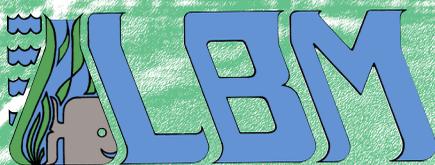


*Valutazione degli effetti
dello scarico in mare
delle acque di
raffreddamento della
centrale cogenerativa di
Servola*

***** Relazione *****

Giugno 2003



Laboratorio di Biologia Marina

Via Auguste Piccard 54
34010 Trieste

www.univ.trieste.it/~mabiolab/

Sommario

1 INTRODUZIONE	1
1.1 AREA DI STUDIO	2
1.2 DISTRIBUZIONE DELLE STAZIONI E PARAMETRI INDAGATI	4
2 MATERIALI E METODI	7
2.1 PARAMETRI METEOROLOGICI	7
2.2 CAMPIONAMENTO DELLA COLONNA D'ACQUA	7
2.2.1 PARAMETRI FISICO-CHIMICI	7
Parametri idrologici	7
Ossigeno disciolto	7
Cloro residuo	7
Clorofilla a e feopigmenti	7
2.2.2 PARAMETRI BIOLOGICI	8
Produzione Primaria	8
Respirazione planctonica	9
(ETS) Electron transport system	9
Test di tossicità	10
Microfitoplancton	10
2.3 CAMPIONAMENTO DEI SEDIMENTI	11
2.3.1 PARAMETRI FISICO-CHIMICI	11
Granulometria	11
Carbonio organico e azoto totale	11
Sostanza organica labile - LOM (Labile Organic Matter)	12
2.3.2 PARAMETRI BIOLOGICI	12
Abbondanza batterica	12
Produzione batterica	13
Attività esoenzimatica	14
Meiobenthos	14
Macrozoobenthos	15
3 CARATTERISTICHE DELLA COLONNA D'ACQUA	16
3.1 IDROLOGIA	16
Caratteristiche termoline	16
Ossigeno disciolto e clorofilla da sonda multiparametrica	17
Irradianza PAR e fluorescenza naturale	18
3.2 CHIMICA	19
Ossigeno disciolto	19
Cloro residuo	22
3.3 CLOROFILLA <i>a</i> E FEOPIGMENTI	24
3.4 PRODUZIONE PRIMARIA	26

3.5 RESPIRAZIONE	27
3.6 ELECTRON TRANSPORT SYSTEM (ETS)	30
3.7 TESTS DI TOSSICITÀ.....	33
3.8 COMUNITÀ FITOPLANCTONICA	38
4 CARATTERISTICHE DEL SEDIMENTO	41
4.1 GRANULOMETRIA, CARBONIO E AZOTO	41
4.2 MATERIA ORGANICA LABILE (LOM)	42
4.3 MICROBIOLOGIA DEL SEDIMENTO	46
4.4 COMUNITÀ MEIOBENTONICA	51
4.5 COMUNITÀ MACROBENTONICA	54
5 CONCLUSIONI	59
6 BIBLIOGRAFIA	62

Responsabile della ricerca: prof.ssa Serena Fonda Umani
direttore del Laboratorio di Biologia Marina

Partecipanti alla ricerca

Idrologia: dott. Massimo Celio
dott. Andra Bussani
dott.ssa Cinzia Comici
dott. Fabio Voltolina

Chimica: dott. Sergio Predonzani
sig. Alessandro Acquavita
dott. Francesco De Prà
dott.ssa Cinzia De Vittor
dott. Francesco Tamberlich

**Produzione primaria
e fitoplancton:** dott.ssa Marina Cabrini
dott.ssa Barbara Lazzarini
dott.ssa Irene Pecchiar
dott. Damiano Virgilio

Tests di tossicità: dott. Francesco Tamberlic

Microbiologia: dott.ssa Paola Del Negro
dott.ssa Erica Crevatin
dott.ssa Cinzia Fabbro
dott.ssa Chiara Larato

Meio- e macrobenthos: dott.ssa Floriana Aleffi
dott. Nicola Bettoso

Realizzazione grafica: dott. Pietro Rossin

1 INTRODUZIONE

Lo scarico nell'ambiente marino delle acque calde, provenienti dagli impianti di raffreddamento delle centrali termoelettriche, può essere responsabile di incrementi localizzati della temperatura nel bacino acqueo ricevente (Bamber 1995). L'entità di queste modificazioni dipenderà essenzialmente dall'idrodinamismo del bacino ricevente e dalla tipologia e localizzazione dello scarico. Le acque scaricate dagli impianti di raffreddamento, essendo più calde e quindi meno dense, tendono a rimanere confinate nello strato superficiale del bacino e a dissipare il loro calore per mezzo dell'azione di rimescolamento con la colonna d'acqua e di scambio termico con l'atmosfera, in maniera tanto più efficace quanto maggiore è l'idrodinamismo dell'area.

Gli effetti dello scarico di acque calde sugli organismi marini possono essere distinti in effetti diretti ed indiretti (Bamber 1995). Gli effetti di tipo diretto comprendono generalmente un cambiamento nel regime termico della colonna d'acqua dell'ambiente ricevente, e talora del sedimento, tale da determinare situazioni di stress o morte per gli organismi marini, o viceversa stimolarne la produttività. Inoltre si può verificare una riduzione dei livelli di saturazione dell'ossigeno disciolto, accompagnata da una minore resa nel trasporto dello stesso nella colonna d'acqua sottostante, con effetti limite di ipossia e/o anossia al fondo.

Gli effetti di tipo indiretto riguardano tutte quelle modificazioni che portano a cambiamenti nella distribuzione e nella composizione degli organismi marini insediati o residenti (Bamber 1995). Quando la temperatura è troppo elevata, o troppo bassa, interferisce con le funzionalità enzimatiche e metaboliche degli organismi, ed anche alcuni processi mediati dai batteri, quali la nitrificazione e la denitrificazione, risultano influenzati dall'aumento della temperatura: ad esempio un incremento di circa 10°C comporta un raddoppiamento dell'attività batterica ed influisce sulla produttività fitoplanctonica (Langford 1990, Langford et al. 1998).

Le acque che vengono immesse nelle centrali sono generalmente addizionate di sostanze antifouling o biocidi per evitare l'insediamento di alghe e larve nei circuiti, che riducono l'efficienza del flusso d'acqua. Queste sostanze tossiche possono giungere fino al bacino ricevente, causando, a seconda della loro concentrazione, effetti nocivi sia sui microrganismi (batteri, alghe), sia sugli organismi di dimensioni maggiori quali molluschi, policheti e crostacei (Junli et al. 1997).

Le influenze antropiche sull'ambiente marino non inducono sempre modificazioni macroscopiche, rilevabili a breve termine. L'adattamento degli organismi e l'effetto tampone del sistema consentono, infatti, il superamento rapido delle fasi acute di stress e soltanto una cronicizzazione dei fenomeni negativi può determinare alterazioni durevoli negli equilibri del sistema.

Alcuni studi effettuati per valutare l'impatto degli scarichi di raffreddamento delle centrali termoelettriche hanno evidenziato, infatti, effetti diversi sull'ambiente marino a seconda dell'area geografica interessata. Nel Golfo di La Spezia gli scarichi termici delle centrali termoelettriche di Vado Ligure e Vallegrande non hanno apportato modificazioni ambientali (<http://ecozero.liguriainrete.it>) e neppure la centrale termoelettrica del Golfo di Follonica

sembra avere influenzato i popolamenti bentonici della zona (Lardicci et al. 1999). Al contrario, altri autori evidenziano effetti negativi di questo tipo di scarichi sugli organismi marini, con una riduzione della diversità, un aumento delle specie opportuniste ed anche con alterazioni della dinamica stagionale delle specie più abbondanti (Verlaque et al. 1981, Dinet et al. 1982, Bamber & Spencer 1984, Suresh et al. 1993).

1.1 AREA DI STUDIO

La Baia di Muggia è un'insenatura di origine fluviale in cui sfociano due corsi d'acqua minori: il Torrente Rosandra e il Rio Ospo. La Baia è situata nella parte più orientale ed interna del Golfo di Trieste, presenta una morfologia triangolare ed ha un'estensione di circa 10 km². Un sistema di tre dighe parallele la ripara dai venti e dal moto ondoso proveniente dal III e IV quadrante, limitando l'idrodinamismo al suo interno e gli scambi con le masse d'acqua del Golfo di Trieste. La profondità varia dagli 8 ai 20 m ed il fondo marino è costituito prevalentemente da sedimenti a granulometria pelitica.

L'idrologia nel bacino è caratterizzata dall'azione di correnti di varia origine, le più importanti sono:

- correnti di gradiente (6-10 cm s⁻¹), dovute a differenze di densità; tali correnti presentano una circolazione antioraria ed interessano gli strati superficiali e subsuperficiali nel periodo di stratificazione termalina, mentre si sviluppano su tutta la colonna d'acqua in presenza di omogeneità termaline;

- correnti di deriva, dovute all'azione del vento, il quale produce principalmente un movimento superficiale di masse d'acqua in direzione perpendicolare rispetto a quella di provenienza del vento stesso. E' importante notare che venti del I quadrante (Bora) producono correnti superficiali uscenti dal bacino e un richiamo di masse d'acqua negli strati prossimi al fondo. Queste correnti possono raggiungere valori massimi di 50-80 cm s⁻¹;

- correnti di marea e di sessa, producono un movimento periodico entrante ed uscente delle masse d'acqua dal bacino ed interessano tutta la colonna d'acqua. La loro intensità è inferiore a 10 cm s⁻¹;

- correnti dovute agli apporti fluviali del Torrente Rosandra e del Rio Ospo, interessano principalmente gli strati superficiali dell'area antistante le foci ed hanno importanza solamente durante forti piene fluviali.

In generale nella Baia le correnti agiscono in senso antiorario ma, sotto l'azione dei venti, la normale circolazione può subire modificazioni notevoli.

Le caratteristiche termaline della Baia di Muggia presentano l'evoluzione temporale tipica dell'area costiera triestina. Da ottobre-novembre fino a marzo-aprile, la colonna d'acqua appare omogenea, inizia a stratificarsi nel periodo primaverile ed estivo, durante il quale possono talvolta instaurarsi condizioni di omogeneità termica a causa dell'azione di forti venti. Le temperature massime superficiali (superiori a 27°C) si osservano in luglio ed agosto mentre le minime (inferiori a 7°C) si registrano in febbraio. La salinità è influenzata dagli apporti fluviali e dalle ingressioni della corrente istro-dalmata: i primi producono un abbassamento del tenore salino nello strato superficiale e sono più evidenti nel periodo aprile-maggio e ottobre-novembre, le seconde interessano soprattutto gli strati subsuperficiali e di fondo e sono legate alla generale circolazione dell'Alto Adriatico.

L'elevata torbidità presente nella Baia di Muggia, rispetto ad altre aree del Golfo di Trieste, è dovuta essenzialmente alla modificazione del ritmo di sedimentazione, in quanto i materiali in sospensione, portati dai corsi d'acqua, non si depositano più come un tempo negli acquitrini o saline originariamente presenti, che fungevano da bacini di decantazione (AA. VV. 1977). Il materiale detritico proveniente dai corsi d'acqua giunge direttamente a mare, determinando la diminuzione della trasparenza e trasformando le caratteristiche originali dei fondali, che vengono ricoperti da uno strato di sedimenti fini. Un ulteriore contributo all'instabilità del ritmo sedimentario è determinato dall'intenso traffico marittimo, dalla limitata circolazione delle acque all'interno del bacino indotta dalle tre dighe foranee e dalla presenza degli scarichi urbani ed industriali. Per quanto riguarda questi ultimi, fino all'inizio degli anni '80 la maggior parte dei reflui urbani venivano smaltiti, previa semplice grigliatura, all'interno della Baia. Attualmente i reflui vengono smaltiti, dopo un trattamento chimico-fisico con abbattimento del fosforo, da un sistema costituito da due condotte sottomarine, lunghe rispettivamente 6,5 e 7,5 km, il cui diffusore si trova a circa tre miglia al largo delle dighe foranee.

In una situazione in cui il ricambio idrico è limitato, sussistono le condizioni per un continuo apporto ed accumulo di sostanze inquinanti nelle acque e nei sedimenti. Le condizioni ambientali dal punto di vista chimico-fisico e batteriologico della Baia sono state oggetto di numerosi studi (AA.VV. 1977, Costa et al. 1977, Majori et al. 1978, Adami et al. 1996, Adami et al. 1997, Favretto et al. 1997, Adami et al. 1998, Adami et al. 1999, Adami et al. 2000a, Adami et al. 2000b), dai quali emerge sostanzialmente che l'inquinamento si aggrava verso l'interno della Baia, lungo un gradiente che porta via via ad un maggiore grado di confinamento del bacino e soprattutto in prossimità delle aree adibite ad attività industriali. Risultano di particolare rilievo i valori di concentrazione di metalli pesanti nel sedimento, quali rame, piombo, cadmio e zinco (Adami et al. 1996), ed i livelli di concentrazione degli idrocarburi poliaromatici (IPA) e dei bifenili policlorurati (PCB) (Adami et al. 1998). Complessivamente la Baia di Muggia è stata classificata, secondo il Piano Generale per il Risanamento delle Acque della Regione (Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia 1994), come non idonea in modo permanente alla balneazione, ad eccezione della zona meridionale che va dall'abitato di Muggia a Punta Sottile. Infine, secondo la Classificazione delle Zone di Produzione di Molluschi Bivalvi (Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia 1998), l'area compresa tra il confine di Stato e Punta Sottile risulta idonea dal punto di vista chimico-fisico e batteriologico alla mitilicoltura.

