



PORT OF CARRARA
PORT AUTHORITY

**CARATTERIZZAZIONE ECOTOSSICOLOGICA
DEI SEDIMENTI DEL PORTO DI CARRARA**



RELAZIONE TECNICA

Livorno, Aprile 2015



CONSORZIO PER IL CENTRO INTERUNIVERSITARIO
DI BIOLOGIA MARINA ED ECOLOGIA APPLICATA "G. BACCI"



Cliente: AUTORITA' PORTUALE DI CARRARA

Titolo: CARATTERIZZAZIONE ECOTOSSICOLOGICA DEI SEDIMENTI DEL PORTO DI CARRARA

Responsabile della commessa: Dott. Nicola Bigongiari

Personale impiegato

Attività di campionamento: Riccardo Micheli, Andrea Vannucci e Matteo Oliva

Analisi ecotossicologiche: Ludmila Kozinkova, Sonia Polese e Marco Pertusati

Stesura report: Silvia Lippi, Nicola Bigongiari

<i>Rev.0</i>	<i>13/04/2015</i>	<i>22509-1</i>	<i>SL</i>	<i>NB</i>	<i>CP</i>
<i>Rev.</i>	<i>Data</i>	<i>N° Report</i>	<i>Elaborato da</i>	<i>Verificato da</i>	<i>Approvato da</i>

INDICE

Premessa	Pag. 3
Capitolo 1 – Attività di campionamento	4
Capitolo 2 – Batteria di saggi biologici impiegata	5
Capitolo 3 - Materiali e metodi	9
Capitolo 4 - Risultati	12
Valutazione complessiva della tossicità	25
Allegato	27

Premessa

Nell'ambito delle attività di carotaggio per il prelievo dei sedimenti da sottoporre ad attività analitica per la determinazione delle caratteristiche fisico-chimiche dei fondali del Porto di Marina di Carrara che devono essere dragati, è stato effettuato il presente studio rivolto alla descrizione delle caratteristiche eco tossicologiche.

Il prelievo dei campioni di sedimento e la formazione delle aliquote da analizzare sono state effettuate in conformità al "*Piano di Caratterizzazione ambientale finalizzato al dragaggio dei sedimenti del Porto di Marina di Carrara*" (ISPRA, Novembre 2014).

La batteria di saggi biologici prescelta per le analisi eco tossicologiche ha compreso specie test appartenenti a gruppi tassonomici diversi, secondo quanto indicato nel manuale ISPRA n.67/2001. Due specie test selezionate per l'esecuzione dei saggi biologici (*Corophium orientale* e *Paracentrotus lividus*) sono accreditati ISO 17025.

Capitolo 1 – Attività di campionamento

Nell'ambito della caratterizzazione fisica, chimica e microbiologica dei fondali da dragare del Porto di Carrara, i tecnici del CIBM hanno effettuato una supervisione delle attività di campionamento e il prelievo delle aliquote di sedimento da sottoporre alle analisi ecotossicologiche (saggi biologici) secondo le indicazioni riportate nel documento "Piano di Caratterizzazione ambientale finalizzato al dragaggio dei sedimenti del Porto di Marina di Carrara" (ISPRA, Novembre 2014). I report giornalieri sono riportati in allegato alla presente relazione.

Il materiale raccolto è stato opportunamente omogeneizzato all'interno di bacinelle di vetro e suddiviso in aliquote per l'esecuzione dei vari saggi biologici. I contenitori in cui sono stati introdotti i campioni di sedimento sono in HDPE e la temperatura a cui sono stati mantenuti dal momento del campionamento fino all'inizio delle analisi è pari a 4 °C.

I campioni prelevati sono pari a 69 sui quali sono stati effettuati i seguenti saggi biologici:

Specie	Matrice	Stadio Vitale	Esposizione	End Point	Espressione dato
<i>Vibrio fischeri</i>	Elutriato	Cellule	15' e 30'	Inibizione bioluminescenza	EC20 e EC50
<i>Corophium orientale</i>	Sedimento tal-quale	Individui giovani-adulti	10 giorni	Mortalità	Δ mortalità
<i>Paracentrotus lividus</i>	Elutriato	Gamete maschile	1 h	Inibizione fecondazione	EC20 e EC50

Di seguito si riporta l'elenco dei campioni indagati con l'indicazione del livello (cm) prelevato in ciascuna carota:

- | | | | |
|-----------------|------------------|-------------------|------------------|
| 1. MC1/0-50 | 19. MC10/0-50 | 37. MC19/0-50 | 55. MC32/0-50 |
| 2. MC1/100-200 | 20. MC10/100-200 | 38. MC19/100-200 | 56. MC32/100-200 |
| 3. MC2/0-50 | 21. MC11/0-50 | 39. MC20/0-50 | 57. MC33/0-50 |
| 4. MC2/100-200 | 22. MC11/100-200 | 40. MC20/100-200 | 58. MC33/100-200 |
| 5. MC3/0-50 | 23. MC12/0-50 | 41. MC21/0-50 | 59. MC34/0-50 |
| 6. MC3/100-200 | 24. MC12/100-200 | 42. MC21/100-200 | 60. MC34/100-200 |
| 7. MC4/0-50 | 25. MC13/0-50 | 43. MC22/0-50 | 61. MC35/0-50 |
| 8. MC4/100-200 | 26. MC13/100-200 | 44. MC22/100-200 | 62. MC35/100-200 |
| 9. MC5/0-50 | 27. MC14/0-50 | 45. MC23/0-50 | 63. MC36/0-50 |
| 10. MC5/100-200 | 28. MC14/100-200 | 46. MC23 /100-200 | 64. MC37/0-50 |
| 11. MC6/0-50 | 29. MC15/0-50 | 47. MC24/0-50 | 65. MC38/0-50 |
| 12. MC6/100-200 | 30. MC15/100-200 | 48. MC24/100-200 | 66. MC39/0-50 |
| 13. MC7/0-50 | 31. MC16/0-50 | 49. MC29/0-50 | 67. MC40/0-50 |
| 14. MC7/100-200 | 32. MC16/100-200 | 50. MC29/100-200 | 68. MC51/0-50 |
| 15. MC8/0-50 | 33. MC17/0-50 | 51. MC30/0-50 | 69. MC51/100-200 |
| 16. MC8/100-200 | 34. MC17/100-200 | 52. MC30/100-200 | |
| 17. MC9/0-50 | 35. MC18/0-50 | 53. MC31/0-50 | |
| 18. MC9/100-200 | 36. MC18/100-200 | 54. MC31/100-200 | |

Capitolo 2 – Batteria di saggi biologici impiegata

La scelta delle specie da sottoporre ai saggi ecotossicologici rappresenta una criticità sperimentale. Specie molto semplici come, ad esempio, i batteri e le alghe unicellulari consentono di standardizzare più efficacemente le procedure dei saggi e di condurre prove più brevi nel tempo semplificando anche notevolmente le procedure di laboratorio e rendendo riproducibile il dato. Tuttavia, specie più complesse sono in grado di fornire informazioni più significative dal punto di vista ecologico.

La variabilità della popolazione sottoposta alla prova può indurre differenze significative nelle risposte ottenute dal saggio. Per questo, per massimizzare la riproducibilità dei risultati ottenibili, i *test* sono condotti su una popolazione resa *a priori* quanto più omogenea possibile (dal punto di vista genetico, sessuale e di fase del ciclo biologico) e le condizioni esterne sono strettamente standardizzate. Questo sebbene favorisca la riproducibilità del dato rende il risultato meno rappresentativo della condizione di “naturalità”. Infatti, in natura, le popolazioni non sono geneticamente, sessualmente e biologicamente omogenee ma coesistono nello stesso habitat individui appartenenti alla stessa specie con genotipo, sesso ed età diversa e quindi diversamente sensibili alle sostanze testate. La letteratura scientifica evidenzia come la sensibilità di un organismo ad un tossico vari in funzione del sesso, della fase di sviluppo in cui si trova (embrionale, larvale, riproduttiva ecc.), dell’età e della variabilità genetica.

In pratica la stessa dose di una sostanza può, ad esempio, essere letale per le fasi larvali o embrionali di una specie e non avere effetto sugli individui adulti. Dal punto di vista metodologico, la standardizzazione di alcuni aspetti a contorno del saggio (es. illuminazione, temperatura di incubazione, pH del mezzo, salinità ecc.) ma anche la manualità dell’operatore ed il protocollo sperimentale adottato, possono indurre risposte significativamente diverse in presenza della stessa concentrazione di composto tossico cui si espone la popolazione *test*. Per ovviare ad alcune di queste problematiche sperimentali è importante, pertanto, seguire le metodologie proposte da protocolli nazionali e/o internazionali ufficialmente riconosciuti e standardizzati affinché sia possibile garantire la correttezza della procedura di esame, la non equivocabilità dell’informazione ottenibile dal *test* e la qualità del dato ottenuto. L’uso di protocolli non ufficiali o non riconosciuti dovrebbe essere minimizzato o applicato oculatamente contestualizzando il significato della risposta ottenuta.

