

D. MARCHETTO, A. ARIZZI NOVELLI, G. LIBRALATO, C. LOSSO,
A. ORRÙ¹, C. PANTANI², A. VOLPI GHIRARDINI

Dip. di Scienze Ambientali, Università Ca' Foscari, Campo della Celestia, 2737/b - 30122 Venezia, Italia.
voghi@unive.it

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffì",
Via Duca degli Abruzzi, 8 - 07100 Sassari, Italia.

²Dip. di Scienze Ambientali, Università de L'Aquila, Località Coppito - 67100 L'Aquila, Italia.

APPLICAZIONE DI UNA BATTERIA DI SAGGI ECOTOSSICOLOGICI PER LA VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DEI SEDIMENTI DELL'AREA DEL SULCIS (SARDEGNA SUD OCCIDENTALE)

APPLICATION OF AN ECOTOXICOLOGY BIOASSAYS FOR THE QUALITY EVALUATION OF SEDIMENTS FROM SULCIS (SOUTH-WEST OF SARDINIA)

Abstract

A battery of toxicity bioassays (*Microtox*[®] Solid-Phase, embryotoxicity test with bivalves, sperm cell- and embryotoxicity test with sea urchin) has been applied to whole sediments and elutriates from Sulcis-Iglesiente area (South-West of Sardinia, Italy) characterised by environmental pollution. *Microtox*[®] test highlighted a toxicity gradient in agreement with sediment heavy metals distribution described in literature; tests on elutriates showed an absent acute toxicity and a sub-chronical toxicity in Matzaccara, Sant'Antioco and Porto Pino sites.

Key-words: *Microtox*[®] Solid-Phase, bivalves, echinoderms, sediment pollution.

Introduzione

È stata svolta un'attività di indagine per stimare il pericolo di una potenziale esposizione a contaminanti delle specie alieutiche nell'area marino costiera del Sulcis, nell'ambito di un progetto di ricerca in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffì".

L'ambiente di studio fa parte della zona Sulcis-Iglesiente (Sardegna sud occidentale) dichiarata in base al D.P.C.M. 23/04/1993 "Area ad Alto Rischio di Crisi Ambientale" per gli impatti della rilevante attività industriale negli insediamenti di Portovesme e Sant'Antioco, e della passata attività di estrazione mineraria e, in base al D.M. 12/3/2003, sito di interesse nazionale destinato alla bonifica e al ripristino.

Lo studio del livello di esposizione alla contaminazione ambientale biodisponibile è stato realizzato su campioni di sedimento, prelevati in siti disposti lungo la linea di costa in prossimità e a sud di Portovesme. È stata applicata una batteria di saggi ecotossicologici che impiega specie rappresentative degli ambienti marino-costieri a diversi livelli evolutivi e che hanno ampio riconoscimento a livello internazionale: batteri bioluminescenti (*Vibrio fischeri*) (Nendza, 2002), embrioni di bivalvi (*Mytilus galloprovincialis* e *Crassostrea gigas*) (ICES, 2003; ASTM, 1998) e gameti ed embrioni di echinodermi (*Paracentrotus lividus*) (ICES, 2003; US EPA 1994, 1995). I saggi biologici sono stati effettuati su campioni di sedimento tal quale con *V. fischeri* e sulla matrice elutriato con tutti gli altri organismi test.