Per quanto riguarda le componenti floro-faunistiche della Baia, le ricerche sui popolamenti planctonici, iniziate nel 1976, avevano evidenziato la presenza di una comunità fitoplanctonica particolarmente abbondante all'interno della Baia, dominata prevalentemente da diatomee tipicamente neritiche, estuariali e spesso associate a condizioni di elevata trofia (Fondamenti et al. 1982). La comunità zooplanctonica era caratterizzata da elevati valori di biomassa e bassa diversità specifica (Specchi et al. 1980, 1981).

Gli organismi macrobentonici della Baia furono studiati già dalla fine del 1800 da naturalisti e biologi austriaci e tedeschi, che compilarono le prime liste di organismi marini della

zona (Stossich 1876, 1880, Graeffe 1881, 1882). Da allora, la Baia di Muggia ha subito notevoli cambiamenti della morfologia costiera e dei fondali, per cui molti habitat naturali sono completamente scomparsi.

A partire dal 1966 furono condotte ricerche con lo scopo di precisare la struttura dei popolamenti bentonici della Baia e di identificare le possibili tendenze evolutive naturali o determinate da interventi antropici (Specchi & Orel 1968, Ghirardelli et al. 1973, Orel et al. 1980). In quegli anni si era notata la presenza di una fascia azoica adiacente all'area industriale, in cui i sedimenti erano neri, maleodoranti ed intrisi di idrocarburi. I popolamenti della zona centrale della Baia si presentavano qualitativamente impoveriti e, a seguito dei dragaggi effettuati nel 1965 e 1966 per consentire il passaggio di petroliere di notevoli dimensioni, la zona risultava occupata da un popolamento paucispecifico in cui l'elemento dominante era rappresentato da *Corbula gibba*: un mollusco bivalve tipico di zone caratterizzate dall'instabilità del ritmo sedimentario. In generale, la Baia di Muggia riproponeva una successione di popolamenti bentonici simile agli schemi già noti per le aree portuali di diverse zone geografiche (AA.VV. 1977, Reish 1980, Bellan & Bourcier 1990).

Attualmente (Solis-Weiss et al. in viatico) si è registrato un sensibile miglioramento dello stato dei popolamenti grazie probabilmente al rafforzamento delle leggi per la salvaguardia dell'ambiente, che hanno portato gli scarichi urbani al di fuori della Baia, ed alla diminuita pressione industriale degli ultimi anni.

1.2 DISTRIBUZIONE DELLE STAZIONI E PARAMETRI INDAGATI

Al fine di valutare le possibili modificazioni dell'ambiente marino indotte dallo sversamento delle acque di raffreddamento della Centrale Cogenerativa di Servola è stata attuata un'indagine articolata in due fasi: la prima fase doveva fornire un quadro generale delle condizioni dell'area adiacente allo scarico, prima della messa a regime dello stesso, la seconda doveva seguire nel corso di un anno le variazioni dei principali parametri fisici, chimici e biologici nella zona presumibilmente influenzata dallo scarico e in una stazione di controllo posta all'interno della Baia.

A tale scopo sono stati considerati 4 transetti perpendicolari alla linea di costa, su ciascun transetto sono state posizionate 4 stazioni a circa 50 m, 300 m, 550 m e 1050 m dalla costa, ed una stazione più al largo in prossimità delle dighe, non influenzata dallo scarico (tab. 1.2.1, fig. 1.2.1).

Stazione	Long.	Lat.
M1	13° 46',73	45° 37',07
M2	13° 46',54	45° 37',05
M3	13° 46',36	45° 37',02
M4	13° 45',98	45° 36',97
M5	13° 45',87	45° 37',08
M6	13° 46',24	45° 37',13
M7	13° 46',43	45° 37',16
M8	13° 46',62	45° 37',18
M9	13° 46',54	45° 37',30
M10	13° 46',32	45° 37',27
M11	13° 46',13	45° 37',24
M12	13° 45',76	45° 37',19
M13	13° 45',55	45° 37',41
M14	13° 45',92	45° 37',46
M15	13° 46',11	45° 37',49
M16	13° 46',32	45° 37',52
M17	13° 44',73	45° 37',27

Tabella 1.2.1 Coordinate delle stazioni di prelievo.

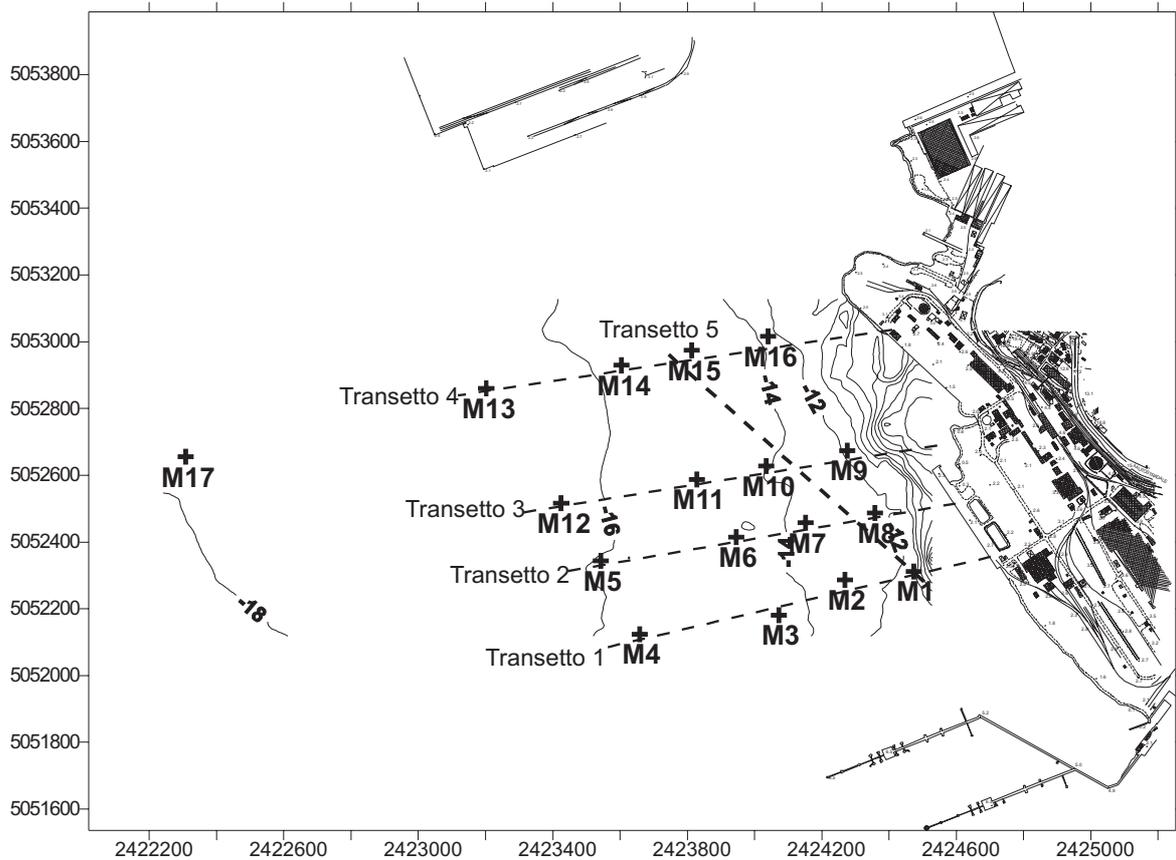


Figura 1.2.1 Stazioni di campionamento.

In tutte le stazioni sono stati effettuati rilievi con sonda CTD per la determinazione della temperatura, conducibilità, ossigeno disciolto e pH lungo la colonna d'acqua ed è stata misurata la corrente superficiale, la direzione ed intensità del vento e la trasparenza con il disco Secchi. La misura dell'irradianza scalare con sonda PAR, che inizialmente doveva venire eseguita soltanto in 4 stazioni, è stata estesa a tutte le stazioni monitorate.

Dal reticolo delle 17 stazioni ne sono state scelte tre (M1, M10, M15), poste lungo l'area più probabile di dispersione delle acque dell'impianto, ed una quarta (M17) situata più al largo, in prossimità delle dighe, non influenzata dallo scarico.

Nelle stazioni M1, M10, M15 e M17 sono stati prelevati campioni d'acqua per le analisi dei parametri chimici e biochimici (ossigeno disciolto, cloro residuo, clorofilla e pigmenti di degradazione) e dei parametri biologici (biotossicità, comunità fitoplanctonica, respirazione). Nelle stazioni M1, M10 ed M15 sono stati prelevati campioni di sedimento per l'analisi del carbonio organico totale, azoto totale, della sostanza organica labile (carboidrati, proteine, lipidi), delle comunità batteriche, meiobentoniche e macrobentoniche.

A partire da ottobre 2000 fino a dicembre 2002 sono stati eseguiti 13 campionamenti delle acque e 2 dei sedimenti (tab. 1.2.2). Ad ottobre 2000 è stata eseguita una ricognizione subacquea nella zona prossima alla stazione M1.

Data campionamenti	16-ott-00	18-ott-00	28-nov-01	28-gen-02	26-feb-02	27-mar-02	10-giu-02	26-giu-02	22-ago-02	5-set-02	30-set-02	29-ott-02	14-nov-02	12-dic-02
ACQUA														
Parametri idrologici da sonda	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Corrente superficiale	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Direzione e intensità del vento	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Irradianza (PAR)	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Produzione primaria	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Respirazione	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Electron Transport System (ETS)	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Ossigeno disciolto	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Cloro residuo	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Clorofilla e feopigmenti	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Biotossicità	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fitoplankton	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
SEDIMENTO														
Granulometria														x
Carbonio organico e azoto totale		x												x
Sostanza organica labile (LOM)		x												x
Abbondanza batterica		x												x
Attività esoenzimatica		x												x
Produzione batterica		x												x
Meiobenthos		x												x
Macrozoobenthos		x												x

Tabella 1.2.2 Elenco dei parametri rilevati e date di campionamento.

2 MATERIALI E METODI

2.1 PARAMETRI METEOROLOGICI

La direzione e l'intensità del vento sono state misurate utilizzando un anemometro a mano (SIAP). I dati sono stati espressi rispettivamente in gradi (0° - 360°) e m s^{-1} .

2.2 CAMPIONAMENTO DELLA COLONNA D'ACQUA

I campioni d'acqua sono stati prelevati con una bottiglia Niskin da 5 L in superficie, al fondo e ad una quota intermedia scelta in base alle caratteristiche termocline della colonna d'acqua. Direttamente dalla bottiglia di campionamento sono state prelevate immediatamente aliquote d'acqua per l'analisi dell'ossigeno e del cloro residuo. Il restante volume d'acqua è stato riposto in contenitori di policarbonato (Nalgene) precedentemente sterilizzati. I contenitori sono stati conservati al buio ed a temperatura analoga a quella di campionamento fino all'arrivo in laboratorio.

2.2.1 PARAMETRI FISICO-CHIMICI

Parametri idrologici

I principali parametri idrologici: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), conducibilità (mMHOS cm^{-1}), salinità, pH e ossigeno disciolto (% saturazione) sono stati rilevati lungo la colonna d'acqua utilizzando una sonda multiparametrica (Idronaut mod. 316). Con un fluorometro Seapoint è stata misurata, *in situ*, la concentrazione di clorofilla *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$). La trasparenza (m) è stata misurata utilizzando il disco Secchi. La direzione (0° - 360°) e l'intensità (m s^{-1}) della corrente superficiale sono stati ottenuti utilizzando un metodo pseudo-euleriano.

Ossigeno disciolto

La concentrazione di ossigeno disciolto è stata determinata, in superficie ed al fondo, secondo il metodo di Winkler (1888) successivamente modificato da Carpenter (1965) per le acque marine. La titolazione è stata effettuata con metodo potenziometrico utilizzando un titolatore automatico (Mettler Toledo DL 21) munito di elettrodo di misura in platino.

Cloro residuo

La concentrazione di cloro residuo è stata determinata, in superficie ed al fondo, per via colorimetrica seguendo la metodica DPD (N,N-dietil-p-fenilendiammina) descritta negli Standard Methods (metodica 4500-D 1992) utilizzando un colorimetro portatile (Hanna Instruments).

Clorofilla *a* e feopigmenti

Aliquote pari a 1 L di campione sono state filtrate su membrane in fibra di vetro aventi porosità nominale pari a $0.7 \mu\text{m}$ (Whatman GF/F). I filtri sono stati conservati a -20°C fino al momento dell'analisi, eseguita entro una settimana dal campionamento. L'analisi è stata condotta su estratto acetone preparato disgregando il filtro in 10 mL di acetone al 90% mediante sonicazione. Dopo centrifugazione il surnatante è stato letto per via

spettrofluorimetrica (Perkin Elmer LS 50 B) alle lunghezze d'onda di 450 nm di eccitazione e 665 nm di emissione. La retta di taratura è stata preparata utilizzando uno standard di clorofilla *a* (Sigma). I feopigmenti sono stati determinati sugli stessi campioni previa acidificazione con HCl 1 N utilizzando la stessa lunghezza d'onda della clorofilla *a* (Lorenzen & Jeffrey 1980).