A parità di concentrazioni di una determinata sostanza tossica, la risposta ottenuta è specie-specifica. Ossia specie diverse mostrano diverse sensibilità nei confronti della stessa sostanza. Infatti, specie biologicamente semplici, come ad esempio i batteri, presentano sistemi di difesa meno complessi rispetto ad organismi posti a livello più alto della scala evolutiva risultando più sensibili per alcuni composti e meno sensibili per altri.

Per questo la risposta ottenuta da saggi condotti su una sola specie è poco significativa mentre maggior peso può avere un risultato ottenuto con più specie appartenenti a gruppi tassonomici diversi e scelte in modo da fornire un’indicazione quanto più attendibile possibile degli effetti indotti sia alla base della rete trofica dell’ecosistema acquatico che ai vertici di essa. In sintesi, l’impiego di più specie *test* appartenenti a livelli trofici diversi è fondamentale sia per valutare l’impatto della contaminazione presunta sul sistema, verificando i livelli trofici coinvolti, che per disporre di sensibilità diverse a parità di dosaggio di esposizione. Qualunque batteria di saggi biologici deve soddisfare, indipendentemente dall’ambiente di studio e dalla specifica applicazione, i seguenti requisiti:

1. La batteria di saggi ecotossicologici deve presentare, indipendentemente dal numero di end-point, almeno 3 specie di organismi.
2. Gli stadi vitali delle specie selezionate utilizzati nei saggi devono essere ben distinti dal punto di vista filogenetico ed appartenere a livelli funzionali diversi (un produttore primario vegetale, un decompositore/saprofita, un detritivoro/filtratore, un consumatore).

3. La batteria di saggi ecotossicologici deve essere capace di rispondere al maggior numero di forme di inquinamento possibile (buona sensibilità e potere discriminatorio).

In relazione a quanto sopra riportato, sono state impiegate tre specie tipiche di ecosistemi acquatici appartenenti a tre diversi livelli filogenetici:

1. Batteri (*Vibrio fischeri*)
2. Crostacei (*Corophium orientale*)
3. Echinodermi (*Paracentrotus lividus*)

I saggi biologici selezionati inoltre rispettano i requisiti richiesti per un'adeguata batteria e cioè vengono effettuati con sedimento intero e organismi bentonici (*C. orientale*), con elutriato da sedimento intero e organismi non bentonici (*V. fischeri* e *P. lividus*)

Nel caso del saggio biologico con *C. orientale*, gli organismi vengono esposti al sedimento intero al di sopra del quale viene stratificata dell'acqua di mare naturale e quindi viene simulato un microcosmo che contiene sia fase solida, sia fase liquida. Nel caso dei saggi con *V. fischeri* e *P. lividus* invece si utilizzano elutriati, cioè estratti acquosi ottenuti mescolando il sedimento intero con acqua di mare naturale in opportune proporzioni (1:4) e successivamente il sedimento viene separato (per decantazione, filtrazione o centrifugazione) dall'elutriato e gli organismi vengono esposti alla sola fase liquida, che si ritiene abbia estratto dal sedimento intero i tossici biodisponibili.

Per effettuare la valutazione della tossicità associata al sedimento, la batteria di saggi ecotossicologici è stata scelta sulla base delle indicazioni fornite dal manuale ISPRA (Manuali e linee guida 67/2011, Batterie di saggi ecotossicologici per sedimenti di acque salate e salmastre), in particolare il Capitolo 1 – “*Criteri di identificazione delle batterie*” e il Capitolo 2 – “*Criteri di giudizio per la valutazione della valenza ecologica e pratica di batterie di saggi biologici*”.

La batteria prescelta è in grado di rispondere alle esigenze di scientificità e praticità: infatti, se da un lato è necessario garantire che i saggi biologici abbiano solide basi conoscitive sull'ecologia strutturale e funzionale dei modelli sperimentali proposti, dall'altro è necessario che possano essere relativamente semplici da realizzare.

I parametri ritenuti significativi per una corretta valutazione della valenza scientifica-ecologica e della praticità–applicabilità di una batteria che soddisfa i prerequisiti sopra citati sono i seguenti:

- | | |
|----------------------------|--|
| Valenza scientifica | <ul style="list-style-type: none">• standardizzazione dell'end point (Sep)• rappresentatività della specie scelta (RSeco)• valenza della distribuzione geografica della specie (DG)• rappresentatività dello stadio vitale impiegato nella matrice (RSVM)• rappresentatività della matrice rispetto all'applicazione (RMappl)• rilevanza e sensibilità dell'effetto (RES) |
| Valenza pratica | <ul style="list-style-type: none">• reperibilità degli organismi (RO)• standardizzazione del protocollo metodologico (SP)• effetto sulla scala di rischio (ER)• fattibilità della batteria (FB)• preparazione matrice (PM) |

Per ognuna di queste specie si riportano in Tabella 4 le valutazioni prodotte da ISPRA (2011) in merito agli aspetti connessi alla valenza scientifica dell'informazione ottenuta dal *test* ed alla valenza pratica del *test* stesso.

Valenza scientifica dei test ecotossicologici su singola specie

Specie-test	Valenza Scientifica						Totale VS
	Sep	RSeco	DG	RES	RSVM	RMappl	
<i>Vibrio fischeri</i>	3	4	2	1,5	1	6	17,5
<i>Corophium orientale</i>	3	4	4	1	4	5	21
<i>Paracentrotus lividus</i>	3	4	3	3	3	6	22

Valenza pratica dei test ecotossicologici su singola specie

Specie-test	Valenza Pratica					Totale VP
	RO	SP	ER	FB	PM	
<i>Vibrio fischeri</i>	5	4	4,5	3	2	18,5
<i>Corophium orientale</i>	4	4	5	4	4	21
<i>Paracentrotus lividus</i>	2	3	3	4	2	14

Valenza Totale

Specie-test	Totale VS	Totale VP	Valenza totale
<i>Vibrio fischeri</i>	17,5	18,5	36
<i>Corophium orientale</i>	21	21	42
<i>Paracentrotus lividus</i>	22	14	36

Gli *end point* individuati sono la mortalità per *C. orientale* e il valore di EC50 (Effect Concentration 50%), ossia la concentrazione di elutriato alla quale si riscontra l'effetto sul 50% della popolazione testata per *V. fischeri* e *P. lividus*. Nei casi in cui l'EC50 non sia calcolabile è utilizzato come parametro l'EC20 (Effect Concentration 20%).

I test ecotossicologici sulle tre specie selezionate sono stati condotti utilizzando come controllo negativo acqua di mare naturale prelevata in un sito di approvvigionamento non contaminato, il controllo positivo è stato effettuato mediante esposizione a dosi scalari del tossico di riferimento. Tutti i campioni sono stati processati entro la settimana dal prelievo.

Criterio per la valutazione della tossicità

La stima della tossicità dei saggi biologici impiegati è stata effettuata sulla base dei criteri riportati nella tabella seguente dove per ciascun saggio sono state individuate 4 classi di tossicità.

Scala di tossicità dei saggi biologici impiegati

<i>V. fischeri</i>	<i>C. orientale</i>	<i>P. lividus</i>	Classe Tossicità
EC20 ≥ 90%	M ≤ 15%	EC20 ≥ 90%	Colonna A
EC20 < 90% e EC50 ≥ 90%	15% < M ≤ 30%	EC20 < 90% e EC50 > 100%	Colonna B
20% ≤ EC50 < 90%	30% < M ≤ 60%	40% ≤ EC50 < 100%	Colonna C
EC50 < 20%	M > 60%	EC50 < 40%	Colonna D

	CENTRO INTERUNIVERSITARIO DI BIOLOGIA MARINA ED ECOLOGIA APPLICATA	Caratterizzazione eco tossicologica dei sedimenti del Porto di Carrara	
Report n° 22509-1		Pagina 8	

Seguendo un criterio cautelativo, un campione viene classificato tossico nel caso in cui anche un solo saggio biologico manifesti tossicità, indipendentemente dal risultato degli altri saggi.

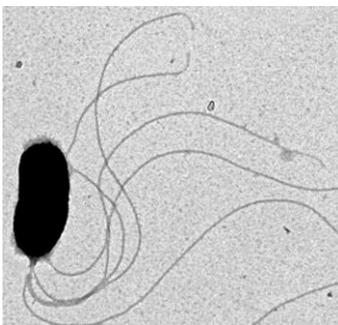
In mancanza di strumenti atti ad integrare le risposte fornite da ciascun saggio biologico è stato impiegato questo criterio che, essendo particolarmente cautelativo, tende a sovrastimare la tossicità soprattutto qualora vengano impiegati organismi-test ed end-point molto sensibili.

