



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

**APPLICAZIONE DEL MUSSEL WATCH COME STRUMENTO DI INDAGINE NEL
MONITORAGGIO DELLE AREE PORTUALI**

Dr.ssa Alice Scuderi

Tutor: Dr. David Pellegrini

Co tutor: Dr. Andrea Gaion

Data	Firma Stagista	Firma Tutor	Firma Responsabile Servizio

ABSTRACT

Obiettivo dello stage è stato l'apprendimento del metodo del Mussel Watch quale importante strumento nell'ambito delle complesse attività di caratterizzazione e monitoraggio di siti soggetti a forte impatto antropico, nel caso specifico le aree portuali.

Nell'ambito delle attività di routine nella gestione dei porti, il dragaggio rappresenta un momento cruciale dal punto di vista dell'impatto ambientale. Il monitoraggio di tale attività risulta perciò fondamentale: obiettivo dello stage è stato quindi quello di comprendere l'applicazione dell'approccio integrato, e il ruolo del Mussel Watch quale strumento di studio delle eventuali contaminazioni in atto. La candidata è stata quindi coinvolta in tutte le attività, dalla stesura del piano di campionamento, alle attività di campo e di laboratorio volte al trattamento dei mitili (*Mytilus galloprovincialis*), al fine di effettuare le analisi chimiche richieste, fino all'elaborazione dei dati ottenuti per verificare l'eventuale bioaccumulo dei metalli pesanti indagati.

PREFAZIONE

La tesi qui presentata è stata redatta dalla candidata a seguito dello stage durato sei mesi, che ha previsto la partecipazione alle attività relative alla caratterizzazione dell'area portuale di Catania; in particolare il lavoro della candidata si è concentrato sull'applicazione del metodo del Mussel Watch quale strumento integrato per una corretta gestione delle aree portuali. La candidata ha partecipato sia alle attività di campionamento in situ sia alle fasi di laboratorio, con lo scopo precipuo di acquisire conoscenze e abilità che le consentano di comprendere come affrontare al meglio le attività di monitoraggio delle aree portuali. Queste infatti rappresentano ambienti critici per la presenza di sostanze chimiche tossiche che possono impattare negativamente sugli ecosistemi marini. Diverse fonti (es. trasporto, carico e scarico, le operazioni di rifornimento, cantieri navali, sversamenti accidentali, le emissioni delle acque reflue) sono responsabili di elevate concentrazioni di inquinanti che si accumulano nei sedimenti a causa della limitata energia idrodinamica sulla parte interna dei canali portuali. A questo proposito, le operazioni di dragaggio, che sono fondamentali per lo svolgimento ottimale delle attività portuali, rappresentano un forte elemento di criticità ambientale. In questo senso l'approccio integrato, basato sulla sinergia fra analisi chimiche e saggi ecotossicologici, consente di valutare al meglio le diverse componenti ambientali per una corretta gestione.

INDICE

INTRODUZIONE	1
METODOLOGIA	2
• Bioaccumulo di metalli	2
• Piano di campionamento	2
• Materiali e metodi	3
• Determinazione dei metalli in traccia	4
RISULTATI	4
CONCLUSIONI	6
BIBLIOGRAFIA	7

INTRODUZIONE

Nell'ambito della gestione della fascia costiera, le attività di dragaggio periodicamente effettuate nei porti rappresentano un elemento a forte rischio di impatto ambientale; è quindi di fondamentale importanza essere in grado di monitorare tali attività e dare risposte efficaci nel caso di possibili contaminazioni. Il dragaggio risulta un'attività essenziale per la fruibilità dei porti, ma può essere anche finalizzato alla bonifica di ambienti fortemente inquinati e industrializzati. Le quantità dei materiali dragati sono nell'ordine dei milioni di metri cubi, quindi diventa indispensabile la valutazione della qualità dei sedimenti dragati in funzione della destinazione finale del materiale. Le possibili vie di riutilizzo di tale sedimento sono molteplici, ma le più frequenti sono le opere civili (ricostruzione o ripascimento di litorali erosi, apporto di materiali addensanti per costruire terrapieni, banchine, stoccaggio in vasche di colmata o altri ambienti conterminati).

Per quanto concerne la problematica dello smaltimento dei materiali dragati, fino a tempi recenti la metodologia privilegiata è stata quella dell'immersione in mare. Successivamente l'indicazione fornita dall'articolo 35 del D.Lgs. 152/2006 è stata quella di considerare il materiale di risulta una risorsa da recuperare. Diventa perciò premessa indispensabile per una corretta gestione del materiale dragato una dettagliata conoscenza delle sue caratteristiche chimiche, fisiche e ecotossicologiche.