Materiali e metodi

Le aree di campionamento sono situate lungo il tratto di costa compreso tra Portoscuso a Nord e Porto Pino a Sud (Fig. 1). A nord, Portovesme (1-PV), Punta S'Aliga (2-PSAL), Matzaccara (3-MTZ) e Sant'Antioco (4-SANT) sono caratterizzati da un potenziale impatto delle attività industriali; a sud, Porto Botte (5-PB) e Porto Pino (6-PP) sono stati individuati come possibili siti di riferimento. Le potenziali sorgenti di degrado sono da identificarsi nelle attività legate allo sfruttamento minerario, prevalente in passato, dell'entroterra (giacimenti di Pb, Zn, Cu, Ag, e Fe, barite, argilla bentonica, lignite e carbone) e più recentemente (anni '60) alle attività industriali dei poli di Portovesme e Sant'Antioco. I siti di campionamento sono stati disposti lungo la linea di un ipotetico gradiente di contaminazione stabilito sulla base di dati chimici di letteratura che individuano la zona di maggior contaminazione nella sacca formata tra la costa e l'isola di S. Antioco (Vacca e Montau, 2001). I campioni di sedimento sono stati prelevati in giugno 2003 (0603), in dicembre 2003 (1203) e in settembre 2004 (0904). I campionamenti, effettuati da operatori subacquei, hanno previsto l'unione di 5 carote di 10 cm di diametro a 5 cm di profondità secondo uno schema a croce greca inscritto in un cerchio di 10 metri di raggio. I campioni, stoccati in barattoli di PET a 4 °C, sono stati trattati per la caratterizzazione fisica (% di umidità e di sostanza organica e granulometria) e per la preparazione degli elutriati a 30' (USEPA, 1991) e a 24 h (Volpi Ghirardini *et al.*, 2003). La preparazione delle matrici per il test è stata effettuata entro le 48 ore successive al fine di evitare alterazioni qualitative del campione legate ad una prolungata conservazione. Dopo l'acquisizione del dato sull'umidità è stata avviata la procedura di elutriazione; entro le 96 ore dal campionamento sono stati eseguiti i saggi che richiedevano l'utilizzo del sedimento tal quale (Microtox® Solid-Phase), mentre l'elutriato è stato stoccato in barattoli di PE e congelato a -18 °C sino all'esecuzione dei test di tossicità.



Fig. 1 - Siti di campionamento. 1 = Portovesme (PV); 2 = Punta S'Aliga (PSAL); 3 = Matzaccara (MTZ); 4 = Sant'Antioco (SANT); 5 = Porto Botte (PB); 6 = Porto Pino (PP).

Sampling sites. 1 = Portovesme (PV); 2 = Punta S'Aliga (PSAL); 3 = Matzaccara (MTZ); 4 = Sant'Antioco (SANT); 5 = Porto Botte (PB); 6 = Porto Pino (PP).

Il test Microtox® (Solid-Phase Test) è stato applicato al sedimento tal quale mediante la dispersione in una soluzione di NaCl al 20‰ con tampone fosfato pH 6,6 secondo l'applicazione del protocollo Volpi Ghirardini *et al.* (1998). I dati sono riportati come TU50 per i campioni per cui è possibile calcolare l'EC50, mentre per gli altri sono riportate le percentuali di effetto della maggiore concentrazione solo se superiori a 20%.

I test di embriotossicità con i bivalvi sono stati effettuati con *M. galloprovincialis* e *C. gigas* secondo il metodo proposto da His *et al.* (1997), mentre i test di spermiossicità e di embriotossicità sono stati effettuati con il riccio di mare *P. lividus* (Volpi Ghirardini *et al.*, 2005). I risultati sono stati espressi come EC50 con i rispettivi limiti fiduciali secondo il metodo Trimmed Spearman-Kärber (ASTM, 1998) e per i campioni meno tossici, come percentuale di effetto calcolata sulla matrice non diluita (Volpi Ghirardini *et al.*, 2003). L'accettabilità dei risultati è stata verificata attraverso gli standard di riferimento (controllo positivo) ZnSO₄ e Cu(NO₃)₂ rispettivamente per il test Microtox e per i test con riccio di mare e mitilo.

