

APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE PER LA VALUTAZIONE DELLO STATO DI SALUTE DELLE COSTE FLEGREE

Giuseppe Aiello¹, Diana Barra¹, Salvatore De Bonis², Marco Guida², Roberta Parisi¹,
Maria Toscanesi³, Marco Trifuoggi³

¹Dipartimento di Scienze della Terra, Università degli Studi di Napoli Federico II,
L.go San Marcellino, 10 - 80138 Napoli, Italia, Tel. 081 2538133, e-mail: roberta.parisi@unina.it

²Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi di Napoli Federico II,
Via Cinthia ed. 7 - 80126 Napoli, Italia

³Dipartimento di Scienze Chimiche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Via Cinthia, 21 -
80126 Napoli, Italia

Riassunto – La Campania è la regione italiana con la percentuale più alta di coste inquinate, su 512 km di litorali, circa 80 risultano fortemente degradati e con livelli di inquinamento tali da rendere i parametri delle acque inadatti alla balneazione e ad altre attività economiche. La caratterizzazione dei sedimenti può giocare un ruolo importante nella valutazione dello stato di alterazione di un sistema complesso come quello costiero. Viene qui utilizzato un approccio multidisciplinare che ha interessato sedimenti marini del litorale di Pozzuoli associando alle analisi chimiche ed ecotossicologiche lo studio tassonomico ed ecologico di due gruppi sistematici della bentofauna presente: gli ostracodi (Crustacea) e i foraminiferi bentonici (Protista). I test ecotossicologici sono stati effettuati utilizzando tre diversi bioindicatori: *Vibrio fischeri* (Bacteria), *Dunaliella tertiolecta* (Clorophyta) e *Artemia salina* (Crustacea). Le analisi chimiche sono state mirate alla determinazione della concentrazione di IPA (Idrocarburi Policiclici Aromatici) e degli elementi presenti in tracce. L'integrazione dei dati, acquisiti con le diverse metodologie, ha permesso di ottenere una visione più completa dell'impatto delle attività antropiche su di un sistema naturale.

Abstract – The sea waters of the Campania region are the most extensively polluted among the Italian coastal areas. On a total of 512 km of coastline about 80 km show severe water quality deterioration with pollution parameters exceeding the required values for bathing and other economic activities water quality. Bottom sediment analysis may play an important role in the evaluation of the health state of a complex system such as the coastal environment. A multidisciplinary approach is used herein to detect the Pozzuoli coastal waters quality combining chemical and ecotoxicological analysis of the sediments with the systematic and ecological study of ostracod (Crustacea) and benthic foraminifer (Protista) assemblages. Biomarkers selected for eco-toxicological analysis are: *Vibrio fischeri* (bioluminescent Bacteria), *Dunaliella tertiolecta* (Clorophyta, unicellular green algae) and *Artemia salina* (Crustacea). Chemical analysis measured the concentration of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) and trace elements in bottom sediments. The different approaches here described provide more complete data on effects of human activities on natural systems.

Introduzione

L'incremento dell'urbanizzazione, dello sviluppo industriale e commerciale che ha interessato le aree costiere campane negli ultimi due secoli ha apportato considerevoli cambiamenti negli ecosistemi naturali. L'area di studio, il Golfo di Pozzuoli, presenta un deterioramento che si può ascrivere all'insieme di queste diverse fonti d'inquinamento, interessando particolarmente l'area marina prossima alla costa. Il fondale marino è il principale ricettore di sostanze inquinanti quali metalli pesanti, IPA, PCB, ed essendo i sedimenti più conservativi della fase acquosa, è indispensabile un'analisi di questi per una corretta valutazione ambientale.

Pozzuoli, maggior centro abitato incluso nel sistema vulcano-tettonico dei Campi Flegrei (Fig. 1), ha visto l'insediamento di fabbriche lungo l'intera linea di costa, a partire dalla prima industria meccanica, la Armstrong, insediata nel 1865. Ansaldo, Microlambda, Sofer, Pirelli hanno ulteriormente sviluppato le attività siderurgiche e metallurgiche dell'area fino al 1993, anno in cui ha inizio il decremento della produzione industriale che è virtualmente cessato dieci anni dopo. Tale declino ha tuttavia coinciso con un aumento delle attività commerciali, turistiche e del traffico portuale, che ha determinato un incremento della diversità di sostanze inquinanti presenti.