La classe di tossicità è stata attribuita sulla base di quanto riportato nel “*Manuale per la movimentazione di sedimenti marini*” (ICRAM-APAT-MATTM, 2007) che individua quattro colonne (A, B, C e D) corrispondenti a quattro classi crescenti di tossicità (da tossicità assente/trascurabile a molto alta).

Capitolo 3 - Materiali e metodi

Saggio biologico con *Vibrio fischeri*

Vibrio fischeri è un batterio marino Gram-negativo ed eterotrofo, appartenente alla famiglia delle *Vibrionaceae*. Il sistema Microtox® è un test biologico di tossicità acuta basato sulla valutazione della bioluminescenza naturale di questa specie. Poiché in presenza di contaminanti l'emissione di luce diminuisce, la misura dell'eventuale inibizione della bioluminescenza, a seguito dell'esposizione del batterio ad una sostanza nota o ad un campione naturale di acqua o sedimento, consente di valutare il grado di tossicità acuta della sostanza o della matrice testata.



Batterio marino *Vibrio fischeri*



Strumento per la valutazione della bioluminescenza

I saggi biologici sono stati applicati all'acqua di mare filtrata a 0,45 µm. Sui campioni è stato effettuato uno Screening test (90% screening test con lo), effettuando le letture dopo 15 e 30 minuti di incubazione. Questo protocollo consente di valutare in un unico test se i campioni di elutriato sono o meno tossici in misura tale da permettere la ricerca di una EC_{20/50}. I campioni vengono infatti testati tal quali alla massima concentrazione (90%), senza impiego di diluizioni. Per valori <20% della percentuale di inibizione, non si procede alla prosecuzione del saggio. Qualora lo screening test dia risultati >20% della percentuale di inibizione, si effettua un test completo alla ricerca di una EC_{20/50}, attraverso una serie di diluizioni scalari in base 2.

Saggio biologico con *Paracentrotus lividus*

Il saggio biologico con il riccio di mare *Paracentrotus lividus*, si basa sulla capacità fecondativa dei gameti maschili, esposti alla matrice da testare, di fecondare le uova (spermiotossicità). L'assenza o una riduzione rilevante della fecondazione è indice di una tossicità acuta.

Preparazione dell'elutriato - Gli elutriati vengono preparati dai sedimenti freschi secondo il protocollo: Evaluation of Dredged Material Proposed for Discharge in Waters of the U.S. -Testing Manual EPA 823-B-98-004. February 1998. Un'aliquota del sedimento da testare viene unita con il volume calcolato dell'acqua di mare naturale filtrata in rapporto 1: 4. Le sospensioni ottenute vengono poste in agitazione per 1 ora e in seguito centrifugate a temperatura di 10°C per 20' a 3000 rpm. Il sopranatante, che rappresenta l'elutriato, viene prelevato con cautela e conservato a temperatura di -30°C. Prima dell'allestimento del test vengono misurati i seguenti parametri dell'elutriato: pH e salinità.

Procedimento del test - Il test viene allestito in tre repliche secondo protocollo : Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to West Coast Marine and Estuarine Organisms. , EPA/600/R-95/136. August, 1995 con le modifiche per la specie *P. lividus*: Standard Guide for Conducting Static Acute Toxicity Tests with Echinoid Embryos. ASTM/E 1563-1998.

L'emissione dei gameti maschili e femminili viene provocata mediante l'iniezione di 0,5 ml di KCl 1M nella cavità celomatica degli organismi. Lo sperma proveniente minimo da tre maschi, viene raccolto "a secco" e conservato a 4°C. Le uova, provenienti da almeno tre femmine, vengono raccolte ad umido singolarmente per ogni femmina.



Procedura per l'emissione dei gameti del riccio di mare *P. lividus*

Dopo la valutazione della loro maturità, vengono raccolte, diluite in acqua di mare naturale filtrata alla concentrazione richiesta per il test e conservate a 16°C. La quantità degli spermatozoi viene determinata in camera di conta (Thoma).

Sulla base del conteggio viene preparata la sospensione dello sperma stimando il rapporto predefinito (1/15000) tra uovo e sperma che garantisce una percentuale di fecondazione nei limiti del 75-95%. Lo sperma viene esposto per un'ora alle concentrazioni previste degli elutriati (100%, 50% e 25%) e all'acqua di mare naturale filtrata (controllo). Le uova vengono inoculate dopo un'ora e lasciate in contatto con lo sperma per venti minuti. Il test viene bloccato mediante l'aggiunta di 1 ml di formaldeide (30%). La sensibilità (EC50) dei gameti maschili viene determinata mediante la loro esposizione per 60 minuti alle diluizioni (16, 32, 46, 64 µg/l) del tossico di riferimento $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$. Il valore del EC50 viene calcolato con il metodo Trimmed Spearman-Kärber versione 1,5.

Saggio biologico con *Corophium orientale*

Il principio del saggio biologico a breve e lungo termine di tossicità acuta con *C. orientale* consiste nell'esposizione di un numero stabilito di organismi per 10 giorni al sedimento tal quale, con la finalità di stimare la percentuale di mortalità degli organismi stessi. Il saggio è allestito secondo il protocollo: ISO 16712:2005(E): Water quality - Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods.



Corophium orientale



Campionamento degli anfipodi

Gli anfipodi sono stati campionati setacciando il loro sedimento nativo (con setaccio a maglia di 0,5 mm) che permette di selezionare organismi di circa 4 mm idonei per il test, scartando gli individui maturi e le forme giovanili. Gli anfipodi selezionati vengono portati in laboratorio ed acclimatati alle seguenti condizioni del test:

- Temperatura dell'acqua: $16 \pm 2^\circ\text{C}$
- Salinità: $36 \pm 2 \text{‰}$
- Illuminazione: continua
- O_2 disciolto nell'acqua sovrastante il sedimento: $> 60 \%$.

Procedimento del saggio - Circa 200 cc di sedimento da testare sono introdotti all'interno di un barattolo di vetro da 1L e sopra a questi sono aggiunti circa 750 cc di acqua di mare naturale filtrata. Per ogni campione sono allestite 4 repliche. Dopo 24 ore in ciascun barattolo vengono introdotti 25 individui. Come sedimento di controllo è utilizzato il sedimento nativo proveniente da un sito relativamente non contaminato. I barattoli contenenti gli organismi sono coperti per minimizzare l'evaporazione dell'acqua, posti in una stanza a temperatura controllata ($16 \pm 2^\circ\text{C}$) ed areati in continuo.



Allestimento del test con *Corophium orientale*

Dopo 10 giorni il contenuto di ogni barattolo viene vagliato e vengono contati gli organismi sopravvissuti. Sono considerati morti gli anfipodi che, dopo una delicata stimolazione, non mostrano alcun movimento degli arti. La sensibilità degli organismi, (96hLC50) è stata determinata tramite l'esposizione per 96 ore a concentrazioni crescenti (0,8; 1,6; 3,2; e 6,4 mg/l) di CdCl_2 . All'inizio e alla fine del saggio biologico sono stati misurati i seguenti parametri dell'acqua sovrastante, il sedimento: pH, salinità, NH_4^+ e ossigeno disciolto



Conteggio degli organismi sopravvissuti

Il saggio biologico è considerato valido, quando la mortalità media all'interno del sedimento di controllo è $\leq 15\%$ e quando la mortalità nella singola replica per l'intero periodo di esposizione è $\leq 20\%$. Sia nei campioni da testare che nel sedimento di controllo, sono state calcolate le percentuali medie (\pm la deviazione standard) degli anfipodi morti. La percentuale di mortalità rilevata in ogni campione è stata confrontata con quella nel sedimento di controllo. La valutazione della tossicità è stata eseguita prendendo in considerazione la percentuale di mortalità degli organismi osservata nei campioni da saggiare corretta con la formula di Abbott.

Capitolo 4 – Risultati

Saggio biologico con *Vibrio fischeri*

QA - QC - Il valore di EC50 a 15' con la sostanza di riferimento (Zn^{++}) è risultato pari a 5,74 mg/L (LC=4,44 e UC=7,42) valore conforme al range di riferimento relativo al test Microtox®. In **Tabella 4.1** vengono riportate le percentuali di effetto (riduzione della bioluminescenza) misurate dopo 15' e 30' di esposizione e la stima della tossicità.