2.2.2 PARAMETRI BIOLOGICI

Produzione Primaria

La stima della produzione primaria è stata condotta in laboratorio simulando le condizioni di luce e temperatura *in situ* secondo il metodo di Steemann-Nielsen (1952).

Da ogni campione sono state prelevate tre aliquote: la prima, pari a 75 mL, è stata riposta in provette trasparenti (white), la seconda, sempre del volume di 75 mL, è stata riposta in provette nere (black), la terza, pari a 50 mL, è stata utilizzata per misurare l'alcalinità. Per simulare l'irradianza PAR caratteristica della profondità a cui è stato raccolto il campione, le provette "white" sono state schermate con filtri fotografici standard.

Ai due subcampione del volume di 75 mL è stato inoculato 1 ml di soluzione di $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ equivalente ad una attività di 6 μCi .

Le provette sono state incubate all'esterno per 3 ore nel periodo primavera-estate e per 2 ore in autunno-inverno inserendole all'interno di tubi di plexiglass trasparente in cui è stato mantenuto un flusso continuo d'acqua a temperatura corrispondente al valore medio rilevato *in situ* alle diverse profondità. La condizione di omotermia è stata mantenuta mediante il collegamento ad un criotermostato. L'alcalinità è stata misurata mediante titolazione acido-base.

Terminata l'incubazione, 25 mL di campione sono stati filtrati, sotto cappa aspirante, su membrane in policarbonato (Nuclepore) di porosità pari a 0,2 μm . Dalle provette white sono state filtrate 2 aliquote mentre dalle provette black è stata effettuata una sola replica. I filtri sono stati posizionati in appositi contenitori. Tutti i campioni così ottenuti sono stati acidificati con HCl per eliminare l'eccesso di $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$.

Ad ogni campione sono stati aggiunti 5 mL di liquido di scintillazione. Le misure di DPM sono state convertite in $\mu\text{gC L}^{-1}\text{h}^{-1}$ utilizzando le equazioni proposte da Saggiomo et al. (1990):

$$PP_{\text{netta}} = \frac{\text{DPM}(\text{light}) - \text{DPM}(\text{dark}) * \text{alcalinità} * K1 * 12 * 1,05 * 1000}{\text{DPM}(3 \mu\text{l } ^{14}\text{C}) * H}$$

DPM : valore medio dei conteggi effettuati allo scintillatore per le bottiglie chiare e scure
Alcalinità : espressa in mmol L^{-1}

$$K1: \text{fattore volume} = \frac{\text{Vol H}_2\text{O incubato (70ml)}}{\text{Vol H}_2\text{O filtrato (25ml)}}$$

12 : massa atomica del ^{12}C

1,05 : coefficiente isotopico per il ^{12}C rispetto al ^{14}C (l'incorporazione del ^{14}C è inferiore del 5% rispetto a quella del ^{12}C)

1000 : fattore di conversione dal mg L⁻¹ al µg L⁻¹ (che equivale a mg m⁻³)

DPM (3 µL ¹⁴C): attività in disintegrazioni per minuto della dose di ¹⁴C inoculata nelle bottiglie

H : numero di ore di incubazione

Respirazione planctonica

La respirazione planctonica è stata calcolata come variazione nella concentrazione di ossigeno disciolto in un periodo di 24 h. La concentrazione di ossigeno è stata determinata usando il metodo di Winkler (1888) modificato da Carpenter (1965).

All'arrivo in laboratorio i campioni d'acqua sono stati filtrati su retino con maglie da 200 µm per eliminare gli organismi di maggiori dimensioni. Aliquote pari a 60 mL sono state versate, evitando la formazione di bolle, in apposite bottiglie, precedentemente lavate in HCl diluito e risciacquate in acqua deionizzata. Per ogni campione sono state preparate 6 bottiglie, 3 delle quali sono state immediatamente fissate (T-0) utilizzando le soluzioni previste dal metodo Winkler (Carpenter 1965), mentre le restanti 3 sono state incubate al buio, alla temperatura di campionamento ($\pm 1^\circ\text{C}$) e fissate dopo 24 h (T-1). Dalla differenza tra le concentrazioni di O₂ al tempo T-0 ed al tempo T-1 è stato ricavato il tasso di respirazione, espresso come µmol O₂ L⁻¹ D⁻¹.

Dal consumo di ossigeno è stata estrapolata la concentrazione di carbonio consumato assumendo un quoziente respiratorio di 1 come suggerito da Chin-Leo & Banner (1992).

Electron transport system (ETS)

L'analisi dell'ETS è stata condotta seguendo la metodica riportata da Owens & King (1975) e successivamente modificata per il calcolo dell'attività da Packard & Williams (1981).

Volumi di campione variabili da 1 a 4 L sono stati filtrati su membrane in fibra di vetro aventi porosità nominale pari a 0,7 µm (Whatman GF/F) operando una depressione inferiore a 1/3 atm. I filtri sono stati conservati in azoto liquido fino al momento dell'analisi (Ahmed et al. 1976).

Per procedere al saggio il filtro è stato disgregato in 10 mL di soluzione ETS-B (tampone fosfato 0,1 M, pH=8,5, 75 µM MgSO₄, 1,5 mg mL⁻¹ polivinilpirrolidone in 0,2% Triton X-100) mediante bastone ad ultrasuoni (Sonicator XL, Misonix Inc.) in bagno di ghiaccio. Un'aliquota dell'omogenato pari a 5 mL è stata prelevata e centrifugata a 3000 rpm per 5 min a 4°C. Si sono così distinte 2 fasi nette.

Ad 1 mL del surnatante sono stati aggiunti 3 mL di tampone fosfato (0,1 M, pH=8,5) contenente il substrato (1,7 mM NADH, 0,25 mM NADPH) ed 1 mL di soluzione di p-iodonitrotetrazolio violet (INT-violet) allo 0,2% in milliQ. Dopo 20 min di incubazione al buio ed a 8°C lo sviluppo del composto dosabile spettrofotometricamente (INT-Formazan) è stato bloccato mediante aggiunta di 1 mL di soluzione fissativa (formalina al 37%, H₃PO₄ 1M pH=2,5, rapporto 1:1 v/v).

La determinazione è stata condotta per via spettrofotometrica (spettrofotometro lambda 2, Perkin-Elmer), utilizzando celle con cammino ottico di 1 cm, alla lunghezza d'onda di 490 nm. L'assorbanza risultante è stata quindi corretta per la torbidità e per l'attività di un campione abiotico.

L'attività è stata espressa in $\mu\text{L O}_2 \text{ h}^{-1}\text{L}^{-1}$ ($\mu\text{g O}_2 \text{ D}^{-1}\text{L}^{-1}$) come proposto da Packard e Williams (1981) secondo le equazioni sotto riportate:

$$\text{ETS } (\mu\text{L O}_2 \text{ h}^{-1}\text{L}^{-1}) = 60 * S * H * (\text{COD-RB}) / (1,42 * f * V * t)$$

$$34,3 * \text{ETS } (\mu\text{L O}_2 \text{ h}^{-1}\text{L}^{-1}) = \text{ETS} (\mu\text{g O}_2 \text{ D}^{-1}\text{L}^{-1})$$

dove S rappresenta il volume finale di reazione (mL), H il volume dell'omogenato (mL), COD-RB il valore di assorbanza corretta, f il volume di omogenato usato nel saggio (mL), V il volume di campione filtrato (L), t il tempo di incubazione (min). Il fattore 60 converte il risultato del saggio in ore. Il fattore 1,42 viene ricavato dal coefficiente di estinzione molare dell'indicatore e dalle stechiometrie relative all'indicatore e all'ossigeno nelle ossido-riduzioni in cui sono coinvolti. E' stata inoltre apportata la correzione dell'attività rispetto alla temperatura assoluta di campionamento *in situ* usando l'equazione di Arrhenius:

$$\text{ETS} = A e^{-E/RT}$$

trasformata da Packard (1969)

$$\text{ETS} = \text{ETS}_{\text{inc}} * \exp E_a * [1/T_{\text{inc}} - 1/T_{\text{in situ}}] / R$$

T_{inc} : temperatura incubazione ($^{\circ}\text{K}$)

$T_{\text{in situ}}$: temperatura di campionamento ($^{\circ}\text{K}$)

E_a : energia media di attivazione (15,8 Kcal/mole)

R: $8,314 * 10^{-3}$ Kjoule/Mol * K

Test di tossicità

I test di tossicità sono stati condotti in accordo con il protocollo Azur Environmental (1998). Per le analisi condotte durante la prima campagna (ott '00) è stato utilizzato un ceppo di *Vibrio fischeri* (NRRL-B-11177) commercializzato dalla Dr Lange mentre per tutte le successive analisi (da nov '01 a dic '02) è stato utilizzato il ceppo batterico commercializzato dalla Microtox® (lot 1K1029a). Le condizioni sperimentali relative a ciascun lotto batterico sono state verificate utilizzando il fenolo come bianco positivo. I test di tossicità acuta sono stati condotti in 5 repliche per ogni campione (Test Comparison), le letture sono state eseguite, dopo 0, 5 e 15 minuti dall'inoculo, utilizzando uno spettrofluorimetro (Perkin Elmer LS50B) operante in modalità bioluminescenza.

Microfitoplancton

Volumi pari a 500 mL di campione sono stati raccolti, alle 3 quote campionate, in bottiglie di vetro scuro ed immediatamente fissati in formalina (conc. finale 4%) neutralizzata con esametilentetramina. L'analisi quali-quantitativa del popolamento è stata eseguita, previa sedimentazione di aliquote pari a 50 mL (metodo Utermöhl) (Zingone et al. 1990), utilizzando un microscopio rovesciato a contrasto di fase (Leitz Fluovert) con ingrandimento finale di 320X. Il conteggio delle cellule è stato effettuato su campi corrispondenti ad 1/100 dell'area totale della camera di sedimentazione.

2.3 CAMPIONAMENTO DEI SEDIMENTI

Il sedimento è stato campionato utilizzando un carotiere modello “HAPS” KC-DENMARK, che raccoglie carote del diametro di 12 cm e della profondità di 30 cm, ed una benna di tipo van Veen con superficie di presa di 0,1 m².

Sono stati eseguiti due campionamenti, prima della messa in funzione dell’impianto (ottobre 2000) e durante l’ultima campagna (dicembre 2002).

2.3.1 PARAMETRI FISICO-CHIMICI

Granulometria

Per eliminare la sostanza organica presente, un’aliquota di sedimento è stata trattata con acqua ossigenata a 10 volumi, utilizzando un becker da 800 mL in bagnomaria termostata (60°C) per circa 24 ore. Successivamente, per separare le varie frazioni granulometriche, il residuo conchigliare e vegetale, la ghiaia, la sabbia e la pelite, è stata eseguita una setacciatura ad umido mediante la sovrapposizione di due setacci con luci di 2 mm e di 62,5 µm che trattengono, rispettivamente, la frazione conchigliare e vegetale superiore ai 2 mm (e la ghiaia eventualmente presente) e la sabbia (62,5/2000 µm). Il passante, la frazione fangosa (< 62,5 µm), è stato raccolto in un contenitore da 5 L. La frazione superiore ai 2 mm e la frazione sabbiosa, previa asciugatura e passaggio in muffola a 550°C per 24 ore, sono state pesate utilizzando una bilancia analitica (Mettler AT 250) con precisione di 0,0001 g. La frazione pelitica è stata fatta decantare per circa 2 giorni sifonando l’eccesso d’acqua. La sospensione concentrata è stata quindi filtrata su carta (Whatmann 50 - 24 cm diametro) prepesata utilizzando un imbuto Buchner. Il filtro, essiccato in stufa a 60°C, è stato successivamente pesato determinando, per differenza, il peso della pelite. Il residuo superiore ai 2 mm, costituito da resti conchigliari e vegetali, è stato conservato e non analizzato in quanto non rappresentativo delle condizioni idrauliche e dell’ambiente deposizionale.

La frazione sabbiosa, dopo essere stata pesata, è stata analizzata con metodo diretto, tramite setacciamento mediante batteria di vagli (Endecotts in acciaio inossidabile del diametro di 100 mm) seguendo la classificazione di Wentworth (1922) in cui l’apertura delle maglie diminuisce via via di 1 phi. Per ottenere una completa vagliatura del materiale è stato utilizzato un setacciatore (Endecotts - Octagon 200) per circa 30 minuti. Le frazioni sabbiose rimaste su ogni setaccio sono state pesate e trasformate in percentuali peso.

La frazione pelitica, recuperata staccandola dal filtro, è stata disgregata delicatamente in mortaio: un’aliquota pari a circa 1,5 g è stata utilizzata per l’analisi al sedigrafo (Sedigraph 5000 ET) previa risospensione in 0,5 g dm⁻³ Na-esametafosfato (antiflocculante). Ad analisi ultimata le ripartizioni dimensionali delle due popolazioni granulometriche (sabbia e pelite) sono state ricalcolate sulla base della loro frequenza rispetto al totale del sedimento ed espresse utilizzando la scala granulometrica phi, ottenuta dalla trasposizione in logaritmi in base 2 dei valori in millimetri della scala Wentworth.