L'attività di stage ha avuto come scopo l'approfondimento del metodo del Mussel Watch, affiancato ai più classici saggi di tossicità, al fine di valutare la qualità dei sedimenti dragati e fornendo quindi un valido strumento per il monitoraggio delle attività di dragaggio portuali.

Lo stage è stato svolto nell'ambito delle attività di monitoraggio ambientale delle attività di dragaggio dei fondali portuali di Catania, connesse alla realizzazione della darsena commerciale ed all'immersione in mare dei materiali di risulta.

Il monitoraggio ha riguardato diversi aspetti: l'analisi della qualità della colonna d'acqua nell'area portuale, il prelievo di sedimenti superficiali, la valutazione della qualità dei sedimenti da dragare attraverso saggi ecotossicologici e analisi chimiche.

Per quanto riguarda la qualità della colonna d'acqua per i parametri chimici nelle aree immediatamente circostanti il dragaggio, sono state programmate diverse campagne di Mussel Watch, utilizzando organismi trapiantati (posizionati *in situ* per circa un mese) e stanziali.

Le campagne sono state previste:

- prima dell'avvio delle operazioni di dragaggio (fase di bianco);
- durante le operazioni di dragaggio;
- al termine degli interventi di dragaggio.

L'attività di stage si è concentrata sulle due campagne relative alla fase di bianco.

METODOLOGIA

- Bioaccumulo di metalli

L'impiego dei molluschi bivalvi per il monitoraggio della contaminazione chimica degli ambienti costieri è utilizzato da decenni sia negli Stati Uniti sia in numerosi Paesi europei in programmi internazionali di Mussel Watch.

La specie scelta come bioindicatore deve essere caratterizzata dalla mancanza di meccanismi biochimici o fisiologici in grado di regolare le concentrazioni tissutali dei contaminanti ma allo stesso tempo deve possedere caratteristiche biologiche che la rendano idonea a questo scopo, nel caso specifico la attiva filtrazione dei bivalvi; in questo modo, infatti, l'organismo concentra queste sostanze nei propri tessuti in maniera proporzionale al loro livello ambientale.

I principali vantaggi offerti da un programma di monitoraggio condotto mediante l'utilizzo di Mussel Watch si possono riassumere nei seguenti punti:

- valutazione del grado di contaminazione dell'area costiera secondo una misura "integrata nel tempo" e non riferibile, quindi, al solo momento in cui è stato effettuato il prelievo;
- possibilità di evidenziare facilmente gradienti di inquinamento sia in senso spaziale che temporale, nonché di effettuare confronti tra aree geograficamente distanti;
- stima della "biodisponibilità" delle sostanze tossiche presenti nell'ambiente marino e valutazione del rischio legato al trasferimento di questi elementi attraverso la catena alimentare;
- basso costo e facilità di manipolazione degli organismi.

La specie sicuramente più utilizzata a livello mondiale per questo tipo di studi è il mitilo comune, per il quale la letteratura internazionale offre numerosi dati di riferimento ed indicazioni sulle principali variabili biologiche da considerare nell'interpretazione dei dati. Pertanto, nel programma di monitoraggio effettuato è stato utilizzato il mitilo mediterraneo *Mytilus galloprovincialis*.

- Piano di campionamento

Le stazioni scelte sono indicate nella Tavola 1. Come si può osservare, le stazioni seguono una logica interno-esterno del porto, in modo da evidenziare eventuali contaminazioni delle aree progressivamente più esterne rispetto alla zona che verrà dragata. È presente anche una stazione di bianco, posizionata all'esterno della diga foranea (MCT 1). Le due campagne di bianco si sono svolte tra Gennaio e Marzo 2011: la prima deposizione è avvenuta a Gennaio 2011, la seconda

campagna di bianco è stata effettuata a Febbraio, in concomitanza con il prelievo dei mitili precedentemente trapiantati. A Marzo infine si è proceduto con l'ultimo ritiro.



Fig.1 - Stazioni di campionamento Mussel Watch porto di Catania

- Materiali e Metodi

L'indagine di monitoraggio è stata effettuata secondo la tecnica degli organismi trapiantati. I mitili sono stati raccolti da una popolazione proveniente da un sito di allevamento (Siracusa) e traslocati, senza alcuna stabulazione, per un periodo di 4-5 settimane nelle aree da monitorare (stazioni MCT 1, MCT 2, MCT 3, MCT 4). Al momento del trapianto sono stati prelevati 3 pools dalla popolazione allevata per analizzare il T_0 , necessario per valutare l'entità del bioaccumulo.