Tab. 4.1 – Risultati del saggio biologico con *V. fischeri*

Campione	pH	Salinità (‰)	%Effetto 15'	%Effetto 30'	EC20 15'	EC20 30'	EC50 15'	EC50 30'	Colonna Tossicità
MC1/0-50	7,90	35	-0,96	-0,01	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC1/100-200	8,17	37	2,56	3,07	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC2/0-50	8,25	38	3,76	4,46	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC2/100-200	8,26	36	5,55	5,69	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC3/0-50	8,28	36	0,69	2,01	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC3/100-200	8,13	37	2,02	1,51	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC4/0-50	8,27	35	2,06	2,44	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC4/100-200	8,05	36	0,24	0,11	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC5/0-50	8,17	37	-1,00	-0,05	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC5/100-200	8,18	37	2,00	1,66	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC6/0-50	8,27	37	4,95	5,59	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC6/100-200	8,17	38	2,03	1,71	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC7/0-50	7,96	34	6,55	7,66	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC7/100-200	8,00	34	7,32	8,57	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC8/0-50	8,22	37	1,97	3,19	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC8/100-200	7,91	34	9,56	11,06	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC9/0-50	8,20	37	-0,09	0,79	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC9/100-200	8,20	37	-0,47	0,12	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC10/0-50	8,13	35	3,45	5,18	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC10/100-200	8,09	37	0,06	2,41	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC11/0-50	8,16	34	0,87	2,83	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC11/100-200	7,86	35	-3,89	-4,70	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC12/0-50	8,18	36	6,39	7,64	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC12/100-200	8,09	38	0,77	3,93	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC13/0-50	7,94	35	2,45	3,15	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC13/100-200	8,04	37	-1,50	1,44	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC14/0-50	7,95	37	-7,24	-8,39	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC14/100-200	8,11	37	-4,48	-5,28	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC15/0-50	8,07	37	3,76	4,92	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC15/100-200	7,85	37	1,67	1,67	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC16/0-50	7,75	34	-6,58	-8,60	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC16/100-200	8,23	36	-3,20	-4,71	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC17/0-50	8,11	36	1,86	2,89	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC17/100-200	8,12	37	4,41	5,93	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC18/0-50	8,07	36	1,81	3,14	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC18/100-200	7,94	36	2,18	1,86	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC19/0-50	8,02	37	3,77	0,91	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC19/100-200	8,16	36	3,83	1,58	> 90	> 90	>90	> 90	A

MC20/0-50	7,83	37	1,21	0,29	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC20/100-200	7,88	36	5,42	3,61	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC21/0-50	8,14	36	4,85	4,02	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC21/100-200	7,98	37	2,37	1,12	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC22/0-50	8,09	36	0,73	-2,52	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC22/100-200	7,92	36	2,33	-0,40	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC23/0-50	7,84	37	-5,87	-7,63	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC23/100-200	8,08	37	-5,37	-7,08	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC24/0-50	8,14	37	-3,92	-5,20	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC24/100-200	8,13	38	-6,17	-8,80	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC29/0-50	8,27	36	-0,04	0,80	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC29/100-200	8,37	36	1,84	0,95	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC30/0-50	8,17	37	-3,68	-2,98	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC30/100-200	8,15	38	-8,27	-8,33	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC31/0-50	7,87	38	-7,41	-8,79	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC31/100-200	7,80	37	-13,08	-14,45	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC32/0-50	7,94	37	19,14	-18,85	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC32/100-200	7,98	37	0,12	-1,68	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC33/0-50	8,17	38	-1,82	-2,39	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC33/100-200	8,18	38	-3,27	-4,49	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC34/0-50	7,96	38	-3,51	-4,50	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC34/100-200	8,14	38	-3,85	-5,92	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC35/0-50	8,24	35	-4,23	-8,55	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC35/100-200	8,18	37	-3,30	-5,30	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC36/0-50	8,19	35	-1,39	-4,92	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC37/0-50	8,17	37	-3,06	-6,12	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC38/0-50	8,18	35	-3,45	-8,25	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC39/0-50	8,14	38	-2,49	-3,51	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC40/0-50	7,89	37	-6,31	-9,45	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC51/0-50	8,18	36	-2,99	-3,60	> 90	> 90	>90	> 90	A
MC51/100-200	7,90	37	-11,83	-11,09	> 90	> 90	>90	> 90	A

Nessun campione è risultato tossico al batterio *V. fischeri*.

Saggio biologico con *Corophium orientale*

Nella tabella sottostante (Tab. 4.2) sono riportati i parametri dell'acqua sovrastante i sedimenti, registrati all'inizio ed al termine del saggio biologico di tossicità acuta con *Corophium orientale*.

Tab. 4.2 - Parametri chimico-fisici dell'acqua sovrastante i sedimenti registrati all'inizio e al termine del saggio biologico

Campione	Temp. (°C)	Salinità (‰)	pH	NH ₄ ⁺ (mg/l)	O ₂ (%)	Temp. (°C)	Salinità (‰)	pH	NH ₄ ⁺ (mg/l)	O ₂ (%)
Controllo	15,6	35	8,05	0,5	>85	15,2	36	8,07	1	>85
MC1/0-50	15,6	37	8,05	1	>85	15,2	38	8,09	2	>85
MC1/100-200	15,6	37	8,06	0,5	>85	15,2	38	8,09	1	>85
MC2/0-50	15,6	37	8,05	1	>85	15,2	38	8,12	1	>85
MC2/100-200	15,6	37	8,06	0,5	>85	15,2	38	8,11	1	>85
MC3/0-50	15,6	36	8,07	2	>85	15,2	38	8,10	2	>85
MC3/100-200	15,6	36	8,07	1	>85	15,2	38	8,13	1	>85
MC4/0-50	15,6	36	8,10	3	>85	15,2	38	8,10	2	>85
MC4/100-200	15,6	37	8,05	0,5	>85	15,2	38	8,09	1	>85
MC5/0-50	15,6	37	8,10	2	>85	15,2	38	8,11	2	>85
MC5/100-200	15,6	36	8,05	0,5	>85	15,2	38	8,10	1	>85
MC6/0-50	15,6	36	8,13	3	>85	15,2	38	8,10	2	>85
MC6/100-200	15,6	36	8,04	0,5	>85	15,2	38	8,12	1	>85
MC7/0-50	15,6	37	8,13	2	>85	15,2	38	8,10	2	>85
MC7/100-200	15,6	36	8,06	0	>85	15,2	38	8,11	0,5	>85
MC8/0-50	15,6	36	8,12	2	>85	15,2	38	8,14	2	>85
MC8/100-200	15,6	36	8,06	0,5	>85	15,2	38	8,11	1	>85
MC9/0-50	15,6	36	8,05	1	>85	15,2	38	8,14	2	>85
MC9/100-200	15,6	36	8,05	0	>85	15,2	38	8,07	0,5	>85
MC10/0-50	15,8	36	8,09	0,5	>85	15,4	38	8,10	0,5	>85
MC10/100-200	15,8	36	8,10	0	>85	15,4	38	8,13	0,5	>85
MC11/0-50	15,8	36	8,05	0,5	>85	15,4	38	8,09	0,5	>85
MC11/100-200	15,8	35	8,06	0	>85	15,2	38	8,10	2	>85
MC12/0-50	15,8	36	8,09	0,5	>85	15,4	38	8,11	0,5	>85
MC12/100-200	15,8	36	8,12	0	>85	15,4	38	8,15	0	>85
MC13/0-50	14,9	38	8,07	1	>85	15,2	38	8,10	2	>85
MC13/100-200	14,9	38	8,08	0,5	>85	15,2	38	8,11	1	>85
MC14/0-50	15,8	36	8,06	0,5	>85	15,4	38	8,10	1	>85
MC14/100-200	15,8	36	8,10	0	>85	15,4	38	8,14	0,5	>85
MC15/0-50	15,6	36	8,07	1	>85	15,2	38	8,09	1	>85
MC15/100-200	15,6	36	8,16	2	>85	15,2	38	8,18	2	>85
MC16/0-50	15,8	36	8,10	1	>85	15,4	38	8,12	0,5	>85
MC16/100-200	15,8	36	8,07	0,5	>85	15,4	38	8,09	1	>85
MC17/0-50	15,6	36	8,09	2	>85	15,2	38	8,10	2	>85
MC17/100-200	15,6	36	8,06	1	>85	15,2	38	8,11	2	>85
MC18/0-50	15,6	36	8,04	1	>85	15,2	38	8,07	1	>85
MC18/100-200	15,8	34	8,10	0	>85	15,4	38	8,12	0	>85
MC19/0-50	15,8	36	8,10	1	>85	15,4	38	8,11	0,5	>85
MC19/100-200	15,8	36	8,11	0	>85	15,4	38	8,10	0,5	>85
MC20/0-50	15,8	37	8,09	0,5	>85	15,4	38	8,12	1	>85
MC20/100-200	15,8	37	8,10	0,5	>85	15,4	38	8,13	1	>85
MC21/0-50	15,8	37	8,07	0,5	>85	15,4	38	8,09	1	>85