Risultati

I campioni sono classificabili come sabbiosi (Shepard, 1954) e presentano caratteristiche sedimentologiche molto simili. I risultati ottenuti con il test Microtox® Solid-Phase (per tutti i campioni si è avuto un valore di $R^2 > 0,95$) permettono di suddividere le stazioni di campionamento in tre gruppi relativamente ai dati ottenuti nel presente studio: un primo gruppo, PV, PSAL e PP.0603, con assenza di effetti rilevabili, un secondo, PP.1203 e PB, ed un terzo, MTZ e SANT, che sono nettamente distinguibili per valori di TU50 che si differenziano per uno o due ordini di grandezza. (Fig. 2a). Si individua un gradiente di tossicità che trova analogie con il gradiente di concentrazione Nord-Sud individuabile nelle mappe di distribuzione dei metalli pesanti prodotte in precedenti studi (Vacca e Muntau, 2001) dove le aree che corrispondono alle stazioni PV (1), PSAL (2) e MTZ (3) presentano i seguenti intervalli di concentrazione espressi in ppm per Zn, Pb, Cu, Cd e Ni: PV ([Zn] 150-200; [Pb] 40-60; [Cu] 7-10; [Cd] 0.250-50; [Ni] 10-12), PSAL ([Zn] >250; [Pb] 80-100; [Cu] 10-13; [Cd] 0.75-1; [Ni] 10-12) e MTZ ([Zn] >250; [Pb] >100; [Cu] > 19; [Cd] > 1.25; [Ni] >12).

I risultati preliminari relativi ai saggi sugli elutriati riguardano il test di spermiossicità con il riccio e di embriotossicità con il mitilo. Per il primo test, la tossicità acuta è da ritenersi trascurabile per tutti i campioni, mentre per il secondo è stata evidenziata una maggiore sensibilità e la capacità di discriminare tra risposte tossiche sia di diverse campagne che di diversi tempi di elutrazione. Il test con il mitilo indica PV (1), PSAL (2) e PB (5) come le stazioni in cui l'elutriato non provoca effetti e conferma MTZ (3) e SANT (4) come le più tossiche. Infatti per queste due stazioni si sono ottenuti dati di EC50 nella seconda e terza campagna, (MTZ 1203 = $45,2 \pm 3,9\%$; SANT 0904 = $49,8 \pm 2,7$ a 30' e $34,5 \pm 2,6\%$ a 24 h) rispettivamente. Inoltre i risultati ottenuti con questo test evidenziano che PP ha una tossicità alta (PP 1206 = $56,0 \pm 3,5\%$ a 30') paragonabile ai due siti con maggiore contaminazione (Fig. 2b). In generale riguardo alle metodiche di elutrazione utilizzate si osserva che i 30' di agitazione sembrerebbero essere sufficienti ad evidenziare la tossicità della maggior parte dei sedimenti indagati anche se l'elutriato ottenuto a 24 h ha dato un maggiore effetto nelle stazioni MTZ (prima e terza

campagna) e SANT (seconda campagna) e sempre per quest'ultima ha dato una maggiore tossicità nella terza campagna.

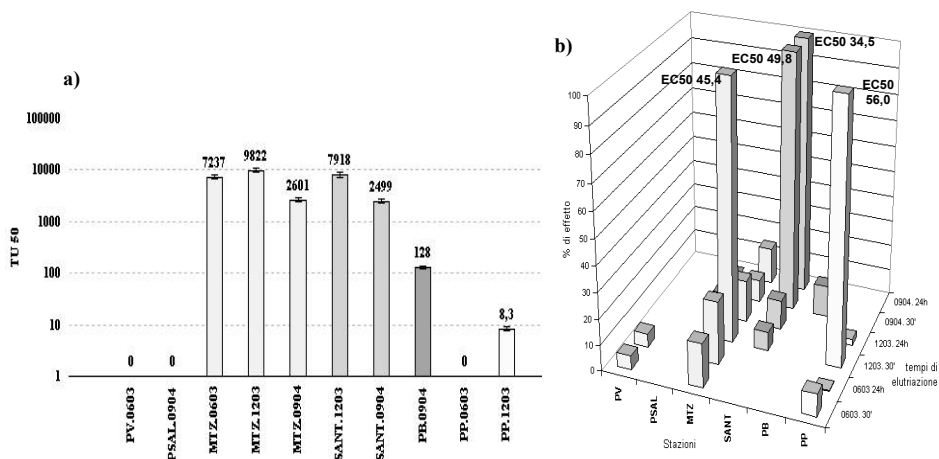


Fig. 2 - Risultati del test Microtox® (Solid-Phase) espressi come TU 50 (a) e risultati del test di embriotossicità con *M. galloprovincialis*, applicato all'elutriato ottenuto a 30' e 24 h di agitazione, espressi come % di effetto (dove calcolabili sono riportati i valori di EC50) (b).