Carbonio organico e azoto totale

La determinazione delle concentrazioni di carbonio organico e azoto totale è stata eseguita su tre diversi strati di sedimento: 0-10 mm, 10-30 mm e 30-50 mm. Per ogni campione sono state analizzate 3 repliche.

Il sedimento è stato estruso dalle carote ed immediatamente sottoposto a liofilizzazione. Il liofilizzato è stato macinato con un mortaio in agata, setacciato su maglia da 300 µm e riposto in capsule d'argento, preventivamente lavate in tetracloruro di carbonio e acetone (reagenti di grado analitico) ed asciugate per una notte a 110°C. Le capsule sono state, quindi, pesate con un'ultramicrobilancia (Perkin Elmer AD-4) avente risoluzione di 0,1 µg.

Per la determinazione del carbonio organico il campione è stato trattato con HCl a diverse concentrazioni (Hedges & Stern 1984) per eliminare i carbonati utilizzando una metodica simile a quella proposta da Nieuwenhuize et al. (1994).

Le analisi sono state condotte utilizzando un analizzatore elementare (Perkin Elmer 2400 CHNS/O) a temperatura compresa tra 950° e 1050°C. Le percentuali di carbonio organico e azoto presenti nel campione sono state determinate dal confronto con una sostanza a contenuto di carbonio e azoto noto (acetanilide). E' stato accettato un limite di rilevabilità dello 0,3% mentre la precisione e l'accuratezza sono risultate inferiori al 0,1%.

Sostanza organica labile - LOM (Labile Organic Matter)

I primi 3 strati (0-1, 1-3, 3-5 cm) di una carota di sedimento sono stati sottoposti all'analisi quali-quantitativa della sostanza organica labile (LOM – Labile Organic Matter) cioè della frazione che viene rapidamente mineralizzata ed è costituita da zuccheri semplici, lipidi e proteine (Fabiano & Danovaro 1994).

Lipidi: dopo sonicazione in acqua distillata, i lipidi totali sono stati estratti dal sedimento umido con cloroformio e metanolo e sono stati determinati utilizzando i metodi di Bligh & Dyer (1959) e Marsh & Weinstein (1966) applicati al sedimento. Soluzioni di tripalmitina (30, 60, 120, 180 e 300 µg mL⁻¹) sono state utilizzate come standard di riferimento. Le concentrazioni riportate sono considerate come unità tripalmitina equivalenti e sono espresse in µg g⁻¹ sedimento secco (s.s.).

Proteine: dopo estrazione con NaOH (0,5 M) per 4 h la concentrazione proteica è stata determinata in accordo con il metodo di Hartree (1972). Soluzioni di albumina bovina alle concentrazioni di 75, 150, 225 e 300 µg mL⁻¹ sono state utilizzate come standard. Le concentrazioni riportate sono considerate come unità albumina bovina equivalenti e sono espresse in µg g⁻¹ s.s.

Carboidrati: i carboidrati solubili sono stati analizzati in accordo con Gerchacov & Hatcher (1972) utilizzando soluzioni di D(+) glucosio (10, 20, 40, 70 e 100 µg mL⁻¹) come standard. Le concentrazioni riportate sono considerate come unità glucosio equivalenti e sono espresse in µg g⁻¹ s.s.

Tutte le analisi sono state eseguite in quattro repliche. Per ciascuna analisi biochimica, i bianchi sono stati ottenuti utilizzando sedimenti precombusti a 450 °C per 2h.

2.3.2 PARAMETRI BIOLOGICI

Abbondanza batterica

I primi 5 cm di una carota di sedimento sono stati subcampionati utilizzando 3 siringhe sterili da 5 mL. Il sedimento di ogni siringa è stato suddiviso in 3 strati (0-1, 1-3, 3-5 cm) e, per ogni strato, una quantità pari ad 1 g è stata risospesa in 3 mL di acqua di mare sterilizza-

ta in autoclave e successivamente filtrata su 0,2 mm. Dopo l'aggiunta di formalina (conc. finale 2%) i campioni sono stati conservati a 4°C fino al momento dell'analisi.

Dopo una blanda sonicazione in bagno ad ultrasuoni per 2 cicli di un minuto ciascuno (1min - 30sec - 1min) (Meyer-Reil 1983) ogni campione è stato suddiviso in 3 aliquote di 1 mL ciascuna. Ogni aliquota è stata sottoposta ad una serie di lavaggi in acqua di mare sterile, aggiunta nel rapporto 1:10, mediante centrifugazione a 3000 g per 10 min successiva ad un trattamento di sonicazione (2 cicli: 1 min-30 sec-1 min). Dopo asportazione del supernatante il pellet è stato ulteriormente sottoposto a lavaggio mediante centrifugazione previa aggiunta di 3 mL di acqua di mare sterile e successiva sonicazione. Il supernatante è stato prelevato ed il pellet è stato sottoposto ad un successivo lavaggio alle medesime condizioni. Dall'insieme dei supernatanti ottenuti è stato prelevato un volume pari a 1 mL e sottoposto a colorazione con 3 mL di una soluzione d'arancio d'acridina (0,01%). Dopo incubazione al buio per 6-10 min (Fry 1988) il campione è stato filtrato su membrane di policarbonato scure (Nuclepore) di porosità pari a 0,2 mm posizionate su sottofiltri in acetato di cellulosa (Millipore) della porosità di 0,45 mm operando una depressione inferiore a 48 KPa. Le membrane sono state quindi montate su vetrino ed osservate al microscopio ad epifluorescenza (Leitz-Dioplan) operando in luce blu (filtro di eccitazione BP 450-490, lamina dicromatica RKP 510 filtro di sbarramento LP 510) con un obiettivo ad immersione 100X per un ingrandimento finale di 1000X. La stima delle cellule è stata effettuata contando generalmente 20-40 campi in modo che la deviazione standard risulti inferiore al 20% del valore medio calcolato (Montagna 1982). L'abbondanza cellulare è stata ricavata dalla seguente formula:

$$\text{abbondanza (cell mL}^{-1}\text{)} = N * (A_f / A_c) * 1/V * 1/D$$

dove: N = n° medio di cellule nel campo, A_f = area di filtrazione, A_c = area del campo, V = volume filtrato, D = diluizioni effettuate

I dati ottenuti sono stati normalizzati al peso secco del sedimento.

Produzione batterica

Viene seguito il metodo proposto da Smith & Azam (1992) che ha modificato quello classico di Fuhrman & Azam (1982). Mediante l'incorporazione di ^3H -timidina e ^3H -leucina si può valutare, rispettivamente, la produzione batterica di DNA e la sintesi proteica.

I primi 5 cm di una carota di sedimento sono stati subcampionati utilizzando 3 siringhe sterili da 5 mL. Il sedimento di ogni siringa è stato suddiviso in 3 strati (0-1, 1-3, 3-5 cm) e, per ogni strato, una quantità pari a 0,5 g è stata diluita in 7 mL di acqua di mare sterilizzata in autoclave e successivamente filtrata su 0,2 mm. Dopo una blanda sonicazione in bagno ad ultrasuoni per 2 cicli (1 min-30 sec-1 min) 0,85 mL di supernatante sono stati incubati, in triplicato, con 20 mM di ^3H -timidina o di L-[4,5- ^3H] leucina. L'incubazione è stata condotta al buio, per 1 h, a temperatura prossima ($\pm 2^\circ\text{C}$) a quella in situ.

L'incorporazione del substrato marcato è stata bloccata con l'aggiunta di 45 μL di acido tricloroacetico (TCA) al 100 % (w/v) freddo. Per ogni campione sono stati preparati 2 bianchi aggiungendo 45 mL di (TCA) al 100% (w/v) prima dell'incubazione.

I campioni trattati con timidina sono stati quindi centrifugati a 14000 g per 10 min a 5°C. Il supernatante è stato sostituito con 1 mL di TCA al 5% freddo (0°C) per un primo

lavaggio del precipitato. Dopo centrifugazione alle medesime condizioni il supernatante è stato nuovamente sostituito con 0,85 mL di etanolo all'80% per un secondo lavaggio del precipitato. Dopo una terza centrifugazione il supernatante è stato sostituito con 1 mL di liquido di scintillazione (Ultima Gold). I campioni sono stati conservati a 4°C fino al momento del conteggio. La radioattività del campione è stata contata con uno scintillatore liquido (Packard Tri-Crab 4430).

I campioni trattati con leucina hanno seguito analoga procedura ma l'estrazione è stata effettuata a temperatura ambiente, la centrifugazione a 18°C, mentre TCA ed etanolo sono stati utilizzati a temperatura ambiente.

La velocità di incorporazione della timidina (pM TdR/h) è stata convertita in numero di cellule batteriche prodotte, utilizzando il coefficiente di conversione $1,1 \times 10^{18}$ cellule su mole di timidina incorporata proposto da Riemann et al. (1987); infine il numero di cellule batteriche è stato convertito in quantità di C prodotto utilizzando il valore di 2×10^{-14} gC cell⁻¹ proposto da Lee & Furhmann (1987).

La velocità di incorporazione della leucina (pM Leu h⁻¹) è stata convertita in concentrazione di carbonio assumendo una diluizione intracellulare dell'isotopo pari a 1 e un rapporto C/proteine pari a 0,86 (Smith & Azam 1992).

Attività esoenzimatica

L'attività enzimatica è stata saggiata secondo il metodo di Hoppe (1983) e Hoppe et al. (1988) che prevede l'uso di substrati fluorogenici derivati dalla 7-amino-4-metil cumarina (AMC) e dal 4-metil umbelliferone (MUF).

L'attività proteasica è stata misurata come tasso d'idrolisi della leucina-AMC. L'attività glucosidasica è stata misurata come tasso di idrolisi del MUF-a-D-glucoside e del MUF-b-D-glucoside, mentre il MUF-oleato è stato usato per testare l'attività lipasica ed il MUF-fosfato per l'attività fosfatase. L'attività enzimatica è stata espressa come tasso di produzione di MUF o AMC. I substrati, sciolti in monometil etilen glicole, sono stati addizionati ai campioni per ottenere una concentrazione finale 100-200 µM.

I primi 5 cm di una carota di sedimento sono stati subcampionati utilizzando 3 siringhe sterili da 5 mL. Il sedimento di ogni siringa è stato suddiviso in 3 strati (0-1, 1-3, 3-5 cm) e, per ogni strato, una quantità pari a 0,5 g è stata diluita in 6 mL di acqua di mare sterilizzata in autoclave e successivamente filtrata su 0,2 µm. Dopo blanda centrifugazione per 15 min a 1000 g al supernatante è stato aggiunto il substrato e sono state effettuate le letture spettrofluorimetriche.

Tutti i campioni vengono letti in tre repliche e contro un controllo costituito dal campione sottoposto a bollitura (Meyer-Reil 1987). L'intensità di fluorescenza è stata letta alle lunghezze d'onda di 365 nm e 455 nm (eccitazione ed emissione) per i substrati legati al MUF e a 380 nm e 440 nm per il substrato legato al MCA, utilizzando uno spettrofluorimetro Perkin Elmer LS50B. Soluzioni standard di MUF e AMC sono state utilizzate per calibrare il fluorimetro.

Meiobenthos

La carota è stata subcampionata utilizzando 3 carote del diametro di 3 cm e della profondità di 15 cm. Il contenuto di ogni carota è stato conservato con formalina tamponata al

4%. La setacciatura è stata operata attraverso un setaccio a maglia di 500 μm ed il contenuto restante è stato trattenuto su un setaccio a maglia di 37 μm . Il materiale trattenuto è stato centrifugato tre volte in gradiente di Ludox HS40 (densità 1,18 g cm^{-3}), al fine di estrarre gli organismi del meiobenthos. Tutti gli organismi sono stati contati e classificati per taxon allo stereomicroscopio, previa colorazione con Rosa Bengala.

Macrozoobenthos

I campioni di macrozoobenthos sono stati raccolti utilizzando una benna del tipo van Veen, avente una superficie di presa di 0,1 m^2 . In ciascuna stazione sono state raccolte tre repliche, ognuna delle quali è stata setacciata a bordo, con un setaccio a maglia di 0,5 mm, al fine di eliminare la parte fine del sedimento e trattenere gli organismi appartenenti al macrozoobenthos. Il materiale così trattenuto è stato fissato con formalina al 4%. Lo smistamento dei campioni è stato effettuato in laboratorio suddividendo gli organismi nei principali taxon, i quali sono stati conservati in etanolo al 75%. Gli organismi sono stati contati e determinati, quando possibile, fino a livello di specie.

3 CARATTERISTICHE DELLA COLONNA D'ACQUA

3.1 IDROLOGIA

La definizione delle caratteristiche termoaline di un bacino in relazione alla distribuzione delle correnti marine è di primaria importanza per valutare l'effetto sull'ambiente marino dell'immissione di uno scarico di acque calde proveniente da un impianto di raffreddamento di una centrale termoelettrica.

A tale scopo sono state effettuate tra ottobre 2000 e dicembre 2002 tredici crociere nella Baia di Muggia con l'esecuzione di profili idrologici da sonda multiparametrica e di irradianza PAR in 17 stazioni di campionamento (fig. 1.2.1), contemporaneamente ai rilievi idrologici è stata stimata l'intensità e direzione del vento e della corrente marina superficiale.

