (MT).

Inoltre, è utile calcolare alcuni indici quali:

- Indice gonadosomatico (GSI);
- Indice epatosomatico (HSI);
- Indice/fattore di condizione (IC o FC).

Infine, a supporto delle analisi di biomarker, nel sito di prelievo (contemporaneamente al campionamento), sarebbe opportuno misurare alcuni parametri abiotici quali pH, salinità, ossigeno disciolto dell'acqua.

10.2.5 Frequenza e durata dei monitoraggi

Il campionamento verrà effettuato in tutte e 3 le fasi (*ante operam*, in corso d'opera e *post operam*), con frequenza analoga a quella dei campionamenti per il bioaccumulo, o almeno 1 volta l'anno, evitando il periodo in cui la specie target selezionata potrebbe essere in riproduzione. In particolare, per *M. barbatus* in Italia, si preferisce effettuare il campionamento ad ottobre-novembre (e/o marzo), evitando il periodo tra aprile e settembre (Follesa e Carbonara, 2019).

10.2.6 Metodologie di riferimento/tecniche di misura

In ciascun sito di campionamento verranno prelevati un numero di esemplari sufficienti per poter effettuare tutte le analisi previste su un numero di 3-10 repliche per ciascuna area. Nel caso di *M. barbatus*, almeno 10

esemplari, di taglia omogenea (12-16 cm), catturati seguendo le procedure previste per attività di pesca delle triglie. Una volta effettuate le opportune misurazioni dei parametri biometrici (lunghezza totale e peso totale e/o eviscerato) e, se possibile, individuato genere e stadio maturativo, si effettuerà il prelievo di sangue (o emolinfa nel caso di invertebrati) e degli altri tessuti target (es. fegato/epatopancreas, muscolo, gonadi), nel più breve tempo possibile dalla morte dell'animale. I diversi tessuti prelevati verranno pesati (se richiesto per il calcolo degli indici, v. sopra), trattati e conservati (es. temperatura ambiente, 4 °C, azoto liquido e -80 °C) secondo i protocolli standardizzati per ciascuna tipologia di analisi.

Per il campionamento, preparazione dei campioni, analisi e calcolo degli indici si faccia tuttavia riferimento a:

- Hansson T., Thain J., Martínez-Gómez C., Hylland K., M. Gubbins, L. Balk, 2017 (ICES TIMES n. 60). Supporting variables for biological effects measurements in fish and blue mussel.
- Stagg R., McIntosh A. and M.J. Gubbins, 2016 (ICES TIMES n. 57). Determination of CYP1A dependent mono-oxygenase activity in dab by fluorimetric measurement of EROD activity in S9 or microsomal liver fractions;
- UNEP/RAMOG, 1999. Manual on the Biomarkers Recommended for the MED POL Biomonitoring Programme. UNEP, Athens.
- UNEP/MAP WG.509/43, 2021 (Annex III, App. 22–24). Report of the Meeting of the MED POL Focal Points, 27–28 May and 6–7 Oct. 2021. Monitoring Guidelines/Protocols for Sampling and Sample Preservation of Marine Molluscs (such as *Mytilus* sp.) and Fish (such as *Mullus barbatus*) for IMAP Common Indicator 18.

10.2.7 Valori di riferimento

Per la valutazione dei risultati delle analisi di *biomarker* bisogna effettuare un confronto statistico (livello di significatività $p < 0,05$) dei risultati ottenuti da organismi prelevati nei pressi della struttura rispetto ai risultati ottenuti da organismi della stessa specie prelevati, nello stesso periodo e con le stesse modalità, in un'area di controllo (bianco spaziale). Inoltre, è possibile fare un confronto con i valori soglia (es. BAC *background assessment criteria* e EAC *environmental assessment criteria*) qualora fossero disponibili per la specie ed i *biomarker* selezionati.