Campione	Temp. (°C)	Salinità (‰)	pH	NH ₄ ⁺ (mg/l)	O ₂ (%)	Temp. (°C)	Salinità (‰)	pH	NH ₄ ⁺ (mg/l)	O ₂ (%)
MC21/100-200	15,8	36	8,10	0	>85	15,4	38	8,12	0,5	>85
MC22/0-50	15,8	36	8,10	0	>85	15,4	38	8,13	0	>85
MC22/100-200	15,8	36	8,11	0	>85	15,4	38	8,11	0,5	>85
MC23/0-50	15,8	36	8,03	3	>85	15,4	38	8,07	2	>85
MC23/100-200	15,8	36	8,10	3	>85	15,4	38	8,13	2	>85
MC24/0-50	15,8	36	8,09	0,5	>85	15,4	38	8,11	1	>85
MC24/100-200	15,8	36	8,10	0	>85	15,4	38	8,12	0,5	>85
MC29/0-50	14,9	37	8,31	5	>85	15,2	37	8,28	5	>85
MC29/100-200	14,9	37	8,20	5	>85	15,2	38	8,24	5	>85
MC30/0-50	14,9	37	8,16	2	>85	15,2	37	8,11	5	>85
MC30/100-200	14,9	37	8,12	1	>85	15,2	38	8,20	2	>85
MC31/0-50	14,9	37	8,10	1	>85	15,2	38	8,12	1	>85
MC31/100-200	14,9	36	8,09	1	>85	15,2	37	8,10	2	>85
MC32/0-50	14,9	37	8,09	1	>85	15,2	38	8,12	2	>85
MC32/100-200	14,9	37	8,09	1	>85	15,2	37	8,11	2	>85
MC33/0-50	14,9	38	8,09	0,5	>85	15,2	38	8,11	1	>85
MC33/100-200	14,9	37	8,09	1	>85	15,2	38	8,13	2	>85
MC34/0-50	14,9	37	8,09	0,5	>85	15,2	37	8,10	0,5	>85
MC34/100-200	14,9	37	8,10	0,5	>85	15,2	37	8,12	1	>85
MC35/0-50	14,9	36	8,11	0,5	>85	15,2	37	8,15	1	>85
MC35/100-200	14,9	36	8,11	1	>85	15,2	37	8,14	2	>85
MC36/0-50	14,9	36	8,10	0	>85	15,2	37	8,13	0,5	>85
MC37/0-50	14,9	36	8,06	0	>85	15,2	38	8,09	0	>85
MC38/0-50	14,9	37	8,04	0	>85	15,2	37	8,06	0,5	>85
MC39/0-50	14,9	38	8,10	0,5	>85	15,2	38	8,09	1	>85
MC40/0-50	14,9	38	8,10	1	>85	15,2	37	8,12	1	>85
MC51/0-50	14,9	36	8,22	3	>85	15,2	38	8,14	3	>85
MC51/100-200	14,9	36	8,13	2	>85	15,2	38	8,23	2	>85

QA-QC - Il valore della LC50(96h) = 2,57 mg/l (LC = 2,29 mg/l e UC = 2,89 mg/l) ottenuto con la sostanza di riferimento (CdCl₂) rientra nel range della carta di controllo del laboratorio. La sopravvivenza degli organismi nel sedimento di controllo dopo 10 giorni è risultata idonea in quanto superiore a 85 %. In **Tabella 4.3** sono riportate le percentuali di mortalità degli organismi e la stima della tossicità.

Tab. 4.3- Mortalità di *C. orientale* osservate nei sedimenti

Campione	Numero organismi esposti	Mortalità media (%)	Mortalità corretta Abbott (%)	Colonna Tossicità
Controllo metodologico	100	1 ± 3,18	0	-
MC1/0-50	100	1 ± 3,18	0	A
MC1/100-200	100	3 ± 6,09	2	A
MC2/0-50	100	3 ± 3,18	2	A
MC2/100-200	100	1 ± 3,18	0	A
MC3/0-50	100	2 ± 3,67	1	A
MC3/100-200	100	2 ± 3,67	1	A
MC4/0-50	100	9 ± 10,86	8	A
MC4/100-200	100	1 ± 3,18	0	A
MC5/0-50	100	2 ± 3,67	1	A
MC5/100-200	100	5 ± 3,18	4	A

Campione	Numero organismi esposti	Mortalità media (%)	Mortalità corretta Abbott (%)	Colonna Tossicità
MC6/0-50	100	1 ± 3,18	0	A
MC6/100-200	100	2 ± 3,67	1	A
MC7/0-50	100	3 ± 6,09	2	A
MC7/100-200	100	1 ± 3,18	0	A
MC8/0-50	100	3 ± 3,18	2	A
MC8/100-200	100	1 ± 3,18	0	A
MC9/0-50	100	2 ± 3,67	1	A
MC9/100-200	100	2 ± 3,67	1	A
MC10/0-50	100	7 ± 10,86	6	A
MC10/100-200	100	2 ± 3,67	1	A
MC11/0-50	100	2 ± 3,67	1	A
MC11/100-200	100	4 ± 5,19	3	A
MC12/0-50	100	3 ± 3,18	2	A
MC12/100-200	100	2 ± 3,67	1	A
MC13/0-50	100	4 ± 5,19	3	A
MC13/100-200	100	21 ± 8,00	20	B
MC14/0-50	100	7 ± 10,86	6	A
MC14/100-200	100	1 ± 3,18	0	A
MC15/0-50	100	2 ± 3,67	1	A
MC15/100-200	100	2 ± 6,36	1	A
MC16/0-50	100	4 ± 5,19	3	A
MC16/100-200	100	4 ± 5,19	3	A
MC17/0-50	100	4 ± 7,34	3	A
MC17/100-200	100	5 ± 6,09	4	A
MC18/0-50	100	2 ± 3,67	1	A
MC18/100-200	100	2 ± 3,67	1	A
MC19/0-50	100	4 ± 0,00	3	A
MC19/100-200	100	5 ± 6,09	4	A
MC20/0-50	100	1 ± 3,18	0	A
MC20/100-200	100	2 ± 3,67	1	A
MC21/0-50	100	3 ± 3,18	2	A
MC21/100-200	100	3 ± 6,09	2	A
MC22/0-50	100	3 ± 3,18	3	A
MC22/100-200	100	4 ± 0,00	3	A
MC23/0-50	100	1 ± 3,18	0	A
MC23/100-200	100	1 ± 3,18	0	A
MC24/0-50	100	1 ± 3,18	0	A
MC24/100-200	100	4 ± 5,19	3	A
MC29/0-50	100	15 ± 8,00	14	A
MC29/100-200	100	21 ± 8,00	20	B
MC30/0-50	100	12 ± 5,19	11	A
MC30/100-200	100	14 ± 6,36	13	A
MC31/0-50	100	20 ± 5,19	19	B
MC31/100-200	100	21 ± 3,18	20	B
MC32/0-50	100	14 ± 3,67	13	A
MC32/100-200	100	10 ± 6,36	9	A
MC33/0-50	100	9 ± 12,04	8	A
MC33/100-200	100	16 ± 8,99	15	B
MC34/0-50	100	18 ± 8,21	17	B
MC34/100-200	100	3 ± 3,18	2	A

Campione	Numero organismi esposti	Mortalità media (%)	Mortalità corretta Abbott (%)	Colonna Tossicità
MC35/0-50	100	20 ± 5,19	19	B
MC35/100-200	100	15 ± 6,09	14	A
MC36/0-50	100	19 ± 8,00	18	B
MC37/0-50	100	15 ± 8,00	14	A
MC38/0-50	100	15 ± 6,09	14	A
MC39/0-50	100	17 ± 3,18	16	B
MC40/0-50	100	8 ± 5,19	7	A
MC51/0-50	100	16 ± 8,99	15	B
MC51/100-200	100	8 ± 5,19	7	A

Le percentuali di organismi morti rilevate dopo l'esposizione per 10 giorni, evidenziano nei sedimenti MC13/100-200, MC29/100-200, MC31/0-50, MC31/100-200, MC33/100-200, MC34/0-50, MC35/0-50, MC36/0-50, MC39/0-50 e MC51/0-50, la presenza di tossicità acuta media. Nei sedimenti restanti non si rileva la presenza di tossicità.

Saggio biologico con *Paracentrotus lividus*

In **Tabella 4.4** sono riportati i parametri registrati negli elutriati estratti dai sedimenti e utilizzati nel test di spermotossicità con *P. lividus*.