Sono stati trapiantati circa 200-300 individui di taglia omogenea (5-7 cm) approssimativamente compresa tra il 70 ed il 90% delle dimensioni massime della popolazione da cui sono stati raccolti.

Il trapianto è stato effettuato mantenendo gli organismi in reti di nylon o strutture plastiche fissate nella stazione da monitorare, ad una profondità compresa tra 1 e 5 m e ad almeno un metro dal fondo. Trascorso il periodo *in situ*, i mitili sono stati recuperati, mantenuti refrigerati a circa 4°C in ambiente umido (ma non immersi in acqua) fino ad un massimo di 24 ore. I tessuti molli dei mitili selezionati sono stati prelevati, lavati con acqua ultrapura e congelati a -20°C fino al momento dell'analisi. Nel caso della prima campagna, a Febbraio non è stata ritrovata nessuna delle stazioni

posizionate a Gennaio; si è quindi proceduto al prelievo di pools della popolazione naturale. Per quanto riguarda i mitili depositi nella seconda campagna di bianco, a Marzo sono state ritrovate solo due stazioni su quattro; anche in questo caso sono stati prelevati organismi della popolazione naturale, ove possibile (in un solo caso).

- Determinazione dei metalli in traccia

Per ogni stazione sono stati selezionati 3 pools ognuno contenente dieci individui della classe di taglia prescelta.

I tessuti molli dei mitili selezionati sono stati essiccati in stufa a 65 °C e successivamente polverizzati in mortaio. Il metodo di analisi ha previsto la mineralizzazione dei tessuti con HNO₃ (5 ml) al 65% , H₂O₂ (1 ml) al 40% + H₂O U.P. (circa 2 ml) e digestione mediante un sistema chiuso a microonde a bassa pressione opportunamente programmato.

I metalli in traccia determinati sui tessuti molli di *Mytilus galloprovincialis* sono stati Cd e Ni, basandosi sulle precedenti analisi chimiche dei sedimenti che evidenziavano tali criticità. La determinazione è avvenuta mediante spettrometria ad assorbimento atomico in fornetto di grafite (Varian Spectra AA 200 Z). L'accuratezza è stata verificata impiegando il materiale certificato di riferimento ERM-CE278 Mussel Tissue (Community Bureau of Reference), che è stato processato con le stesse modalità dei campioni.

RISULTATI

La Tabella 1 mostra la sintesi dei risultati relativi alla prima campagna (Gennaio- Febbraio 2011). I dati risultano incompleti a causa della scomparsa dolosa delle stazioni trapiantate. Non è quindi possibile fare valutazioni relative al bioaccumulo. È però possibile fare un confronto fra le concentrazioni riscontrate nei pools della popolazione naturale prelevati a Febbraio e quelli prelevati a Marzo (Tab. 2). Come si può osservare nel grafico (Fig.2), si è assistito a una importante diminuzione della concentrazione di Ni; nel caso in cui i mitili trapiantati fossero stati ritrovati, si sarebbe dovuto considerare questo dato nell'analisi del bioaccumulo .

Tab. 1 Sintesi dei risultati relativi al T₀ della prima campagna di bianco (Gennaio 2011) e al T₀ della seconda campagna (Febbraio 2011)

	Cd (ppm)	Ni (ppm)
CT T0 1° trap. (gennaio 2011)	0.60	3.31
MCT T0 (Febbraio '11)	0.39	3.08
MCT 2 NAT	0.90	4.13
MCT 3 NAT	0.77	3.30
MCT 4 NAT	0.73	3.46

Tab. 2 Confronto fra le concentrazioni di Cd e Ni relative ai mitili naturali prelevati a Febbraio e quelli prelevati a Marzo.