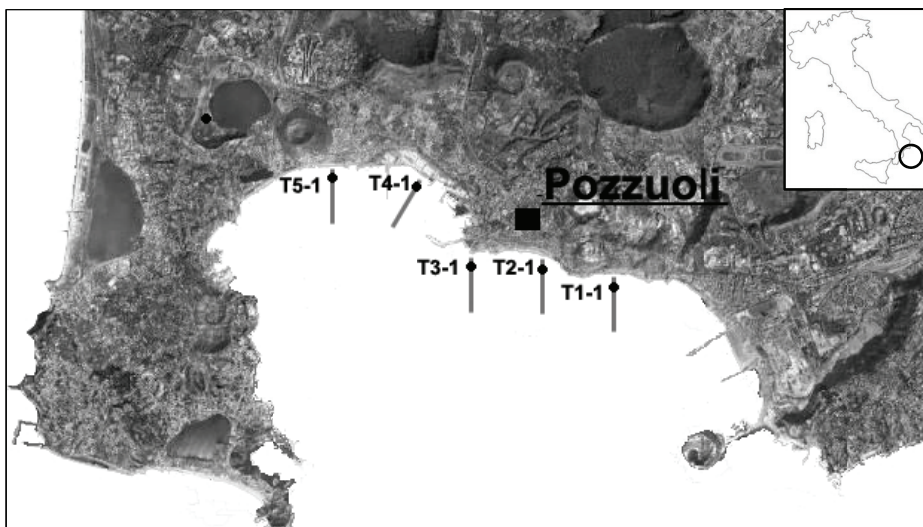


Figura 1 – Area di studio, transesti e punti campionati.

Figure 1 – Location map of the study area, showing transects and sampling stations.

La valutazione della qualità dei sedimenti si presenta complessa sia per la molteplicità di inquinanti sia per i numerosi parametri sito-specifici in gioco, quali caratteristiche chimico-fisiche dei sedimenti (granulometria, pH, potenziale redox, deposizione, erosione e compattazione), cinetiche di assorbimento, biodisponibilità e bioturbazione [5]. La tossicità dei contaminanti al fondo dipende dal tipo di legame con il

sedimento nonché dall'eventualità di effetti sinergici tra diversi contaminanti [4; 8; 16]. Di conseguenza, alte concentrazioni di elementi o composti tossici non si traducono sempre o immediatamente in effetti avversi per l'ecosistema.

Un'analisi preliminare dell'area flegrea è stata effettuata seguendo un approccio multidisciplinare: chimico, biologico ed ecologico. Metodologie analoghe sono state proposte e sviluppate in diverse aree degli Stati Uniti [15; 6], dove a test chimici ed ecotossicologici sono stati affiancati studi sulle strutture delle comunità bentoniche infaunali. Nel presente studio sono state analizzate due componenti del meiobenthos: ostracodi (crostacei) e foraminiferi bentonici (protisti). Entrambi i taxa si sono rivelati un utile strumento per il monitoraggio dell'inquinamento antropico [13; 17]. In special modo la presenza di elementi carbonatici secreti dagli organismi (rispettivamente carapaci e gusci) che permangono nei sedimenti, consente l'esame post-mortem di associazioni subrecenti [3; 18].

Materiali e metodi

Durante la fase di campionamento effettuata nel maggio del 2010, sono stati prelevati 19 campioni di sedimenti marini lungo 5 transetti del litorale di Pozzuoli, con profondità compresa tra 2,5 e 35 metri e una distanza dalla costa compresa tra 65 e 943 m. In questo studio si riportano i risultati preliminari relativi al primo campione di ciascun transetto (Fig. 1, Tab. 1).

Tabella 1 – Coordinate, profondità, distanza dalla costa e granulometria dei campioni studiati. SF: sabbie fini; SM: sabbie medie; SG: sabbie grossolane.

Table 1 – Coordinates, depth, distance from the coastline and granulometry of the studied samples. SF: fine sand; SM: medium sand; SG: coarse sand.