10.2.8 Bibliografia

- Benedetti M., Ciaprini F., Piva F., Onorati F., Fattorini D., Notti A., Ausili A., Regoli F., 2011. A multidisciplinary weight of evidence approach for classifying polluted sediments: integrating sediment chemistry, bioavailability, biomarkers responses and bioassays. *Environment International*, 38: 17 - 28. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.023>.
- Follesa M.C., Carbonara P., eds, 2019. Atlas of the maturity stages of Mediterranean fishery resources. Studies and Reviews n. 99. Rome, FAO. 268 pp.
- Hansson T., Thain J., Martínez-Gómez C., Hylland K., M. Gubbins, L. Balk, 2017 (ICES TIMES n. 60). Supporting variables for biological effects measurements in fish and blue mussel.
- Martínez-Gómez C., Fernández B., Benedicto J., Valdés J., Campillo J.A., León V.M., Vethaak A.D., 2012. Health status of red mullets from polluted areas of the Spanish Mediterranean coast, with special reference to Portmán (SE Spain). *Marine Environmental Research* Volume 77, 50-59.
- Martínez-Gomez C., 2013. Thesis: Sublethal Effects of Chemical Pollution in Benthic Fish Species from Marine Spanish Waters. Thesis Document, Chapter 7, General Discussion. In: *Mar. Sci. Appl. Biol.* University of Alicante. <http://www.tesisenred.net/handle/10803/132325>.
- Martínez-Gómez C., Fernández B., Robinson C.D., Campillo J.A., León V.M., Benedicto J., Hylland K., Vethaak A.D., 2017. Assessing environmental quality status by integrating chemical and biological effect data: The Cartagena coastal zone as a case. *Marine Environmental Research*. Volume 124, 106-117.
- Mathieu A., Lemaire P., Carriere S., Draï P., Giudicelli J., Lafaurie M., 1991. Seasonal and sex-linked variations in hepatic and extrahepatic biotransformation activities in striped mullet (*Mullus barbatus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 22, 45-57.
- Molledo, G., Martuccio, G., Catalano, B., Stellati, L., Sebbio, C., Guarracino, P., Berducci, M.T., Tornambè, A., Maggi, C. (2025). Process towards the definition of the assessment criteria for the biological effects of contaminants on fish in the Italian Seawaters National Monitoring. *JECO*, 01(1), 69-88. <http://DOI.ORG/10.82010/JECO.BSRC.2025.03>.
- Piva F., Ciaprini F., Onorati F., Benedetti M., Fattorini D., Ausili A., Regoli F., 2011. Assessing sediment hazard through a weight of evidence approach with bioindicator organisms: A practical model to elaborate data from sediment chemistry bioavailability, *Chemosphere*, 83: 475 -485. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.12.064>.
- Porte C., Escartín E., García de la Parra L.M., Biosca X., Albaigés J., 2002. Assessment of coastal pollution by combined determination of chemical and biochemical markers in *Mullus barbatus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 235, 205-216.
- Regoli F., Pellegrini D., Winston G.W., Gorbi S., Giuliani S., Virno Lamberti C., Bompadre S., 2002. Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). *Mar. Pollut. Bull.* 44, 912-922.
- Regoli F., d'Errico G., ardi A., Mezzelani M., Fattorini D., Benedetti M., Di Carlo M., Pellegrini D., Gorbi S., 2019. Application of a Weight of Evidence Approach for Monitoring complex environmental scenarios: the case-study of off-shore platforms. *Front. Mar. Sci.* 6 (2019) 377. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00377>
- Stagg R., McIntosh A. and M.J. Gubbins, 2016 (ICES TIMES n. 57). Determination of CYP1A dependent mono-oxygenase activity in dab by fluorimetric measurement of EROD activity in S9 or microsomal liver fractions.
- Tserpes G., Fiorentino F., Levi D., Cau A., Murenu M., Zamboni A. and Costas P., 2002. Distribution of *Mullus barbatus* and *M. surmuletus* (Osteichthyes: Perciformes) in the Mediterranean continental shelf: implications for management. *Scientia Marina*, 66. S2: 39-54.
- UNEP/MAP, 2016. Integrated Monitoring and Assessment Programme of the Mediterranean Sea and Coast and Related Assessment Criteria. Athens, Greece.
- UNEP/MAP, 2017. UNEP/MED WG 439/12 IMAP Common indicator Guidance facts sheets, Pollution and Marine litter.

UNEP/MAP, 2019. UNEP/MED WG 467/5. IMAP Guidance Factsheets: Update for Common Indicators.13,14, 17, 18, 20 and 21: New proposal for candidate indicators 26 and 27.

UNEP/MAP, 2021. WG.509/43. Report of the Meeting of the MED POL Focal Points, 27–28 May and 6–7 October 2021, Annex III, Appendices 22–24: Monitoring Guidelines/Protocols for Sampling and Sample Preservation of Marine Molluscs (such as *Mytilus* sp.) and Fish (such as *Mullus barbatus*) for IMAP Common Indicator 18; Monitoring Guidelines/Protocols for Biomarker Analysis of Marine Molluscs (such as *Mytilus* sp.) and Fish (such as *Mullus barbatus*) for IMAP Common Indicator 18 – Analysis of Lysosomal membrane stability (LMS); Monitoring Guideline/Protocols for Biomarker Analysis of Marine Molluscs (such as *Mytilus* sp.) and Fish (such as *Mullus barbatus*) for IMAP Common Indicator 18 – Analysis of and micronuclei (MNi) frequency, Acetylcholinesterase (AChE) activity and Stress on Stress (SoS). Pp. 2514.

Viarengo A., Dondero F., Pampanin D.M., Fabbri R., Poggi E., Malizia M., Bolognesi C., Perrone E., Gollo E., Cossa G.P., 2007. A biomonitoring study assessing the residual biological effects of pollution caused by the HAVEN wreck on marine organisms in the Ligurian Sea (Italy). Arch Environ Contam Toxicol. 53, 607-616.