	Cd (ppm)	Ni (ppm)
MCT2 NAT (feb'11)	0.897	4.13
MCT2 NAT (marzo'11)	0.894	1.7

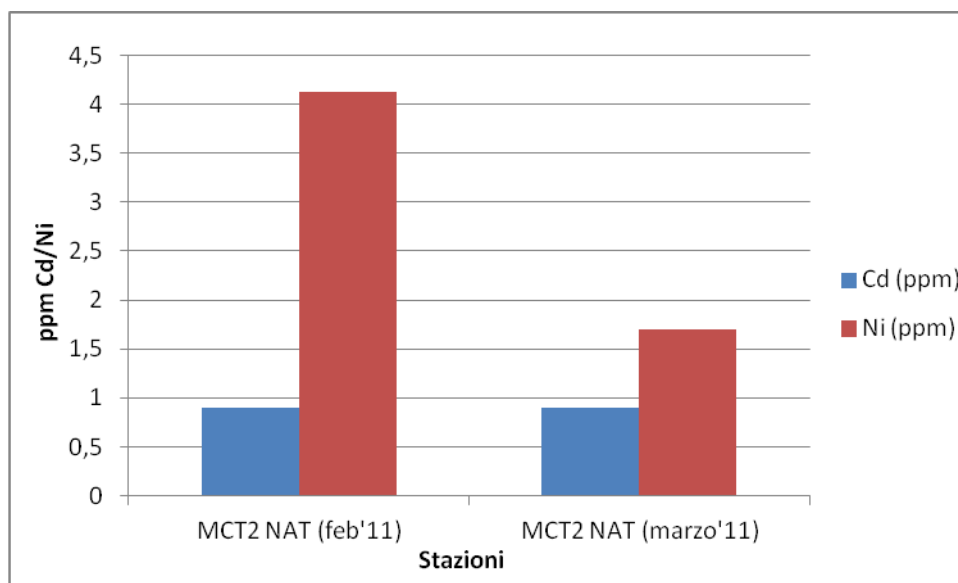


Fig. 2 Confronto grafico fra le concentrazioni di Cd e Ni riscontrate nelle popolazioni naturali tra Febbraio e Marzo 2011

Per quanto riguarda invece la seconda campagna di bianco, è stato possibile valutare parzialmente l'entità del bioaccumulo, in quanto sono state ritrovate due delle quattro stazioni di organismi trapiantati (MCT3 TRAP, MCT 4 TRAP). In questo caso si possono evidenziare due differenti situazioni: per il Cd si assiste a un fenomeno di bioaccumulo abbastanza importante, mentre per quanto riguarda il Ni, paradossalmente il T₀ relativo ai mitili prelevati dalla mitilicoltura di Siracusa

presenta una concentrazione molto più alta degli organismi trapiantati nell'area del porto per un mese. Questo livello basale elevato, potrebbe essere valutato come una possibile contaminazione relativa a questo elemento nel sito di allevamento.

Tab. 3 Sintesi dei risultati relativi al T₀ della seconda campagna di bianco (Febbraio) e ai trapiantati di Febbraio (MCT 3 TRAP, MCT4 TRAP)

	Cd (ppm)	Ni (ppm)
MCT T0 (feb'11)	0.39	3.08
MCT3 TRAP	0.994	0.61
MCT4 TRAP	0.982	0.225

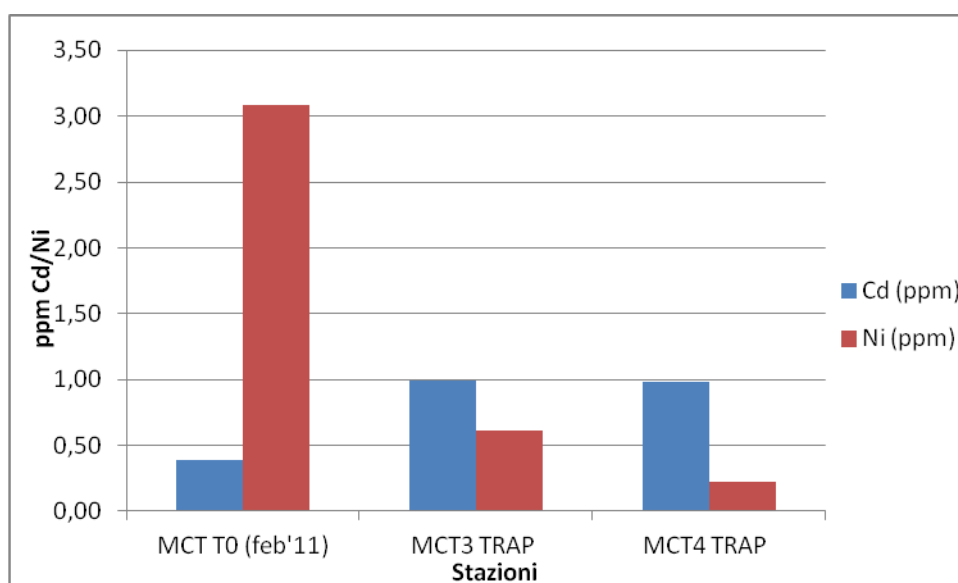


Fig. 3 Rappresentazione grafica dell'entità del bioaccumulo nei mitili trapiantati (stazioni MCT3 TRAP, MCT4 TRAP) rispetto al T₀