La tabella 3.1.1 riassume la distribuzione del vento e della corrente superficiale: si evidenzia l'importanza dei venti del I e II quadrante che innescano correnti superficiali di deriva verso il III e IV quadrante, l'intensità massima registrata per il vento è stata di 12 m s^{-1} , mentre quella della corrente di 50 cm s^{-1} si presenta elevata anche la frequenza dei rilievi della corrente superficiale inferiori alla soglia di stima dello strumento.

Stima della provenienza del vento (%)				
I Quadr.	II Quadr.	III Quadr.	IV Quadr.	Assenza
35	20	17	14	13
Stima della direzione della corrente superficiale (%)				
I Quadr.	II Quadr.	III Quadr.	IV Quadr.	Assenza
4	16	21	25	25

Tabella 3.1.1

Uno dei principali scopi dello studio è stato quello di valutare la diffusione delle acque calde immesse nel bacino ricevente nelle sue diverse condizioni termoaline e sotto l'azione di venti e correnti differenti.

Caratteristiche termoaline

La Baia di Muggia segue in generale la stessa evoluzione osservata per il Golfo di Trieste ma, a causa della sua non elevata batimetria, la variabilità può essere decisamente più marcata. Il bacino ha presentato un'omogeneità termica della colonna d'acqua in gennaio - febbraio, e da fine settembre a dicembre 2002, mentre un gradiente termico è evidente da marzo ad inizio settembre con una massima differenza tra lo strato superficiale e di fondo di $3,5^\circ\text{C}$ nel mese di agosto. Valori relativamente bassi di salinità (< 34) si osservano in superficie ad inizio giugno e sono associati ad apporti di acque dolci derivanti probabilmente dal torrente Rosandra e dal Rio Ospio.

Analizzando la distribuzione delle acque calde di scarico nello strato superficiale si osserva che quelle a temperatura relativamente più elevata sono più evidenti in presenza di scarsa corrente superficiale o con correnti provenienti dal I e II quadrante. In presenza di correnti provenienti dal III e IV quadrante tali acque calde subiscono un veloce rimescolamento, probabilmente dovuto anche al moto ondoso, omogeneizzandosi con la colonna d'acqua (fig. 3.1.1).

La distribuzione areale delle acque calde nello strato superficiale non supera una distanza dalla costa di 350 - 400 m ed il suo nucleo a maggiore temperatura viene rilevato quasi

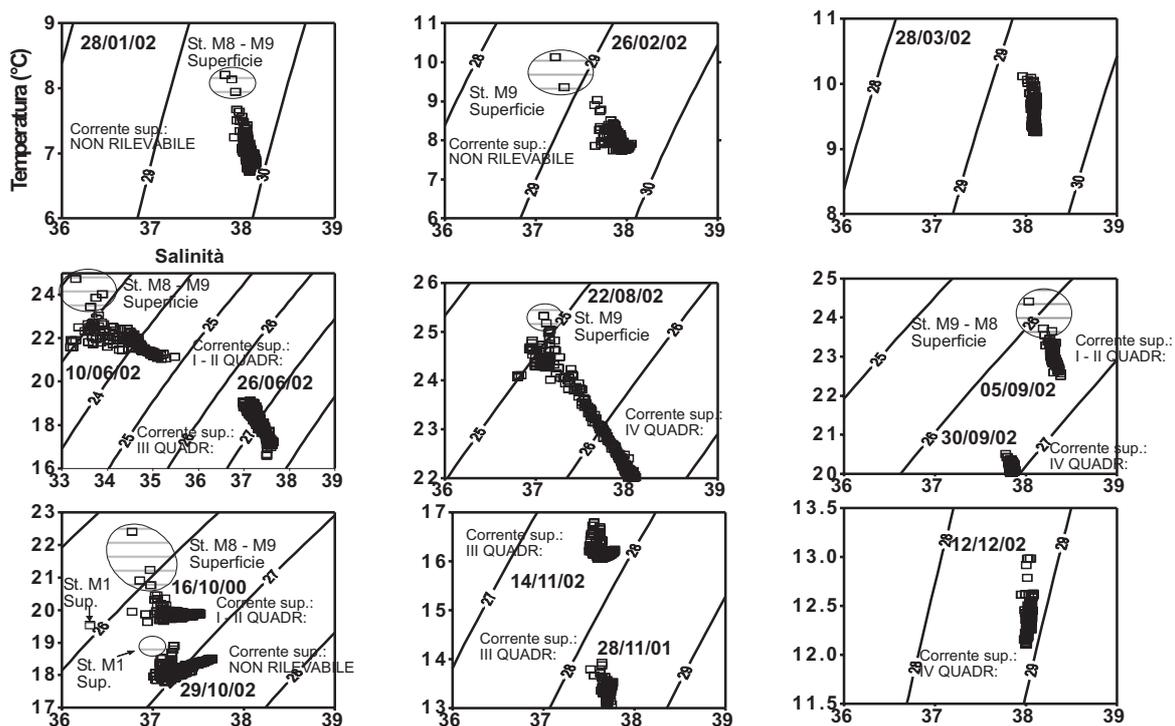


Figura 3.1.1 Diagrammi T-S e provenienza della corrente superficiale.

sempre in corrispondenza delle stazioni M8 e soprattutto M9, ad indicare la probabile presenza di uno scarico sito in prossimità di tali stazioni.

Le caratteristiche termiche superficiali rilevate nella stazione M1 situata davanti allo scarico in esame non evidenziano invece una marcata differenza rispetto a quelle del bacino, infatti l'anomalia termica maggiore pari a $0,9^{\circ}\text{C}$ è stata riscontrata durante il rilievo del 29/10/02 in presenza di scarsa corrente marina. Questa massa d'acqua inoltre non si espande negli strati subsuperficiali rimanendo confinata entro una profondità di 2-3 m.

La temperatura della massa d'acqua osservata in prossimità della stazione M9 si presenta anomala. Tale massa d'acqua, nelle crociere del 16/10/00 (prima della messa in funzione dello scarico dell'impianto) 26/02/02 e 10/06/02, registrava infatti un incremento termico di circa 2°C rispetto al bacino; la diffusione di tali acque interessava inoltre i primi 4 m della colonna d'acqua. (v. allegato – Idrologia).

Ossigeno disciolto e clorofilla da sonda multiparametrica

I campi di distribuzione di questi due parametri possono mettere in evidenza delle particolarità sia della struttura idrologica della colonna d'acqua che della componente planctonica.

Il campo di distribuzione verticale dell'ossigeno, soprattutto in situazione di instabilità termoalina, sembra indicare la formazione, per l'azione di treni d'onda e correnti provenienti dal III e IV quadrante, di una zona ad elevata turbolenza a 450 m dalla costa in cui si osserva un'omogeneità dell'ossigeno disciolto per un rimescolamento con gli strati prossimi al fondo.

In generale questo parametro è in saturazione o leggera sottosaturazione in tutte le crociere tranne in quella eseguita il 16/06/02, quando si osservava una rimarcabile

sovrasaturazione per il probabile inizio di formazione degli aggregati gelatinosi, sviluppatisi nei mesi successivi in tutto il Golfo. Si presentava, invece, in ipossia nello strato di fondo del campionamento di agosto 2002, per il limitato scambio gassoso nella colonna d'acqua dovuto alla stratificazione termica. Analizzando in particolare l'ossigeno disciolto nella stazione M1 si osserva un decremento di tale parametro negli strati subsuperficiali che potrebbe essere associato alla immissione nel bacino delle acque di raffreddamento, che durante questo processo tendono a impoverirsi di tale gas.

Confrontando i valori di ossigeno di questo anno di studio con quanto riportato da AA.VV. (1977), in cui era stata osservata una concentrazione d'ossigeno sempre inferiore alla saturazione, si potrebbe ipotizzare sia un miglioramento nello scambio gassoso tra l'aria e la colonna d'acqua sia un aumento dell'attività fotosintetica del plancton.

La clorofilla indotta da fluorometro ad eccitazione ha presentato, in generale, concentrazioni comprese tra 0,5 e 2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Concentrazioni simili sono state misurate in tutto il Golfo di Trieste ad indicare che la Baia di Muggia non presenta un tenore di eutrofizzazione anormale rispetto a quello del Golfo. Valori elevati di tale parametro ($>5\mu\text{g L}^{-1}$) sono stati registrati in prossimità del picnoclino sempre nell'agosto 2002 e sono associati ad una abbondante fioritura a diatomee che era presente in tutto il Golfo.

Irradianza PAR e fluorescenza naturale

Tali parametri vengono utilizzati per stimare rispettivamente la penetrazione della radiazione fotosinteticamente disponibile (400-700 nm) per le cellule fitoplanctoniche, per i processi produttivi e la radiazione emessa dalle cellule durante tali processi.

Per evidenziare un gradiente della radiazione disponibile dalla costa verso il largo, il bacino di studio è stato suddiviso in tre zone: una costiera identificata dalle stazioni M1, M8, M9, M16, una centrale (stazioni: M2, M3, M6, M7, M10, M11, M14, M15) ed una al largo (stazioni: M4, M5, M12, M13) (fig. 3.1.2).

In generale, confrontando i valori di irradianza e fluorescenza della Baia di Muggia con quelli del Golfo non si osservano particolari anomalie. Analizzando tali parametri all'interno della Baia si evidenzia però una diminuzione dell'irradianza nella fascia costiera rispetto a quella centrale ed al largo. Il decremento è più marcato nei primi sei mesi dell'anno corrispondenti a masse d'acqua ad elevata salinità e con minore tenore di particellato sospeso, nei campionamenti eseguiti da agosto a novembre tale differenza non si presenta così evidente, ad indicare un generale incremento del particellato nelle masse d'acqua per effetto delle precipitazioni e degli apporti fluviali presenti in questo periodo.

La differenza individuata nella prima metà dell'anno potrebbe essere associata ad un apporto di particellato nella fascia costiera per l'azione erosiva del vento sulle polveri dei depositi di stoccaggio del materiale utilizzato negli alto-forni e siti in prossimità alla linea di riva.

La fluorescenza naturale (683 nm) non presenta il decremento osservato per l'irradianza, ciò potrebbe indicare che, anche se diminuito, il valore totale di irradianza è comunque sufficiente ai processi di produzione fitoplanctonica. Il valore massimo di fluorescenza si registra nel campionamento di agosto in corrispondenza della fioritura a diatomee, mentre

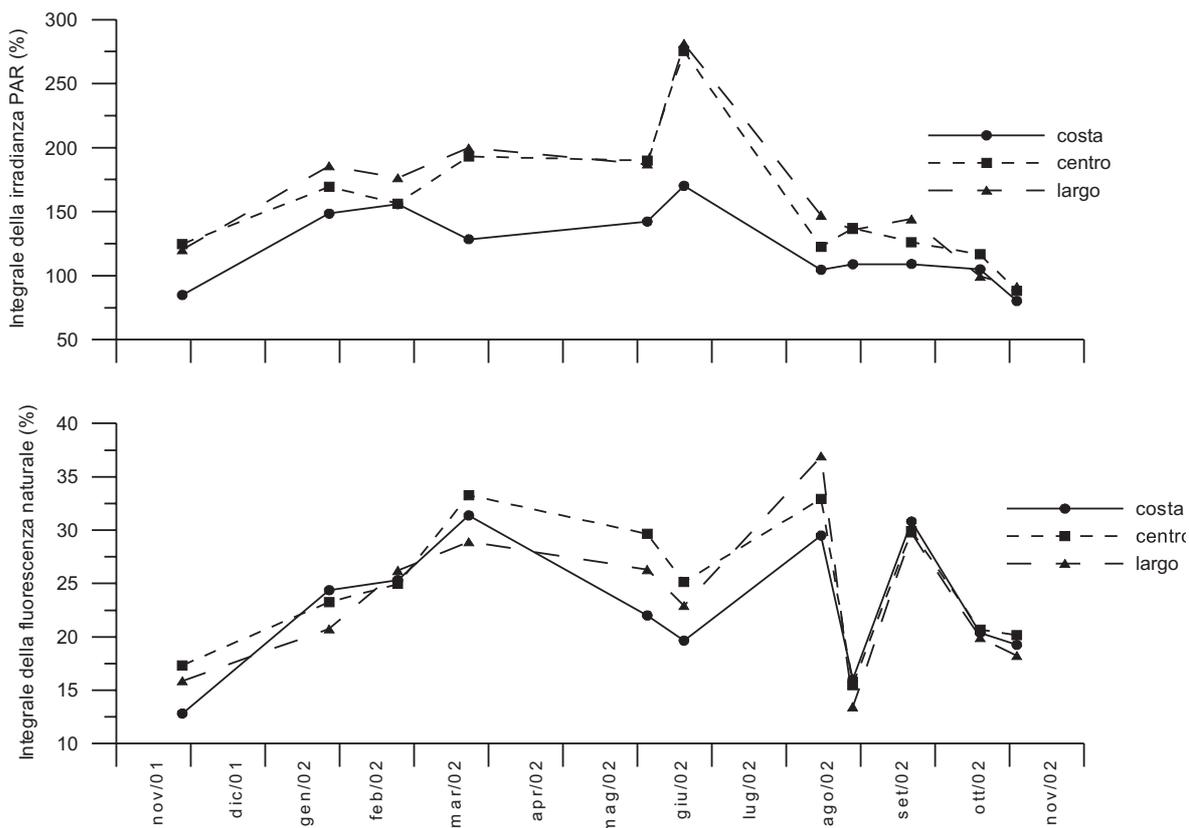


Figura 3.1.2 Irradianza e fluorescenza naturale da sonda multiparametrica.

il valore minimo misurato nella prima campagna di settembre indica la fase senescente della stessa fioritura.