Campione	Latitudine N	Longitudine E	Profondità (m)	Distanza dalla costa (m)	Granulometria
T 1 - 1	40° 49' 0.32"	14° 9' 0.42"	2.5	65	SF
T 2 - 1	40° 49' 1.83"	14° 7' 8.62"	5	87	SF
T 3 - 1	40° 49' 8.76"	14° 7' 11.47"	3.5	101	SG
T 4 - 1	40° 49' 42.59"	14° 6' 38.72"	4	124	SM
T 5 - 1	40° 49' 48.06"	14° 5' 35.35"	3	90	SM

Sono stati prelevati manualmente, tramite cilindri di plastica rigida, i primi 5 cm di substrato. Ogni campione è stato suddiviso in 3 sub-campioni, trattati e conservati in relazione alle differenti metodologie applicate.

Per la determinazione di metalli pesanti e degli elementi in tracce, i sedimenti sono stati sottoposti a digestione acida ossidativa mediante acido nitrico e acqua ossigenata ad alta temperatura e pressione, assistita da microonde [9]. La determinazione qualitativa è stata effettuata mediante analisi di ionizzazione al plasma accoppiato induttivamente e rivelazione con spettrometria di massa, ICP-MS [11]. Sono state determinate le concentrazioni di Al, Ag, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Tl, Zn, e V. La

determinazione dei 16 IPA (Idrocarburi Policiclici Aromatici) previsti dall'EPA (Environmental Protection Agency) è stata effettuata mediante estrazione con un opportuno solvente organico sotto agitazione magnetica, seguita da trattamento con ultrasuoni [10], quindi analisi quali-quantitativa mediante cromatografia liquida ad elevate prestazioni (HPLC) e rivelazione sia spettrofotometrica UV-Vis, sia spettrofluorimetrica [12].

Una batteria di test ecotossicologici è stata effettuata per ogni campione, utilizzando 3 bioindicatori differenti: *Vibrio fischeri*, *Artemia salina* e *Dunaliella tertiolecta*. Tutti i saggi sono stati svolti utilizzando l'elutriato, ottenuto mediante agitazione del sedimento umido tal quale sospeso con acqua di mare sintetica in rapporto 1:4 (peso sedimento / volume d'acqua). La prova di tossicità con *V. fischeri* consente di verificare, mediante luminometro, l'inibizione della bioluminescenza naturalmente emessa da una popolazione monospecifica di cellule di batteri Gram-negativi appartenenti alla specie dopo un tempo di contatto di 5 e 15 minuti con il campione in esame (ISO 11348-3:2007). La prova di tossicità acuta con *D. tertiolecta* consiste nel determinare l'inibizione della crescita di cellule algali in terreni di coltura con il campione da analizzare in relazione ad una coltura di controllo (ISO 10253:2006). Il test con *A. salina* consente di valutare la tossicità del campione utilizzando l'immobilizzazione del crostaceo come risposta. Naupli schiusi da cisti durature e allo stadio larvale II-III sono stati utilizzati per un saggio a 24-48 ore (IRSA CNR: 8060:1994).

Per lo studio delle faune a ostracodi e foraminiferi bentonici i sedimenti sono stati essiccati in stufa a 60 °C e pesati; 200 g di peso secco di ogni campione sono stati setacciati a 120 e 230 mesh e suddivisi in frazioni, tramite microsplitter, per la raccolta di circa 300 esemplari per ogni taxa. Per ogni campione è stata effettuata un'analisi quantitativa di entrambi i gruppi sistematici.

Risultati

Le analisi chimiche mostrano alte concentrazioni di IPA e metalli quali Cr, Co, Zn, Pb, V, Cd, Fe, Mn. Tali valori sono stati confrontati con le linee guida di regolamentazione per il monitoraggio di zone marine costiere italiane (D.M. 367/03). Solo per il Pb e il Cd si osserva il superamento dei valori guida.

Tabella 2 – Valori della concentrazione totale degli idrocarburi policiclici aromatici (TotPHAs) e di alcuni metalli significativi.

Table 2 – Total IPA (TotPHAs) and main metals concentration values.