CONCLUSIONI

L'esperienza effettuata durante lo stage ha fornito alla candidata la conoscenza di una metodologia di analisi, applicabile a diversi contesti di criticità ambientale. L'analisi della contaminazione del comparto acqua negli studi di monitoraggio nell'ambito della movimentazione di sedimenti è un aspetto di fondamentale importanza nel contenimento dell'inquinamento costiero. A tale scopo l'utilizzo di organismi bioindicatori come *M. galloprovincialis* può rappresentare un approccio che valuti sia la risospensione degli inquinanti dovuta alle operazioni di dragaggio sia la loro la biodisponibilità. I dati ottenibili da tale approccio rappresentano un'utile integrazione delle analisi chimiche effettuate sui sedimenti e contribuiscono in maniera significativa all'identificazione della giusta strategia di monitoraggio da attuare nel singolo caso di studio. Per le ricerche future, sarebbe

interessante approfondire lo studio della compartimentazione preferenziale dei vari contaminanti nei diversi tessuti del mitilo; ciò consentirebbe di ridurre al minimo l'effetto diluizione di tessuti non coinvolti nel bioaccumulo (come ad esempio il tessuto gonadico).

BIBLIOGRAFIA

AAVV, (2006). *Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini*. ICRAM APAT

Andral, B., Stanisiere, J.Y., Sauzade, D., Damier, E., Thebault, H., Galgani, F., Boissery, P., 2004. *Monitoring chemical contamination levels in the Mediterranean based on the use of mussel caging*. Mar. Pollut. Bull. 49, 704–712.

Angelidis, M.O., Catsiki, V.A., 2002. Metal

Bayne, B.L., Brown, D.A., Burns, K., Dixon, D.R., Ivanovici, A., Livingstone, D.R., Lowe, D.M., Moore, M.N., Stebbing, A.R.D., Widdows, J. (1985). *The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals*. Praeger, New York.

Bocchetti R., Fattorini D., Pisanelli B., Macchia S., Oliviero L., Pilato F., Benedetti M., Gorbi S., Notti A., Pellegrini D., Regoli R. (2007). *Valutazione eco tossicologica delle attività di dragaggio nelle aree portuali*. Biol. Mar. Mediterr. 14 (1): 101-105

Boisson F., Cotret O., Fowler Scott W. (1998). *Bioaccumulation and retention of lead in the mussel Mytilus galloprovincialis following uptake from seawater*. Elsevier Science 222: 55-61

Cajaraville M.P., Robledo Y., Etxeberria M., Marigomez I. (1995). *Cellular biomarkers as useful tools in the biological monitoring of environmental pollution: molluscan digestive lysosomes*. In: Cajaraville M.P. (Ed.). Cell Biology In Environmental Toxicology. University of Basque Country Press Service, Biblio: 29-55.

Casas S., Bacher C. (2006). *Modelling trace metals (Hg and Pb) bioaccumulation in the Mediterranean mussel, Mytilus galloprovincialis, applied to environmental monitoring*. Elsevier. Journal of Sea Research 56: 168-181

Depledge M.H. (1994). *The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools*. In Fossi M.C. e Leonzio C.: *Nondestructive biomarkers in Vertebrates*. Lewis Publishers, CRC Press, US: 271-295.

Gosling E. M., (1984). *The systematic status of Mytilus galloprovincialis in western Europe: a review*. Malacologia, **25**: 551-568

Mengoli A., (1998). *Aspetti morfo-funzionali dei mitili*. Asl Ferrara

Pellegrini D., Onorati F., Lamberti C., Merico G., Gabellini M., Ausili A., (2002). *Aspetti tecnico-scientifici per la salvaguardia ambientale nelle attività di movimentazione dei fondali marini: dragaggi portuali*. ICRAM.

Regoli F., Orlando E., (1994). *Seasonal variation of trace metal concentrations in the digestive gland of the Mediterranean mussel Mytilus galloprovincialis: comparison between a polluted and a non-polluted site*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., **27**: 36-43.