Questo studio ha permesso di evidenziare che le caratteristiche meteomarine più significative per la dispersione nel bacino delle acque di raffreddamento sono da associare ad una situazione o di relativa assenza di corrente e vento, o di vento e corrente superficiale proveniente dal I e II quadrante; con corrente del III e IV quadrante, invece, si osserva una tendenza alla omogeneizzazione della colonna d'acqua e la formazione di una zona di mescolamento a circa 450 m dalla costa.

Lo scarico indagato non contribuisce a modificare significativamente la temperatura e le caratteristiche idrologiche del bacino, dall'analisi dei parametri biologici da sonda multiparametrica: ossigeno disciolto, clorofilla *a* e fluorescenza naturale non emergono particolari situazioni degenerative dell'ambiente marino.

3.2 CHIMICA

Ossigeno disciolto

La distribuzione verticale ed orizzontale della concentrazione di ossigeno disciolto riflette il bilanciamento tra lo scambio di questa specie molecolare tra la fase gassosa e quella liquida, che avviene all'interfase aria/acqua, il suo coinvolgimento nei processi biologici ed il trasporto fisico. A seconda del prevalere dei diversi processi, la concentrazione di ossigeno sarà superiore o inferiore al valore di saturazione, quindi dall'esame della quantità di questo

gas disciolto si possono formulare alcune ipotesi sui processi che avvengono nella colonna d'acqua.

In acque costiere e bacini poco profondi, come la Baia di Muggia, i processi biologici sono quelli che maggiormente influenzano la concentrazione di ossigeno nella colonna d'acqua. I produttori primari, infatti, attraverso la fotosintesi, metabolizzano l'anidride carbonica disciolta restituendo all'ambiente circostante ossigeno; la comunità eterotrofa, viceversa, utilizza l'ossigeno come elettrone accettore nel processo di mineralizzazione della sostanza organica.

Nella figura 3.2.1 sono evidenziati gli andamenti temporali della concentrazione di ossigeno nelle quattro stazioni oggetto di studio. Il valore minimo di concentrazione pari a 2,5 mg L⁻¹ è stato rilevato nell'agosto 2002 nelle stazioni M1, M15 e M17 e corrisponde al 36% in percentuale di saturazione. In questo periodo in tutto il bacino sono stati evidenziati limitati tenori di ossigeno disciolto e le quote di fondo hanno raggiunto le concentrazioni tipiche degli ambienti disossici. Ad eccezione di questo episodio, frequente nel periodo tardo estivo-autunnale, nel Golfo di Trieste, le concentrazioni rilevate sono quelle caratteristiche di un ambiente ossico, con valori massimi nel periodo freddo dell'anno che superano leggermente il 100% di saturazione nella quota superficiale.

I valori dell'utilizzo apparente di ossigeno (AOU), definito come differenza tra la concentrazione di ossigeno teorico (Kester 1981), calcolato considerando la solubilità di questo gas alla temperatura e salinità misurata *in situ*, e quello misurato, sono evidenziati nel boxplot di figura 3.2.2. La distribuzione dei dati indica una marcata variabilità, particolarmente

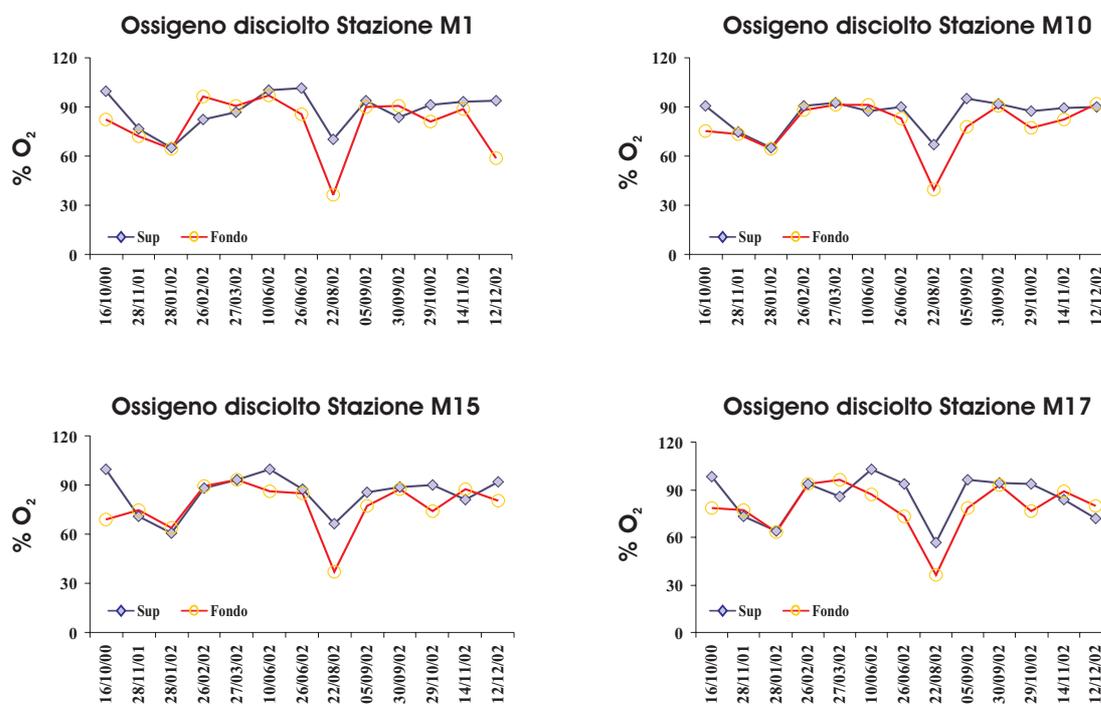


Figura 3.2.1 Distribuzione temporale dell'ossigeno disciolto (percentuale di saturazione) nelle 4 stazioni oggetto di studio.

accentuata nelle quote superficiali; i valori mediani positivi evidenziati suggeriscono una prevalenza dei processi rigenerativi rispetto a quelli di produzione primaria.

Per quantificare lo sbilanciamento tra la concentrazione di ossigeno presente nell'acqua superficiale e quella di fondo, è stato utilizzato l'Oxygen Index D (Justic 1991). Tale indice è definito come il valore della distanza euclidea tra l'eccesso ed il disavanzo di ossigeno disciolto, rispettivamente indicato come X_s e X_b . I valori assunti dall'indice D durante il periodo di campionamento, sono rappresentati nelle linee di densità di figura 3.2.3; la maggior parte dei dati si collocano attorno al valore di 0,2, mentre solamente una piccola parte dei dati supera il valore di 0,4 considerato come limite superiore per una situazione oligotrofica.

I valori assunti dalle due componenti dell'indice D sono evidenziati nella figura 3.2.4, dalla quale si nota che il maggior numero dei dati si posiziona nel quarto quadrante indicando uno sbilanciamento verso i processi di mineralizzazione.

Dai dati rilevati e dalle successive elaborazioni non risultano differenze significative tra le quattro stazioni; le acque della Baia di Muggia, come in generale quelle del Golfo di Trieste, risultano sostanzialmente ossiche con una prevalenza dei processi di respirazione rispetto a quelli relativi alla produzione primaria.

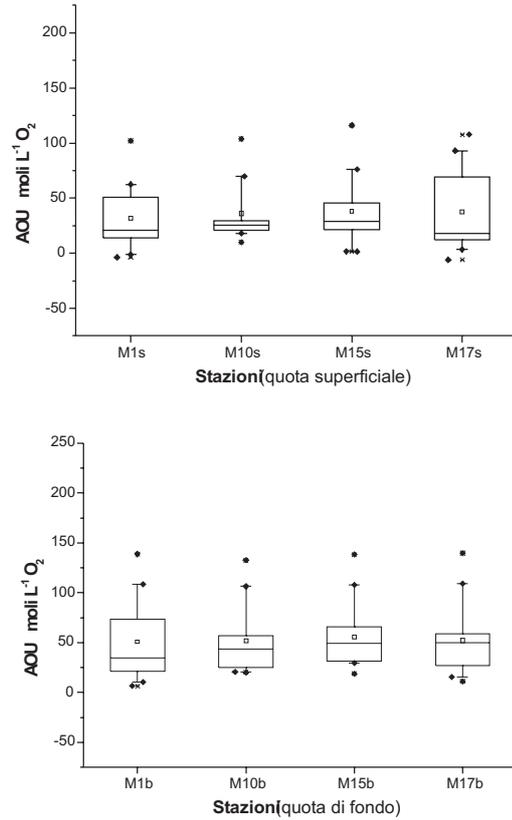


Figura 3.2.2 Boxplots dei valori dell'Utilizzo Apparente di Ossigeno (AOU).

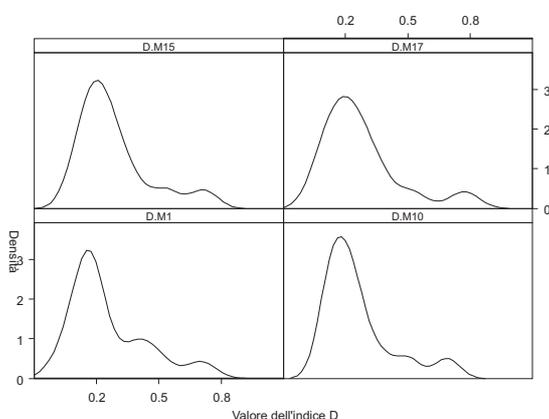


Figura 3.2.3 Linee di densità dell'indice D.

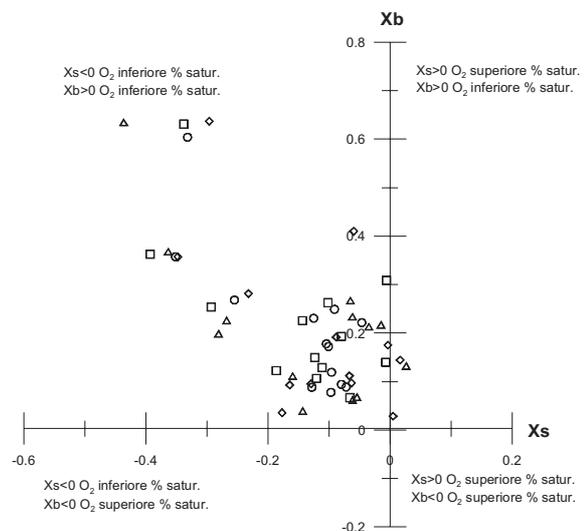
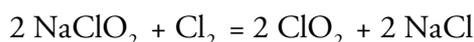


Figura 3.2.4 Componenti dell'indice D.

Cloro residuo

Il biossido di cloro (ClO_2) viene comunemente utilizzato, negli impianti di raffreddamento, quale agente antifouling, in quanto risulta maggiormente efficace (Junli et al. 1997) e meno pericoloso per l'ambiente rispetto ad altri disinfettanti. Il ClO_2 , infatti, è attivo sia sui microrganismi (batteri, funghi e alghe, responsabili della formazione del "primary slime"), che sui macroorganismi in forma larvale ed adulta; la sua attività è indipendente dal pH, non è selettivo nei confronti dei microrganismi e non dà assuefazione; agisce velocemente ed efficacemente anche a bassi dosaggi ed è compatibile con anticorrosivi e antincrostanti. Il ClO_2 , inoltre, non reagisce con l'ammoniaca e quindi non forma cloroammine, tossiche per la vita acquatica, e non ossida i bromuri ad ipobromiti in grado di formare bromo e bromati estremamente nocivi. Da un punto di vista pratico, quindi, il trattamento con ClO_2 assicura costi di manutenzione degli impianti relativamente bassi, lunghi periodi di esercizio (è meno corrosivo del cloro), e ridotto impatto ambientale grazie alla proprietà non clorurante. A differenza del cloro, infatti, il biossido di cloro non induce reazioni secondarie che portano alla formazione di composti tossici e refrattari quali clorofenoli o altri composti organoalogenati, in particolare trialometani (THM) noti come sostanze cancerogene. Trattandosi di un gas instabile deve essere preparato in situ attraverso la reazione del clorito di sodio con cloro gassoso:



Il trattamento antifouling con ClO_2 , inoltre, dovrebbe permettere di rispettare i limiti allo scarico di eventuali sottoprodotti indesiderati quali cloro residuo e AOX (Adsorbable Organic Halogens) oltre che ovviamente i THM. Se non vengono però rispettate le proporzioni stechiometriche, o se si utilizza un eccesso di disinfettante rispetto alla reale necessità, nelle acque di scarico si può ritrovare del cloro residuo che consiste nel cloro disponibile in soluzione sotto qualsiasi specie in uno stato di ossidazione superiore a -1 (ione cloruro). In particolare si definisce "cloro residuo totale" la quantità di cloro che rimane dopo un certo tempo in un campione d'acqua sottoposto a trattamento di clorazione. Si indica col termine di "cloro libero" il cloro presente come ione ipoclorito o acido ipocloroso e con quello di "cloro combinato" il cloro presente sotto forma di clorammine (non si formano nel trattamento con ClO_2). Gli effluenti clorati risultano tossici per gli organismi marini anche a concentrazioni estremamente limitate a causa degli effetti combinati tra numerosi ossocloro composti e alogenati (sia residui di cloro libero che combinato) quali quelli sopraccitati. Effetti di tossicità acuta per gli organismi marini, infatti, sono stati osservati con concentrazioni di cloro residuo totale pari o superiori a $20 \mu\text{g L}^{-1}$ ed effetti cronici sono evidenti anche con valori di $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Ma et al. 1998).