10.2.9 Scheda tecnica

SEDIMENTI MARINI E DI AMBIENTI DI TRANSIZIONE						
Obiettivi specifici del MA	Ambito oggetto	Parametri descrittivi	Localizzazione dei siti di monitoraggio	Frequenza/durata	Metodologie di riferimento	Valori di riferimento
SEDIMENTI MARINI E DI AMBIENTI DI TRANSIZIONE	Caratteristiche fisiche, chimiche ed ecotossicologia	Fisica Granulometria, umidità e peso specifico. Chimica TOC o sostanza organica totale, TN e TP, As, Hg, Ni, Cd, Pb, Cr_{tot}, Cr(VI), Antracene, fluorantene, naftalene, benzo(a)pirene, benzo(b)fluorantene, benzo(k)fluorantene, benzo(g,h,i)perilene, indeno(1,2,3-cd)pirene, PCB (congeneri di cui all'Allegato 1 alla Parte III D.Lgs 152/2006 e ss.mm.ii.) DDT, DDD, DDE, HCB, Diossine e Furani, organostannici alifatici, HCH, Aldrin, Dieldrin, Idrocarburi C>12; sostanze associabili all'opera (costruzione ed esercizio) o di cui è nota o sospetta una contaminazione presente e/o pregressa. Le sostanze non quantificabili in AO e CO, non riconducibili all'esercizio dell'opera, possono essere omesse in PO. Ecotossicologia. Batteria di saggi con almeno tre organismi appartenenti a livelli trofici distinti, di cui almeno uno da applicare alla fase solida.	Si consiglia di identificare un'area di riferimento. AMBIENTE MARINO Opere lineari: transetti ortogonali alla direzione dell'opera, disposti lungo la sua lunghezza, con un numero di stazioni adeguato a rilevare i gradienti delle pressioni. Opere areali: transetti disposti secondo uno schema radiale, in base alla corrente dominante; AMBIENTE DI TRANSIZIONE Opere lineari: transetti ortogonali alla direzione dell'opera, con un numero di stazioni adeguato a rilevare i gradienti delle pressioni. Opere areali: stazioni posizionate in maglie regolari, di dimensioni variabili in funzione dell'estensione dell'area di potenziale impatto.	AO: 1 volta. CO: 1 volta al termine del cantiere o al termine delle principali fasi di realizzazione dell'opera, nel caso di cantieri pluriennali. PO: 1 volta l'anno per 3 anni e comunque sino alla verifica della tendenza al ripristino delle condizioni iniziali.	Metodi normati, validati e documentati. A titolo indicativo: SNPA 09/2018 SNPA 10/2018 SNPA 18/2018 SNPA 20/19 ISPRA 67/2011 ISPRA, 88/2013	Criterio guida: non peggioramento delle condizioni rilevate in fase ante operam o rispetto all'eventuale area di riferimento. Per i parametri chimici, laddove pertinente, il riferimento è rappresentato dagli SQA di cui al D.lgs 152/2006 e s.m.i..

SEDIMENTI MARINI E DI AMBIENTI DI TRANSIZIONE						
Obiettivi specifici del MA	Ambito oggetto	Parametri descrittivi	Localizzazione dei siti di monitoraggio	Frequenza/durata	Metodologie di riferimento	Valori di riferimento
	Bioaccumulo e biomarker in specie bentoniche (es. pesci/bivalvi)	Bioaccumulo. AO e CO: parametri con SQA per il biota e sostanze riconducibili alla realizzazione e/o esercizio dell'opera. PO: sostanze risultate critiche in AO e CO nel biota e nel sedimento e sostanze riconducibili all'esercizio dell'opera.	Stazioni distribuite in almeno 2 aree: -area potenzialmente soggetta ad impatto (v. SIA); -area di controllo (bianco spaziale).	La frequenza è in funzione della specie selezionata, evitando il periodo riproduttivo. AO: preferibilmente stagionale o semestrale, per almeno 1 anno. CO: preferibilmente stagionale o semestrale per l'intera durata del cantiere. PO: preferibilmente stagionale o semestrale per almeno 3 anni (e sino alla tendenza al ripristino delle condizioni iniziali).	Metodi normati, validati e documentati. A titolo indicativo: -SNPA 09/2018 -SNPA 10/2018 -SNPA 20/2019 -Pubblicazione tecnica SNPA 2024/ISBN 978-88-448-1243-0	Criterio guida: non peggioramento delle condizioni rilevate in fase ante operam o rispetto all'eventuale area di riferimento. Per i parametri chimici, laddove pertinente, il riferimento è rappresentato dagli SQA di cui al D.lgs 152/2006 e s.m.i.
		<i>Biomarker.</i> batteria sufficientemente ampia di biomarker (es. SML-ESO/NRRT, MN, AChE) e Indici quali GSI, HSI, IC/FC (v. approfondimento).			-UNEP/Ramoge, 1999 -Stagg et al., 2016 -Hansson et al., 2017 -UNEP/MAP, 2021	Biomarker: Eventuali valori soglia (BAC e EAC) se definiti.