Campioni	TotPHAs mg/kg s.s.	Cr mg/kg s.s.	Co mg/kg s.s.	Cd mg/kg s.s.	Pb mg/kg s.s.	Mn mg/kg s.s.	Fe mg/kg s.s.	Zn mg/kg s.s.
T 1-1	1.7	18.8	2.8	< 0,1	50.4	2968	21790	69.2
T 2-1	13.5	7.4	3.1	3.4	43.2	1554	19667	< 0,1
T 3-1	< 0,1	< 0,1	1.5	2.3	28.6	831	9597	61.1
T 4-1	< 0,1	< 0,1	2.7	4.5	28.4	284	13192	75.8
T 5-1	1.9	< 0,1	1.8	1.1	34.8	189	10538	92.7

I test ecotossicologici mostrano una diversa sensibilità degli organismi bioindicatori utilizzati. Per il test con *V. fischeri* si considerano significativi i risultati che si discostano dal controllo per il 20%, quindi valori positivi al di sopra del 20 % indicano una inibizione della bioluminescenza; al contrario, valori negativi al di sotto del 20 % indicano biostimolazione della bioluminescenza. Il campione T1-1 presenta il fenomeno dell'ormesi; per i campioni T2-1 e T3-1 non si rileva nessun effetto, il campione T4-1 risulta lievemente tossico e il campione T5-1 ha i valori più alti di tossicità. Per il test con *D. tertiolecta* si hanno valori negativi quando la densità cellulare del campione supera in misura significativa quella del controllo e ciò si traduce in un effetto stimolante da parte del campione (effetto eutrofizzante); tale effetto si riscontra in tutti i campioni, ma solo in T1-1 e T4-1 è significativo. Per quanto riguarda *A. salina* non si rilevano effetti significativi, tranne una lieve tossicità per il campione T4-1 a 48 h.

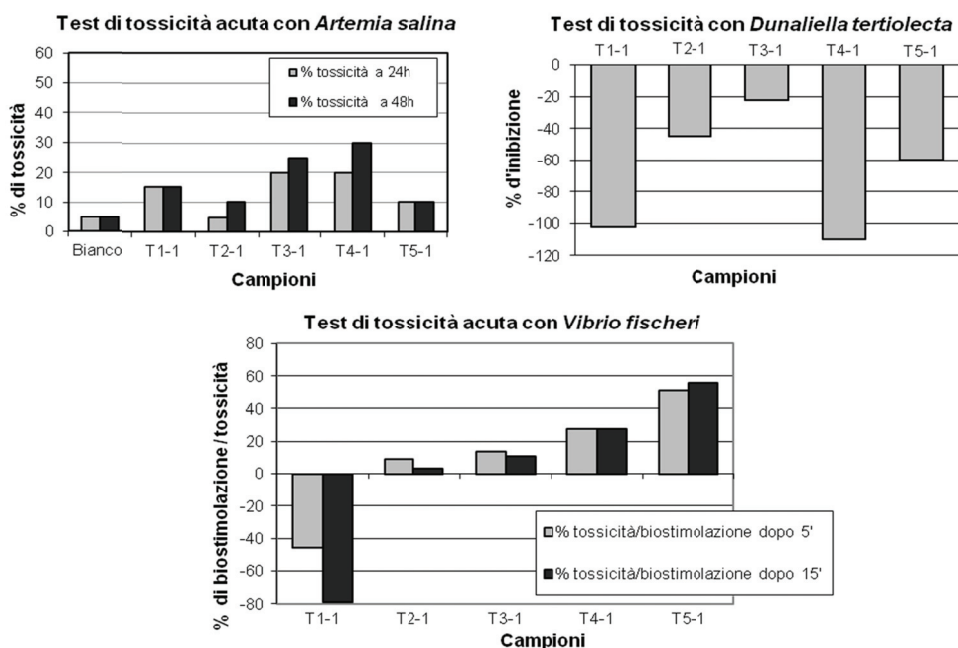


Figura 2 – Risultati dei saggi con i tre bioindicatori utilizzati.

Figure 2 – Results of the bioassay.

Lo studio delle associazioni bentoniche mostra una diversità semplice (numero di specie) che varia tra 9 e 39 specie per gli ostracodi e tra 38 e 71 per i foraminiferi bentonici. L'abbondanza varia, rispettivamente per i due gruppi, tra 26 e 52,5 e tra 362 e 848 individui per 100 grammi di sedimento. L'identificazione delle specie si è basata sulla letteratura classica e recente di ostracodi e foraminiferi bentonici del Mediterraneo [1; 7; 14; 19]. L'associazione a ostracodi, per i 5 campioni esaminati, include 46 specie ripartite in 28 generi. I generi maggiormente rappresentati sono *Semicytherura* (6 specie) e *Xestoleberis*