Sembra, inoltre, che il trattamento con ClO_2 non porti alla formazione di THM solo nel caso in cui l'acqua trattata sia priva di bromuri. Jun Wen Li et al. (1996), infatti, evidenziano che 20mg L^{-1} di ClO_2 addizionati ad un'acqua contenente 2mg L^{-1} di acidi umici (HA) non porta alla formazione di alcun tipo di THM (CHCl_3 , CHBrCl_2 , CHBr_2Cl o CHBr_3) in acque prive di bromuri, ma in presenza di elevate quantità di tali ioni, come ad esempio nell'acqua di mare, e di acidi umici, la formazione di THM può essere facilitata.

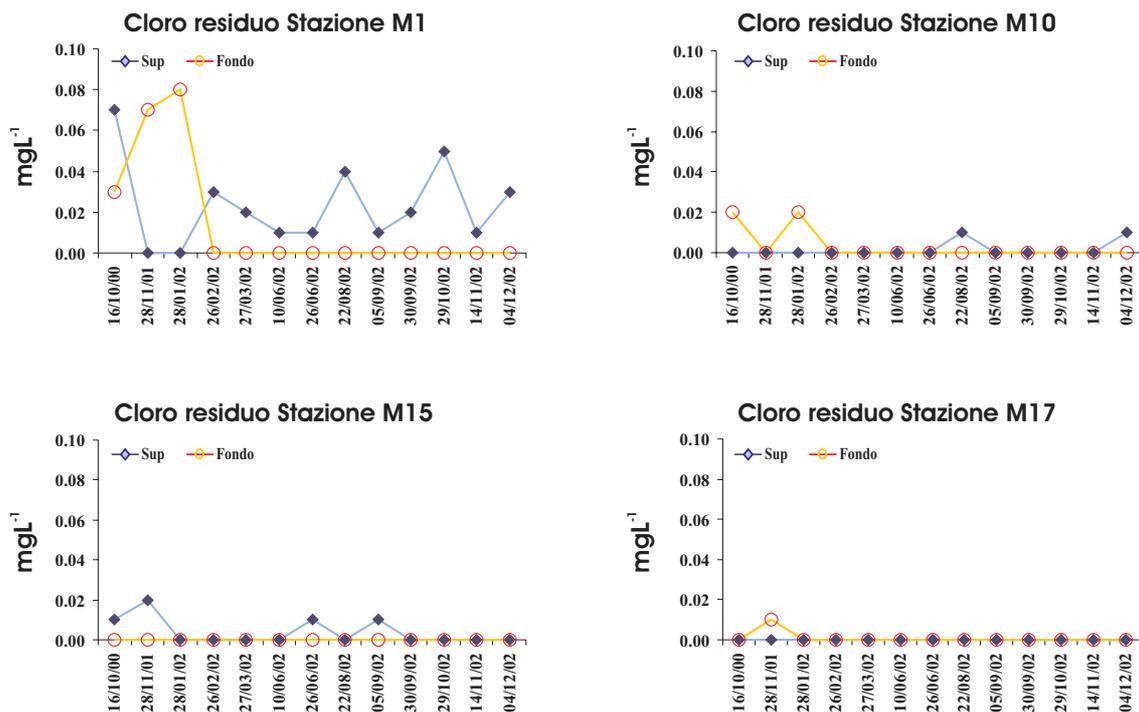


Figura 3.2.5 Distribuzione temporale della concentrazione di cloro residuo nelle 4 stazioni oggetto di studio.

In figura 3.2.5 sono riassunti gli andamenti temporali di concentrazione del cloro residuo nelle quattro stazioni oggetto di studio. Appare evidente come soltanto in corrispondenza della stazione M1, posizionata nell'area più vicina allo scarico delle acque di raffreddamento della centrale, siano presenti concentrazioni apprezzabili di cloro residuo totale soprattutto a livello superficiale. Risulta particolarmente anomalo il valore di concentrazione relativamente elevato ($0,07 \text{ mg L}^{-1}$), evidenziato in superficie nell'ottobre 2000, quando la centrale termoelettrica non era ancora entrata in funzione e, teoricamente, non ci sarebbero dovuti essere scarichi a mare di acque clorate. Altrettanto particolare è la situazione evidenziata in novembre 2001 e gennaio 2002 quando, a livello del fondo, sono state misurate concentrazioni pari rispettivamente a $0,07$ e $0,08 \text{ mg L}^{-1}$, mentre in superficie non è stata rilevata alcuna traccia di cloro. In seguito si sono osservate concentrazioni relativamente modeste di questo elemento nello strato superficiale della stazione M1 e la totale assenza al fondo. Nelle altre stazioni la presenza di cloro residuo è stata evidenziata soltanto saltuariamente e con concentrazioni trascurabili. Le quantità di cloro residuo rilevate sono, comunque, ampiamente al di sotto dei limiti stabiliti dall'attuale legislazione sugli scarichi in acque superficiali (D.Lgs. 152/99), che prevedono per il cloro attivo un limite massimo pari a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$.

L'utilizzo di biossido di cloro quale agente antifouling nelle acque di raffreddamento della centrale cogenerativa di Servola sembra, quindi, non avere un importante impatto ambientale sull'ecosistema marino circostante. L'influenza delle acque di scarico, infatti, è avvertita soltanto occasionalmente, a livello superficiale, nell'area più prossima allo scarico stesso e risulta sempre, comunque, limitata.

3.3 CLOROFILLA *a* E FEOPIGMENTI

Il fitoplancton, quale produttore primario, risulta particolarmente sensibile allo stress indotto sull'ambiente dall'attività antropica, che ne può determinare alterazioni nella composizione specifica, nell'abbondanza e nelle dinamiche stagionali (Moncheva et al. 2001). La determinazione della concentrazione di clorofilla *a*, pigmento prevalente degli organismi fitoplanctonici, rappresenta una tecnica relativamente semplice, utile per studiare le alterazioni della comunità fitoplanctonica poiché permette di stimare indirettamente la biomassa algale e la sua produttività. Complessivamente la clorofilla *a* costituisce dall'1 al 2 % in peso secco del materiale organico nel fitoplancton e, degradandosi velocemente alla morte delle cellule algali, soprattutto in seguito all'attività di grazing dello zooplancton ed ai processi di fotodegradazione, offre una misura indiretta della frazione di cellule viventi sull'intera biomassa algale (Rossi et al. 1994).

La distribuzione temporale della concentrazione di clorofilla *a* nelle 4 stazioni oggetto di studio è riportata in figura (fig. 3.3.1). Escludendo il massimo assoluto (4,66 $\mu\text{g L}^{-1}$), evidenziato a livello della quota superficiale della stazione M15 nell'ottobre del 2000, i valori di concentrazione nel successivo periodo di campionamento (novembre 2001 - dicembre 2002) risultano compresi tra 0,17 e 2,95 $\mu\text{g L}^{-1}$. L'evoluzione temporale sembra seguire gli andamenti più volte descritti per il Golfo di Trieste, caratterizzato dalle tipiche fioriture primaverili ed autunnali (Malej et al. 1995, Cabrini et al. 2000, De Vittor & De Prà 2003) che, sebbene nelle stazioni osservate non si siano manifestate con particolare intensità, sono in ogni modo distinguibili grazie agli aumenti di concentrazione di clorofilla evidenziati nei mesi di febbraio e novembre 2002 rispettivamente. Massimi superiori ai 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ sono stati misurati a giugno 2002 nella stazione M17 ed in agosto nelle altre 3 stazioni. I valori più elevati si riscontrano generalmente in superficie, ad eccezione di un massimo

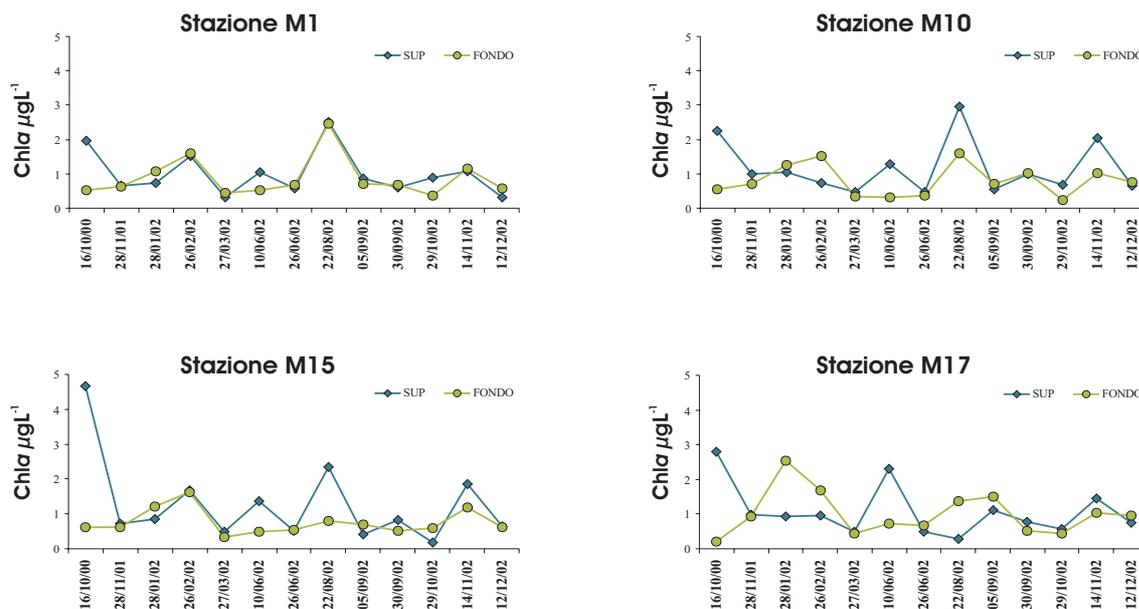


Figura 3.3.1 Distribuzione temporale della concentrazione di clorofilla *a* nelle 4 stazioni oggetto di studio.

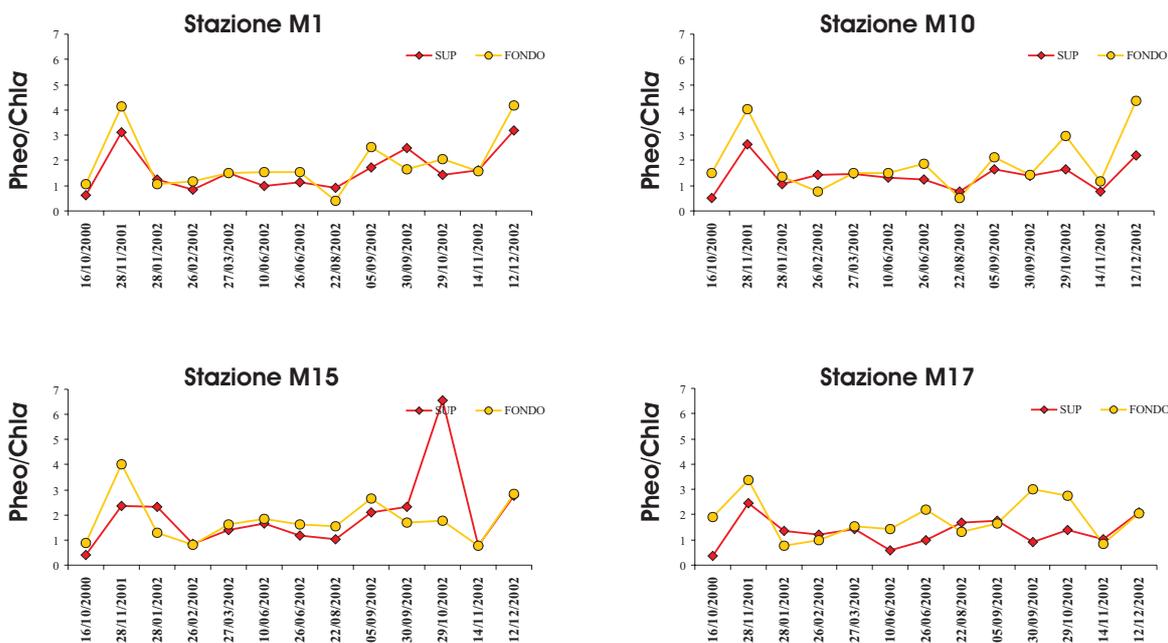


Figura 3.3.2 Distribuzione temporale del rapporto feopigmenti/clorofilla (*Pheo/Chla*) nelle 4 stazioni oggetto di studio.