Tab. 4.4 - Parametri registrati negli elutriati

Campione	Salinità (‰)	pH	Ossigeno disciolto (mg/l)
Controllo metodologico	36	8,20	7,52
MC1/0-50	35	7,90	7,24
MC1/100-200	37	8,17	7,39
MC2/0-50	38	8,25	7,69
MC2/100-200	36	8,26	7,70
MC3/0-50	36	8,28	7,92
MC3/100-200	37	8,13	7,90
MC4/0-50	35	8,27	7,92
MC4/100-200	36	8,05	7,85
MC5/0-50	37	8,17	7,68
MC5/100-200	37	8,18	7,57
MC6/0-50	37	8,27	7,92
MC6/100-200	38	8,17	7,89
MC7/0-50	34	7,96	7,67
MC7/100-200	34	8,00	7,64
MC8/0-50	37	8,22	7,43
MC8/100-200	34	7,91	7,34
MC9/0-50	37	8,20	7,15
MC9/100-200	37	8,20	7,25
MC10/0-50	35	8,13	7,19
MC10/100-200	37	8,09	7,43
MC11/0-50	34	8,16	7,37
MC11/100-200	35	7,86	7,31
MC12/0-50	36	8,18	7,36
MC12/100-200	38	8,09	7,29
MC13/0-50	35	7,94	7,24
MC13/100-200	37	8,04	7,18
MC14/0-50	37	7,95	7,13
MC14/100-200	37	8,11	7,28
MC15/0-50	37	8,07	7,27
MC15/100-200	37	7,85	7,31
MC16/0-50	34	7,75	7,26
MC16/100-200	36	8,23	7,11
MC17/0-50	36	8,11	7,04
MC17/100-200	37	8,12	7,29
MC18/0-50	36	8,07	7,40
MC18/100-200	36	7,94	7,58
MC19/0-50	37	8,02	7,50
MC19/100-200	36	8,16	7,55
MC20/0-50	37	7,83	7,41
MC20/100-200	36	7,88	7,51
MC21/0-50	36	8,14	7,40
MC21/100-200	37	7,98	7,41

Campione	Salinità (%)	pH	Ossigeno disciolto (mg/l)
MC22/0-50	36	8,09	7,47
MC22/100-200	36	7,92	7,51
MC23/0-50	37	7,84	7,32
MC23/100-200	37	8,08	7,46
MC24/0-50	37	8,14	7,24
MC24/100-200	38	8,13	7,53
MC29/0-50	36	8,27	7,54
MC29/100-200	36	8,37	7,42
MC30/0-50	37	8,17	7,31
MC30/100-200	38	8,15	7,25
MC31/0-50	38	7,87	7,09
MC31/100-200	37	7,80	7,18
MC32/0-50	37	7,94	7,21
MC32/100-200	37	7,98	7,18
MC33/0-50	38	8,17	7,32
MC33/100-200	38	8,18	7,27
MC34/0-50	38	7,96	7,41
MC34/100-200	38	8,14	7,35
MC35/0-50	35	8,24	7,51
MC35/100-200	37	8,18	7,33
MC36/0-50	35	8,19	7,16
MC37/0-50	37	8,17	7,08
MC38/0-50	35	8,18	7,14
MC39/0-50	38	8,14	7,33
MC40/0-50	37	7,89	7,22
MC51/0-50	36	8,18	7,28
MC51/100-200	37	7,90	7,17

QA-QC – Il test eseguito con la sostanza di riferimento (Cu^{++}) ha fornito una EC_{50} di $28,28 \mu\text{g l}^{-1}$ di Cu ($\text{LC}=26,94 \mu\text{g/l}$ e $\text{UC}=29,68 \mu\text{g/l}$), che rientra nei limiti della carta di controllo del laboratorio. La percentuale media di fecondazione nel campione di controllo è risultata pari a ($83 \pm 1,00 \%$), valore adeguato per l'accettabilità del test in quanto compresa tra 70% e 95% .

In **Tabella 4.3** si riportano le percentuali di larve malformate e la stima dell' EC_{20} e/o EC_{50} e la classe di tossicità.

Tab. 4.3 - Risultati del saggio biologico di spermotossicità con *P. lividus*

Campione	Conc. (%)	Media uova fecondate (% \pm dev.st.)	Uova non fecondate (%)	Uova non fecondate Abbott	EC_{20} (%)	EC_{50} (%)	Tossicità
Controllo	-	$83 \pm 1,00$	17	0	-	-	-
MC1/0-50	100	$76 \pm 1,53$	24	9	> 90	>100	A
	50	$79 \pm 1,15$	21	5			
	25	$81 \pm 1,15$	19	3			
MC1/100-200	100	$71 \pm 1,00$	29	14	> 90	>100	A
	50	$76 \pm 0,58$	24	9			
	25	$82 \pm 1,15$	18	2			
MC2/0-50	100	$76 \pm 1,00$	24	8	> 90	>100	A
	50	$77 \pm 3,06$	23	7			
	25	$81 \pm 0,58$	19	2			

Campione	Conc. (%)	Media uova fecondate (% ± dev.st.)	Uova non fecondate (%)	Uova non fecondate Abbott	EC20 (%)	EC50 (%)	Tossicità
MC2/100-200	100	74 ± 1,53	26	11	> 90	>100	A
	50	77 ± 1,53	23	7			
	25	81 ± 1,00	19	2			
MC3/0-50	100	75 ± 1,53	25	10	> 90	>100	A
	50	79 ± 0,58	21	5			
	25	81 ± 1,15	19	3			
MC3/100-200	100	77 ± 1,15	23	8	> 90	>100	A
	50	80 ± 1,15	20	4			
	25	81 ± 1,00	19	2			
MC4/0-50	100	77 ± 0,58	23	8	> 90	>100	A
	50	80 ± 0,58	20	4			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC4/100-200	100	77 ± 1,15	23	7	> 90	>100	A
	50	80 ± 1,00	20	4			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC5/0-50	100	76 ± 0,58	24	8	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,53	21	5			
	25	81 ± 0,58	19	2			
MC5/100-200	100	74 ± 1,53	26	11	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,53	21	5			
	25	81 ± 1,15	19	2			
MC6/0-50	100	75 ± 0,58	25	9	> 90	>100	A
	50	80 ± 1,00	20	4			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC6/100-200	100	77 ± 1,15	23	7	> 90	>100	A
	50	80 ± 0,58	20	4			
	25	82 ± 0,58	18	1			
MC7/0-50	100	76 ± 1,15	24	8	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,53	21	5			
	25	82 ± 1,53	18	1			
MC7/100-200	100	77 ± 1,15	23	7	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,00	21	5			
	25	81 ± 1,00	19	2			
MC8/0-50	100	74 ± 1,53	26	10	> 90	>100	A
	50	78 ± 1,15	22	6			
	25	81 ± 1,15	19	2			
MC8/100-200	100	70 ± 2,00	30	16	> 90	>100	A
	50	76 ± 1,53	24	8			
	25	81 ± 1,53	19	2			
MC9/0-50	100	72 ± 2,08	28	13	> 90	>100	A
	50	78 ± 1,53	22	6			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC9/100-200	100	74 ± 0,58	26	11	> 90	>100	A
	50	78 ± 1,53	22	6			
	25	81 ± 1,53	19	2			
MC10/0-50	100	77 ± 0,58	23	7	> 90	>100	A
	50	80 ± 0,58	20	3			
	25	82 ± 1,73	18	1			

Campione	Conc. (%)	Media uova fecondate (% \pm dev.st.)	Uova non fecondate (%)	Uova non fecondate Abbott	EC20 (%)	EC50 (%)	Tossicità
MC10/100-200	100	76 \pm 0,58	24	9	> 90	>100	A
	50	79 \pm 0,58	21	4			
	25	81 \pm 1,53	19	2			
MC11/0-50	100	77 \pm 1,15	23	7	> 90	>100	A
	50	80 \pm 1,53	20	4			
	25	82 \pm 0,58	18	1			
MC11/100-200	100	74 \pm 2,00	26	11	> 90	>100	A
	50	79 \pm 1,53	21	5			
	25	83 \pm 1,15	17	0			
MC12/0-50	100	77 \pm 0,58	23	7	> 90	>100	A
	50	80 \pm 0,58	20	4			
	25	82 \pm 1,73	18	1			
MC12/100-200	100	73 \pm 1,53	27	12	> 90	>100	A
	50	79 \pm 1,73	21	5			
	25	81 \pm 1,15	19	2			
MC13/0-50	100	75 \pm 1,73	25	10	> 90	>100	A
	50	80 \pm 1,15	20	4			
	25	81 \pm 1,15	19	2			
MC13/100-200	100	77 \pm 1,53	23	8	> 90	>100	A
	50	79 \pm 1,15	21	4			
	25	82 \pm 1,15	18	2			
MC14/0-50	100	77 \pm 0,58	23	7	> 90	>100	A
	50	79 \pm 2,08	21	4			
	25	82 \pm 1,73	18	1			
MC14/100-200	100	77 \pm 1,00	23	7	> 90	>100	A
	50	80 \pm 1,53	20	4			
	25	82 \pm 0,58	18	1			
MC15/0-50	100	74 \pm 2,00	26	11	> 90	>100	A
	50	79 \pm 1,15	21	4			
	25	82 \pm 1,53	18	2			
MC15/100-200	100	68 \pm 2,00	32	18	> 90	>100	A
	50	79 \pm 1,53	21	4			
	25	82 \pm 1,15	18	2			
MC16/0-50	100	68 \pm 2,08	32	18	> 90	>100	A
	50	78 \pm 1,53	22	6			
	25	81 \pm 1,53	19	2			
MC16/100-200	100	75 \pm 1,00	25	10	> 90	>100	A
	50	79 \pm 1,53	21	4			
	25	82 \pm 1,53	18	2			
MC17/0-50	100	77 \pm 0,58	23	7	> 90	>100	A
	50	80 \pm 0,58	20	4			
	25	83 \pm 0,58	17	0			
MC17/100-200	100	75 \pm 1,15	25	9	> 90	>100	A
	50	80 \pm 1,15	20	4			
	25	82 \pm 1,53	18	2			
MC18/0-50	100	72 \pm 0,58	28	14	> 90	>100	A
	50	79 \pm 1,53	21	5			
	25	81 \pm 0,58	19	2			