(3 specie) e le specie più abbondanti sono *Urocythereis margaritifera* e *Procytherideis retifera* seguite da *Aurila convexa*, *Loxoconcha affinis*, *Pontocythere turbida* e *Loxoconcha stellifera*. I foraminiferi bentonici sono rappresentati da 92 specie appartenenti a 36 generi. L'associazione è dominata da miliolidi (7 generi e 41 specie) e dal genere *Elphidium* (13 specie). *Elphidium aculeatum*, *Siphonaperta aspera* e *Lobatula lobatula* sono le specie più abbondanti. Comuni, inoltre, *Ammonia parkinsoniana*, *Miliolinella semicostata*, *M. subrotunda*, *Peneroplis pertusus*, *Quinqueloculina seminulum* e, in subordine, *Buccella granulata*, *Tretomphalus concinnus*, *Cycloforina contorta*, *Elphidium punctatum*, *Adelosina longirostra* e *Quinqueloculina ungeriana*.

Tabella 2 – Abbondanza e ricchezza specifica per le associazioni a ostracodi e foraminiferi bentonici.

Table 2 – Ostracod and benthic foraminifer abundance and species richness.

Campioni	Abbondanza ostracodi x 100g	N° specie ostracodi	Abbondanza foraminiferi x 100g	N° specie foraminiferi
T 1-1	26	15	426	43
T 2-1	26	9	848	38
T 3-1	52,5	39	668	71
T 4-1	48	10	485	52
T 5-1	27	9	362	47

Discussione

L'osservazione dei dati ottenuti con i tre differenti approcci ha mostrato una corrispondenza significativa per il campione T3-1: le elevate abbondanza e diversità delle associazioni meiobentoniche sono associate a valori relativamente bassi di metalli pesanti e assenza di IPA. I test ecotossicologici non presentano valori di tossicità rilevanti. Nel campione T2-1, dove si riscontrano elevate concentrazioni di Cd, Pb e IPA, si hanno valori minimi di diversità sia per gli ostracodi che per i foraminiferi. I campioni T4-1 e T5-1 presentano un grado di tossicità rispettivamente medio ed elevato per il test con *V. fischeri* (nel T4-1 un grado di tossicità lieve anche per *A. salina*) e la concentrazione di Zn, Pb e Cd è elevata (per T5-1 anche di IPA). In questi due campioni gli ostracodi mostrano una bassa diversità con una netta dominanza di due specie, *Semicytherura simplex* e *U. margaritifera*, che costituiscono il 79-74 % dell'associazione. Il test con *D. tertiolecta* mostra un elevato livello di eutrofizzazione in particolare per due campioni: T4-1 e T1-1, quest'ultimo, che risulta biostimolato anche per il test con *V. fischeri*, è situato a 2,5 m dalla costa ed è probabilmente il più soggetto alla contaminazione da parte di apporti antropici. Nel campione T1-1 la concentrazione di IPA e metalli (ad eccezione del Cd) è elevata e la diversità semplice di foraminiferi bentonici e ostracodi è bassa. Va notato che generalmente i fondali marini a granulometria sottile, connessi a una bassa energia cinetica, restituiscono meiofaune più ricche rispetto a quelli formati da sabbie grossolane (i.e. [2]). Nel caso presente la normale relazione tra granulometria e ricchezza delle associazioni non è

rispettata. I sedimenti più grossolani (campione T3-1) sono quelli che ritengono in misura minore gli apporti inquinanti, mentre in quelli più sottili (T2-1) l'accumulo di metalli pesanti e IPA sembrerebbe causare un impoverimento delle associazioni.

Conclusioni

L'analisi di cinque campioni prossimi alla costa del Golfo di Pozzuoli ha permesso di evidenziare delle relazioni significative tra le componenti chimiche, biologiche ed ecologiche. I risultati ottenuti, che vanno intesi come preliminari a studi più estesi, sembrano indicare una marcata influenza degli apporti antropici sugli equilibri delle condizioni ecologiche alla scala considerata, propria del meiobenthos. Al momento la correlazione più evidente sembra essere quella tra la persistenza di Cd, Pb e IPA e deterioramento delle condizioni di vita per gli organismi che popolano il substrato. I sistemi analitici multidisciplinari sperimentati andranno validati attraverso il confronto con dati ottenuti in ambienti caratterizzati da diversi parametri chimico-fisici, che forniscano un riferimento di base per una misura più affidabile del grado di alterazione riscontrata.