*Results of Microtox® (Solid-Phase) reported as TU 50 (a) and results of embryotoxicity test with *M. galloprovincialis* applied to elutriates at 30' and 24 h from sediments of all the sampling campaigns. The results are reported as percentage of effects and where calculable as EC50 (b).*

Conclusioni

I saggi di tossicità applicati si sono rivelati utili strumenti per la biovalutazione dell'ambiente di studio. I risultati ottenuti hanno evidenziato una tossicità acuta del sedimento tal quale (test Microtox® Solid-Phase) in accordo con la distribuzione dei metalli pesanti descritta in letteratura e una tossicità sub-cronica dell'elutriato (test di embriotossicità con il mitilo) non solo nelle stazioni di Matzaccara e Sant'Antioco, come prevedibile, ma anche nel sito Porto Pino, potenziale sito di riferimento. Nel contesto generale del progetto di ricerca, l'uso di una batteria di saggi biologici ha fornito una stima del potenziale pericolo a cui le risorse alieutiche sono soggette attraverso la valutazione degli effetti tossici su organismi test opportunamente selezionati sulla base della significatività ecologica e della presenza di protocolli di esecuzione riconosciuti a livello nazionale ed internazionale che garantiscano la qualità dei dati ottenuti. L'applicazione di tali metodologie di indagine ha permesso l'individuazione non tanto delle possibili cause ma delle entità degli stress ambientali e, quindi, gli effetti che questi possono esercitare sulla risorsa da tutelare.

Bibliografia

ASTM (1998) - Standard guide for conducting static acute toxicity tests starting with embryos of four species of saltwater bivalve molluscs. E 724-98: 21 pp.

- HIS E., SEAMAN R.N.L., BEIRAS R. (1997) - A simplified bivalve larval bioassay method for seawater quality assessment. *Water Res.*, **31**: 351-355.
- ICES (2003) – Report of the ICES Advisory Committee on the Marine Environment, 2003. *ICES Cooperative Research Report*, **263**: 227 pp.
- NENDZA M. (2002) - Inventory of marine biotest methods for the evaluation of dredged material and sediments. *Chemosph.*, **48**: 865-883.
- SHEPARD F.P. (1954) - Nomenclature based on sand-silt-clay ratios. *J. Sed. Petrol.*, **24**: 151-158.
- US EPA (1991) - Evaluation of dredged material proposed for ocean disposal (testing manual). EPA 503/8-91/001.
- U.S. EPA (1994) - Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to marine and estuarine organisms. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio. 600/4-91/003.
- U.S. EPA. (1995) - Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to West Coast marine and estuarine organisms. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio. 600/R-95/136.
- VACCA S., MUNTAU H. (2001) - Valutazione Preliminare dello Stato di Inquinamento dei Suoli, delle Acque e dei Sedimenti Marini nella Zona ad Alto Rischio Ambientale di Portoscuso. Definizione di un Sistema di Controllo Permanente della Contaminazione Ambientale nell'Ambito del Sistema Informativo Nazionale Ambientale (SINA), Istituto dell'Ambiente Centro Comune di Ricerca, Commissione Europea (EUR 19045 IT).
- VOLPI GHIRARDINI A., GHETTI P.F., DI LEO V., PANTANI C. (1998) - Microtox solid phase bioassay in sediment toxicity assessment. *Vehr. Internat. Erein. Limnol.*, **26**: 2393-2397.
- VOLPI GHIRARDINI A., ARIZZI NOVELLI A., LOSSO C., GHETTI P.F. (2003) - Sea urchin toxicity bioassays for sediment quality assessment in the Lagoon of Venice (Italy). *Chem. Ecol.*, **19** (2-3): 99-111.
- VOLPI GHIRARDINI A., ARIZZI NOVELLI A., LOSSO C., GHETTI P.F. (2005) - Sperm cell and embryo toxicity tests using the sea urchin *Paracentrotus lividus* (LmK). In: *Techniques in Aquatic Toxicology*, CRC Ed., **8**: 147-168.