Campione	Conc. (%)	Media uova fecondate (% ± dev.st.)	Uova non fecondate (%)	Uova non fecondate Abbott	EC20 (%)	EC50 (%)	Tossicità
MC18/100-200	100	66 ± 2,08	34	21	> 90	>100	A
	50	78 ± 2,00	22	6			
	25	81 ± 1,53	19	2			
MC19/0-50	100	75 ± 1,15	25	9	> 90	>100	A
	50	79 ± 2,00	21	5			
	25	82 ± 1,15	18	1			
MC19/100-200	100	78 ± 0,58	22	6	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,15	21	4			
	25	83 ± 0,58	17	0			
MC20/0-50	100	70 ± 1,00	30	16	> 90	>100	A
	50	77 ± 1,53	23	7			
	25	82 ± 1,15	18	2			
MC20/100-200	100	75 ± 1,15	25	9	> 90	>100	A
	50	79 ± 0,58	21	4			
	25	81 ± 1,15	19	1			
MC21/0-50	100	77 ± 0,58	23	7	> 90	>100	A
	50	80 ± 1,53	20	4			
	25	82 ± 0,58	18	1			
MC21/100-200	100	60 ± 1,53	40	28	77,2	>100	B
	50	75 ± 1,53	25	10			
	25	81 ± 1,15	19	3			
MC22/0-50	100	68 ± 1,00	32	18	> 90	>100	A
	50	76 ± 1,53	24	9			
	25	82 ± 1,15	18	2			
MC22/100-200	100	76 ± 1,53	24	9	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,00	21	5			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC23/0-50	100	73 ± 1,15	27	12	> 90	>100	A
	50	79 ± 0,58	21	5			
	25	82 ± 0,58	18	2			
MC23/100-200	100	67 ± 2,08	33	19	> 90	>100	A
	50	76 ± 1,53	24	9			
	25	81 ± 0,58	19	3			
MC24/0-50	100	74 ± 2,00	26	11	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,53	21	5			
	25	81 ± 1,53	19	2			
MC24/100-200	100	66 ± 0,58	34	21	> 90	>100	A
	50	76 ± 1,53	24	9			
	25	81 ± 1,15	19	2			
MC29/0-50	100	42 ± 2,00	58	49	64,1	>100	B
	50	74 ± 1,53	26	10			
	25	81 ± 1,15	19	3			
MC29/100-200	100	38 ± 1,53	62	55	56,2	93,9	C
	50	70 ± 1,53	30	15			
	25	80 ± 1,53	20	3			
MC30/0-50	100	75 ± 1,53	25	10	> 90	>100	A
	50	78 ± 1,53	22	6			
	25	82 ± 1,73	18	1			

Campione	Conc. (%)	Media uova fecondate (% ± dev.st.)	Uova non fecondate (%)	Uova non fecondate Abbott	EC20 (%)	EC50 (%)	Tossicità
MC30/100-200	100	72 ± 2,00	28	13	> 90	>100	A
	50	78 ± 2,08	22	6			
	25	82 ± 0,58	18	2			
MC31/0-50	100	62 ± 0,58	38	26	77,8	>100	B
	50	73 ± 1,73	27	12			
	25	81 ± 1,73	19	2			
MC31/100-200	100	65 ± 1,53	35	22	84,5	>100	B
	50	72 ± 1,53	28	14			
	25	80 ± 1,53	20	3			
MC32/0-50	100	73 ± 1,53	27	12	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,15	21	4			
	25	82 ± 0,58	18	2			
MC32/100-200	100	72 ± 2,00	28	13	> 90	>100	A
	50	78 ± 1,53	22	6			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC33/0-50	100	70 ± 2,08	30	15	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,53	21	5			
	25	81 ± 1,15	19	3			
MC33/100-200	100	71 ± 1,73	29	14	> 90	>100	A
	50	78 ± 1,73	22	6			
	25	81 ± 1,53	19	2			
MC34/0-50	100	74 ± 1,53	26	11	> 90	>100	A
	50	79 ± 2,00	21	5			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC34/100-200	100	75 ± 1,53	25	10	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,00	21	5			
	25	81 ± 2,08	19	2			
MC35/0-50	100	75 ± 1,15	25	9	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,15	21	4			
	25	82 ± 1,53	18	2			
MC35/100-200	100	69 ± 1,53	31	17	> 90	>100	A
	50	77 ± 1,53	23	8			
	25	82 ± 0,58	18	2			
MC36/0-50	100	72 ± 1,53	28	14	> 90	>100	A
	50	77 ± 1,53	23	7			
	25	81 ± 1,15	19	2			
MC37/0-50	100	69 ± 1,15	31	17	> 90	>100	A
	50	77 ± 1,73	23	7			
	25	81 ± 1,53	19	2			
MC38/0-50	100	78 ± 0,58	22	6	> 90	>100	A
	50	80 ± 0,58	20	4			
	25	82 ± 1,15	18	2			
MC39/0-50	100	74 ± 2,08	26	10	> 90	>100	A
	50	79 ± 1,53	21	5			
	25	81 ± 0,58	19	2			
MC40/0-50	100	75 ± 1,00	25	10	> 90	>100	A
	50	79 ± 2,00	21	5			
	25	81 ± 1,15	19	2			

Campione	Conc. (%)	Media uova fecondate (% \pm dev.st.)	Uova non fecondate (%)	Uova non fecondate Abbott	EC20 (%)	EC50 (%)	Tossicità
MC51/0-50	100	68 \pm 0,58	32	18	> 90	>100	A
	50	76 \pm 1,53	24	9			
	25	81 \pm 1,15	19	3			
MC51/100-200	100	74 \pm 1,15	26	10	> 90	>100	A
	50	80 \pm 1,53	20	4			
	25	82 \pm 1,73	18	1			

Nella maggior parte dei campioni non si osserva tossicità acuta. I valori dell'EC20 relativi agli elutriati dei sedimenti MC21/100-200, MC29/0-50, MC31/0-50 e MC31/100-200 mostrano una tossicità media. Nell'elutriato MC29/100-200 si osserva un'elevata tossicità.

Valutazione complessiva della tossicità: quadro sinottico

Campione	Colonna Tossicità <i>V. fischeri</i>	Colonna Tossicità <i>C. orientale</i>	Colonna Tossicità <i>P. lividus</i>	Colonna Tossicità complessiva
MC1/0-50	A	A	A	A
MC1/100-200	A	A	A	A
MC2/0-50	A	A	A	A
MC2/100-200	A	A	A	A
MC3/0-50	A	A	A	A
MC3/100-200	A	A	A	A
MC4/0-50	A	A	A	A
MC4/100-200	A	A	A	A
MC5/0-50	A	A	A	A
MC5/100-200	A	A	A	A
MC6/0-50	A	A	A	A
MC6/100-200	A	A	A	A
MC7/0-50	A	A	A	A
MC7/100-200	A	A	A	A
MC8/0-50	A	A	A	A
MC8/100-200	A	A	A	A
MC9/0-50	A	A	A	A
MC9/100-200	A	A	A	A
MC10/0-50	A	A	A	A
MC10/100-200	A	A	A	A
MC11/0-50	A	A	A	A
MC11/100-200	A	A	A	A
MC12/0-50	A	A	A	A
MC12/100-200	A	A	A	A
MC13/0-50	A	A	A	A
MC13/100-200	A	B	A	B
MC14/0-50	A	A	A	A
MC14/100-200	A	A	A	A
MC15/0-50	A	A	A	A
MC15/100-200	A	A	A	A
MC16/0-50	A	A	A	A
MC16/100-200	A	A	A	A
MC17/0-50	A	A	A	A
MC17/100-200	A	A	A	A