Bibliografia

- [1] Aiello G., Barra D. - *Crustacea, Ostracoda*, Biol. Mar. Mediterr. (2010) 17 (1), 401-419.
- [2] Aiello G., Barra D., Coppa M.G., Valente A., Zeni F. - *Recent infralittoral Foraminiferida and Ostracoda from the Porto Cesareo Lagoon (Ionian Sea, Mediterranean)*, Boll. Soc. Paleont. Ital. (2006) 45 (1), 1-14.
- [3] Alvarez Zarikian C. A., Blackwelder P. L., Hood T., Nelsen T. A., Featherstone C. - *Ostracods as indicators of natural and anthropogenically - induced changes in coastal marine environments*, Proceedings of the 17th International Conference of the Coastal Society. Coasts at the Millenium, Portland. (2000) 896-905.
- [4] Bloundi M. K., Duplay J., Quaranta G. - *Heavy metal contamination of coastal lagoon sediments by anthropogenic activities: the case of Nador (East Morocco)*, Environ. Geol. (2009) 56, 833-843.
- [5] Chapman P. M., Mann G. S. - *Sediment quality values (SQVs) and ecological risk assessment (ERA)*, Mar. Poll. Bull. (1999) 38, 339-344.
- [6] Chapman P., Anderson B., Carr S., Engle V., Green R., Hameedi J., Harmon M. Haverland P., Hyland J., Ingersoll C., Long E., Rodgers J. Jr, Salazar M., Simbley P. K., Smith P. J., Swartz R. C., Thompson B., Windom H. - *General Guidelines for using the Sediment Quality Triad*, Mar. Poll. Bull. (1997) 34 (6), 368-372.
- [7] Cimerman F., Langer M. R. - *Mediterranean Foraminifera*, Acad. Scient. Art. Slov. (1991) 30, 1-118.
- [8] Di Toro D. M., Mahony J. D., Hansen D. J., Scott K. J., Hicks M. B., Mayr S. M., Redmond M. S. - *Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulfide*, Environ. Toxicol. and Chem. (1990) 9, 1487-1502.
- [9] EPA Method 3052 - *"Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices"*, Dicembre, 1996.

- [10] EPA Method 3550C - “ *Ultrasuonic extraction*”, Febbraio, 2007.
- [11] EPA Method 6020A - “ *Inductively coupled plasma – mass spectrometry*”, Febbraio, 2007.
- [12] EPA Method 8310 - “ *Polinuclear Aromatic Hydrocarbons*”, Settembre, 1986.
- [13] Frontalini F., Coccioni R. - *Benthic foraminifera as bioindicators of pollution: A review of Italian research over the last three decades*, Rev. Micropal. (2011) 54, 2-115.
- [14] Jorissen F. J. - *Benthic foraminifera from the Adriatic Sea; Principles of phenotypic variation*, Utr. Micropal. Bull. (1988) 37, 1-176.
- [15] Long E. R., Chapman P. M. - *A Sediment Quality Triad: measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition in Puget Sound*, Mar. Pollut. Bull. (1985) 16, 405-415.
- [16] Millward R. N., Carman K. R., Fleege J. W., Gambrell R. P., Portier, R. - *Mixtures of metals hydrocarbons elicit complex responses by a benthic invertebrate community*, J. Exp. Mar. Biol. Ecol. (2004) 310, 115-130.
- [17] Ruiz F., Gonzalez-Regalado M. L., Baceta J. I., Pendon J. G. - *Comparative ecological analysis of the ostracod faunas from low- and high-polluted southwestern Spanish estuaries: a multivariate approach*, Mar. Micropal (2000) 40, 345-376.
- [18] Ruiz F., Abad M., Bodergat A.M., Carbonel P., Rodriguez-Lazaro J., Yasuhara M. - *Marine and brackish-water ostracods as sentinels of anthropogenic impacts*, Earth Sci. Rev. (2005) 72, 89-111.
- [19] Sgarrella F., Moncharmont Zei M. - *Benthic Foraminifera of the Gulf of Naples (Italy): systematics and autoecology*, Boll. Soc. Pal. Ital. (1993) 32 (2), 145-264.