Campione	Colonna Tossicità <i>V. fischeri</i>	Colonna Tossicità <i>C. orientale</i>	Colonna Tossicità <i>P. lividus</i>	Colonna Tossicità complessiva
MC18/0-50	A	A	A	A
MC18/100-200	A	A	A	A
MC19/0-50	A	A	A	A
MC19/100-200	A	A	A	A
MC20/0-50	A	A	A	A
MC20/100-200	A	A	A	A
MC21/0-50	A	A	A	A
MC21/100-200	A	A	B	B
MC22/0-50	A	A	A	A
MC22/100-200	A	A	A	A
MC23/0-50	A	A	A	A
MC23/100-200	A	A	A	A
MC24/0-50	A	A	A	A
MC24/100-200	A	A	A	A
MC29/0-50	A	A	B	B
MC29/100-200	A	B	C	C
MC30/0-50	A	A	A	A
MC30/100-200	A	A	A	A
MC31/0-50	A	B	B	B
MC31/100-200	A	B	B	B
MC32/0-50	A	A	A	A
MC32/100-200	A	A	A	A
MC33/0-50	A	A	A	A
MC33/100-200	A	B	A	B
MC34/0-50	A	B	A	B
MC34/100-200	A	A	A	A
MC35/0-50	A	B	A	B
MC35/100-200	A	A	A	A
MC36/0-50	A	B	A	B
MC37/0-50	A	A	A	A
MC38/0-50	A	A	A	A
MC39/0-50	A	B	A	B
MC40/0-50	A	A	A	A
MC51/0-50	A	B	A	B
MC51/100-200	A	A	A	A



Allegato

Daily Report controllo attività di carotaggio e campionamento



PORT OF CARRARA
PORT AUTHORITY



DAILY REPORT DELLE OPERAZIONI DI CAROTAGGIO E CAMPIONAMENTO NEL PORTO DI CARRARA

Data: 27/02/2015

Operatore: A. VANNUCCI / R. OLIVA

ORA:	DESCRIZIONE ATTIVITA'
8:30	ARRIVO A BANCHINA FORLUO. PRIMA CAROTA (MC 9) GIÀ ESTRATTA E CAMPIONATA. SI RICEVE INCONTRO X SACCHI DA PUNUCCI
8:50	INIZIO CAROTABO MC 8 - FINE CAROTABO ORE 10:00 RECUPERO 90% FINE CAMPIONAMENTO 10:00
9:40	INIZIO CAROTABO MC 7 - FINE CAR. ORE 9:50 REC 90% FINE CAMPIONAM. 10:45
10:20	INIZ. CAROTABO MC 4 - FINE CAROT. 10:30 REC 90% FINE CAMP. 11:40
10:53	INIZ. CAROT. MC 2 - FINE CAROT. 11:00 REC 90% FINE CAMP. 13:50 [RI-SPOSTATO X LAVORO A BANCHINA DELLA NAUVE SUP. I.T.R.]
11:30	INIZ. CAROT. MC 3 - FINE CAROT. 11:40 REC 90% FINE CAMP. 14:30
12:00/13:30	PAUSA PRANZO
13:50	INIZIO CAROT. MC 6 - FINE CAROT. 14:00 REC 90% FINE CAMP. 15:07
14:15	INIZ. CAROT. MC 4 - FINE CAR. 14:25 REC 90% FINE CAMP. 15:50
15:00	INIZ. CAROT. MC 5 - FINE 15:20 REC 90% FINE CAMP. 16:30
16:50	FINE LAVORO

Firma

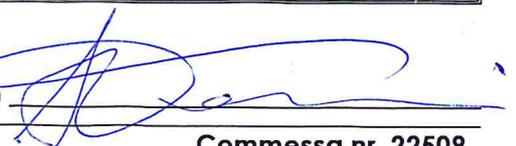
DAILY REPORT DELLE OPERAZIONI DI CAROTAGGIO E CAMPIONAMENTO NEL PORTO DI CARRARA

Data: 04/03/2015

Operatore: A. Vannucci

ORA:	DESCRIZIONE ATTIVITA'
7:00	ARRIVO A RAVENNA E IMBARCO SU PONTONE
7:15	MI VADO CON S. EGIZIA I CARPONI: MC19/0-50; MC19/100-250; DA PENNACCI MC20/0-50; MC20/100-200; MC21/0-50; MC21/100-200; MC22/0-50; MC22/100-200. FINE DEL LAVORO DEL PORTONE DEL 03/03/15
7:45-7:55	INIZIO COT. MC 18. 90%
	FINE COT 9:00 250 m
8:15-8:25	COT MC 17 90%
	FINE COT 10:20 300 m
9:55-10:15	COT MC 16 90%
	MC 16 300 m
10:25-10:35	COT MC 15 90%
	FINE 12:40 450 m
10:35-10:45	COT MC 14 250 m
20 MIN	PAUSA PER POCHE
13:00	SBARCO

Firma



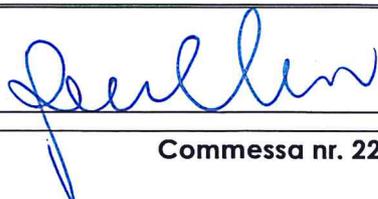


DAILY REPORT DELLE OPERAZIONI DI CAROTAGGIO E CAMPIONAMENTO NEL PORTO DI CARRARA

Data: 05.03.2015

Operatore: Mignani Riccardo

ORA:	DESCRIZIONE ATTIVITA'
7:00	Littorale in BANCHINA - A cause delle condizioni meteo sfavorevoli viene deciso di non iniziare le attività di carotaggio. Si procede con le campionature delle corote MC 14 e MC 16 eseguite da ieri date 04.03.15. Al termine vengono prelevati i campioni di "fondo scuro" dagli spettromi di carotaggio rimasti ancora non campionati all'interno dei bins.
10:30	fine delle attività di campionamento. Si decide di appostarsi alle ore 13:00 per una eventuale uscita nel caso di cambiamento delle condizioni meteo.

Firma 



DAILY REPORT DELLE OPERAZIONI DI CAROTAGGIO E CAMPIONAMENTO NEL PORTO DI CARRARA

Data: 06.03.2015

Operatore: Mancini Riccardo

ORA:	DESCRIZIONE ATTIVITA'
7:00	Ritorno in BANCHINA - ATTIVITA' di Carotaggio Sospesa per condizioni meteo sfavorevoli. Si rimanda a dopo.
10:00	Appuntamento: Ritorno in BANCHINA per le ore 11:30
11:30	Ritorno in BANCHINA
12:00	MONTA OREGGIA e STAGLIANDO PONTE MC 12. EFFETTUATO CAROTAGGIO (12:40 - 12:50)
13:10	INIZIO CAROTAGGIO MC 10 (PACI)
13:35	" " MC 11 / FINE PRELIEVI MC 12
14:10	FINE PRELIEVI MC 10 / INIZIO CAROTAGGIO MC 13
14:40	FINE PRELIEVI SU MC 11
15:20	EFFETTUATO CAROTAGGIO MC 41 (CON FATTI: 1 PRELIEVI dei CAMPIONI)
15:40	EFFETTUATO CAROTAGGIO MC 40
16:10	" " MC 39
17:00	OREGGIA

Firma



PORT OF CARRARA
PORT AUTHORITY



DAILY REPORT DELLE OPERAZIONI DI CAROTAGGIO E CAMPIONAMENTO NEL PORTO DI CARRARA

Data: 03.03.2014

Operatore: Richard Picceroni

ORA:	DESCRIZIONE ATTIVITA'
6:50	Partenza in Barca
7:00	Raccolta OMSGAI
7:40	RAGGIUNTO PUNTO MC 34 - INIZIO CAROTAGGIO
8:20	FINE OPERAZIONI SU MC 34 e inizio
	SU MC 33 - PRELIEVO CAMPIONI SU MC 34
8:40	FINE LAVORI SU MC 33 - RAGGIUNTO PUNTO
	MC 32. - CAROTAGGIO - PRELIEVO CAMPIONI SU MC 33
10:00	SU MC 31 - CAROTAGGIO e PRELIEVO
	CAMPIONI di MC 32
10:50	INIZIO CAROTAGGIO A MC 30
12:00	CAROTAGGIO SUL PUNTO MC 31
12:50	CAROTAGGIO SU MC 29.
13:20	OMSGAI - PAUSA
14:10	INIZIO di ATTIVITA' di PRELIEVO CAMPIONI
	SU MC 30, MC 31, MC 29
16:20	FINE ATTIVITA'

Firma

Picceroni