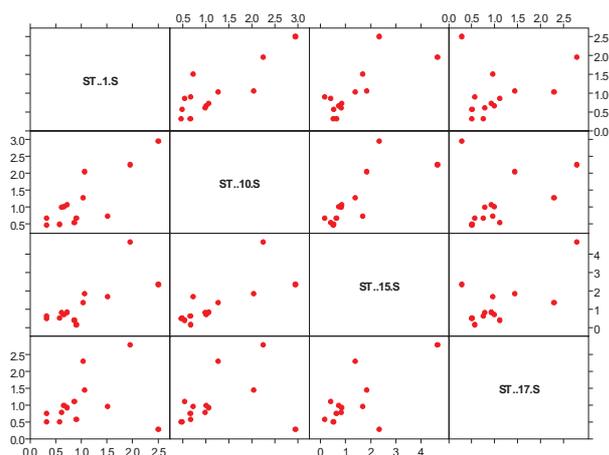
relativo, evidenziato in corrispondenza della quota di fondo della stazione M17 nel mese di gennaio, probabilmente attribuibile a risospensione di materiale sedimentato.

La concentrazione eccezionalmente elevata riscontrata nell'ottobre 2000, cui corrispondono valori elevati anche nelle altre stazioni, è sicuramente da mettere in relazione ad un'intensa fioritura microalgale che, in quel periodo, ha interessato tutte le acque del Golfo di Trieste (De Vittor & De Prà 2003).

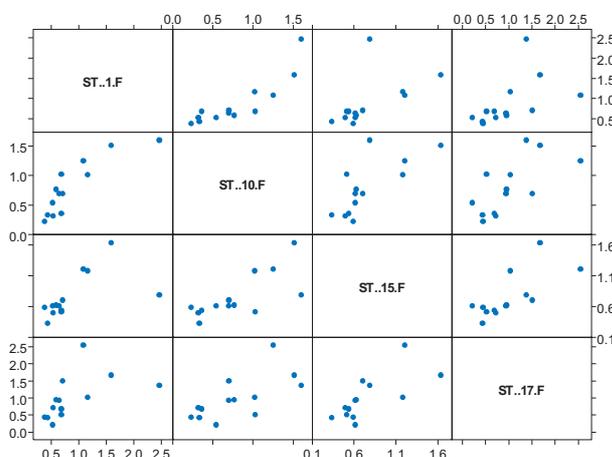
L'analisi dell'evoluzione temporale del rapporto feopigmenti/clorofilla *a* (fig. 3.3.2) evidenzia valori più bassi in corrispondenza ai massimi di clorofilla, dimostrando che in tali periodi la comunità fitoplanctonica si trovava in uno stadio iniziale di sviluppo. Il valore del rapporto tende generalmente ad aumentare nei periodi successivi ai picchi di clorofilla, indicando la presenza di elevate quantità di prodotti di degradazione derivanti dalle fioriture avvenute in precedenza.

Nei diagrammi di dispersione di figura 3.3.3 sono messe in relazione tra loro le 4 stazioni analizzate considerando separatamente le quote superficiali e di fondo.

Appare evidente come la distribuzione temporale della concentrazione di clorofilla sia comparabile nelle stazioni M1, M10 e M15, sia alla quota superficiale sia al fondo, mentre la stazione M17 manifesta, in superficie, un andamento alquanto dissimile da quello delle altre stazioni. Ciò è confermato anche dall'analisi delle matrici di correlazione (fig. 3.3.3) che evidenziano come soltanto i dati delle prime tre stazioni siano tra loro sempre significativamente correlati ($p < 0,1$; $n = 13$). Tali discrepanze non sono state evidenziate a livello del fondo, dove gli andamenti sono maggiormente confrontabili. Questo aspetto può forse essere messo in relazione con la presenza di acqua leggermente più calda in qualche modo segregata nello strato superficiale dell'area più costiera che in parte condiziona, talvolta favorendolo, lo sviluppo del popolamento fitoplanctonico.



	ST. M1S	ST. M10S	ST. M15S	ST. M17S
ST. M1S	1,00			
ST. M10S	0,82	1,00		
ST. M15S	0,76	0,76	1,00	
ST. M17S	0,27	0,32	0,67	1,00



	ST. M1F	ST. M10F	ST. M15F	ST. M17F
ST. M1F	1,00			
ST. M10F	0,87	1,00		
ST. M15F	0,58	0,73	1,00	
ST. M17F	0,54	0,68	0,72	1,00

Figura 3.3.3 Diagrammi di dispersione e matrici di correlazione relativi alle quote superficiali e di fondo delle 4 stazioni considerate.

Ad ogni modo le differenze osservate non risultano sostanziali, né da un punto di vista stagionale né spaziale, in quanto l'andamento e le variabilità riscontrate rientrano nell'intervallo di valori più volte descritto per il Golfo di Trieste. Dai dati di letteratura risulta, infatti, che i valori di concentrazione della clorofilla *a* nel Golfo variano in un intervallo discretamente ampio in funzione delle stagioni, dei diversi apporti di acque dolci e della presenza o meno di condizioni di stratificazione nella colonna d'acqua (Bregant et al. 1981, Fonda Umani 1991, Malej & Fonda Umani 1998, De Vittor & De Prà 2003).

3.4 PRODUZIONE PRIMARIA

I dati di produzione primaria evidenziano la presenza di un'abbondante fioritura durante la prima campagna di indagini, ad ottobre 2000; anche se vengono raggiunti tassi di assimilazione elevati soltanto in superficie (con un massimo di $91,7 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$). Il dato in M17 risulta inferiore a quelli registrati nella altre stazioni, attestandosi ad un valore di $34,1 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$.

Durante i restanti campionamenti l'andamento della produzione si presenta omogeneo lungo la colonna d'acqua in tutte le stazioni (fig. 3.4.1). In corrispondenza della fioritura estiva di *Chaetoceros anastomosans* (22 agosto 2002), il dato di produzione primaria subisce

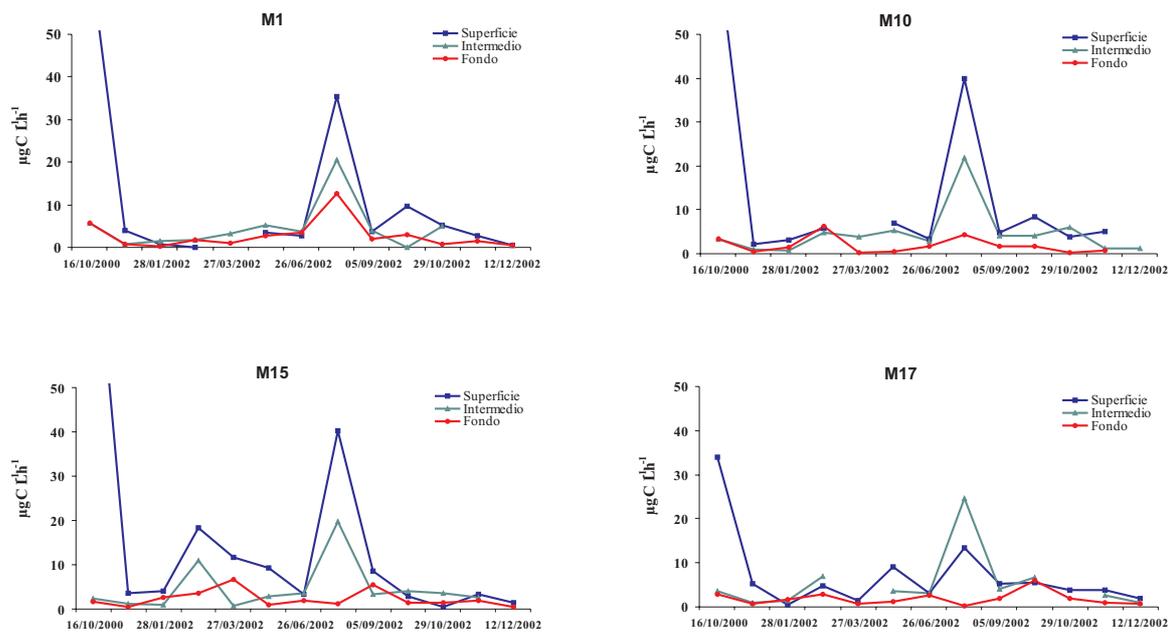


Figura 3.4.1 Variazione temporale della produzione primaria lungo la colonna d'acqua nelle quattro stazioni oggetto di studio.

un incremento notevole raggiungendo valori tra 35 e 40 $\mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$. Anche in questo caso nella stazione M17 alla quota superficiale, è stato registrato un tasso di produzione più basso (13 $\mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$), mentre alla quota intermedia il dato è analogo a quelli delle altre stazioni (24,5 $\mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$ in M17 e 20 $\mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$ negli altri 3 siti). Inoltre, nelle stazioni M1 ed M15 durante la fioritura estiva si registrano dati di produzione in superficie maggiori rispetto a quelli delle quote intermedie, mentre la comunità fitoplanctonica risulta essere più abbondante alle quote sub-superficiali. Questo fatto può essere causato dall'apporto di acqua calda e quindi meno densa che si stratifica in superficie, rendendo metabolicamente più attiva la componente autotrofa che di conseguenza aumenta il tasso di carbonio assimilato, come già osservato in altri studi simili (Hirayama & Hirano 1970, Lee Chen 1992). Tale ipotesi trova ulteriore conferma dai dati registrati alla quota superficiale della stazione M17, non influenzata dallo scarico dell'impianto, che risultano quasi sempre più bassi rispetto ai valori rilevati nelle altre stazioni.

Dal confronto dei valori di bioproduzione con l'andamento della concentrazione di cloro non si rilevano particolari anomalie né alcuna relazione.

3.5 RESPIRAZIONE

Il processo respiratorio rappresenta il meccanismo attraverso il quale il carbonio viene trasferito dal comparto organico a quello inorganico.

La CO_2 , fissata ed organicata con la fotosintesi, ritorna allo stato gassoso a seguito della degradazione della sostanza organica mediante consumo di O_2 . Il metodo utilizzato per stimare la concentrazione della CO_2 prodotta dalla respirazione prevede la misura dell' O_2 disciolto consumato, al buio, in un intervallo di tempo pari a 24 ore. Secondo la relazione $\text{CO}_2/\text{O}_2=1$ (Chin-Leo & Banner 1992) l'ossigeno utilizzato viene trasformato in carbonio equivalente.

Dall'analisi dei risultati ottenuti durante il campionamento si evince che le quattro stazioni investigate presentano andamenti relativi al consumo di ossigeno abbastanza disomogenei sia nel tempo che lungo la colonna d'acqua.

Nella stazione M1 il tasso respiratorio raggiunge il valore medio più elevato delle 4 stazioni (pari a $6,14 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$) (fig. 3.5.1). In dicembre, alla quota di 11 m, viene registrato anche il valore massimo rilevato durante l'intero periodo di studio ($52,71 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$). Durante il resto del periodo invernale la respirazione è ridotta e soltanto in marzo si osserva un discreto incremento negli strati più profondi della colonna d'acqua. Negli strati superficiali e subsuperficiali, invece, il processo respiratorio aumenta considerevolmente a fine agosto e all'inizio di settembre. Diminuisce poi nuovamente per incrementare considerevolmente negli ultimi mesi dell'anno.

La stazione M10 evidenzia oscillazioni meno marcate sia nel tempo che nello spazio, con un consumo di ossigeno medio di $3,28 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$ (fig. 3.5.2). Durante i primi mesi dell'anno la respirazione è talmente bassa da essere difficilmente rilevabile e soltanto a partire da giugno si registra un modesto incremento, dapprima in superficie e quindi lungo tutta la colonna d'acqua, che diviene più marcato nel periodo autunnale fino a raggiungere, in dicembre, alla quota intermedia, il valore massimo ($20,26 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$).

L'andamento della respirazione, nella stazione M15 (fig. 3.5.3), risulta ancora disomogeneo a livello sia spaziale sia temporale, con un valore medio di $4,19 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$. Il consumo di ossigeno rimane piuttosto contenuto fino ad agosto, fatta eccezione per puntiformi incrementi che sono stati rilevati in gennaio al fondo, in marzo alla quota intermedia ed in giugno negli strati più superficiali, probabilmente dovuti a fenomeni locali e confinati. A partire da agosto la respirazione aumenta lungo tutta la colonna d'acqua e si mantiene piuttosto elevata fino alla fine di ottobre quando i valori ritornano ai livelli primaverili. In novembre e dicembre, al contrario, il processo respiratorio ridiventa intenso con il raggiungimento dei valori massimi, $27,48 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$ in novembre, in superficie.

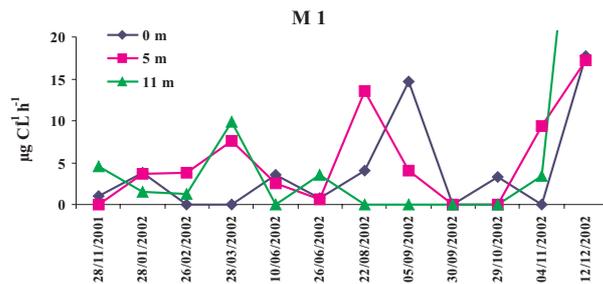


Figura 3.5.1 Andamento temporale del tasso di respirazione nella stazione M1.

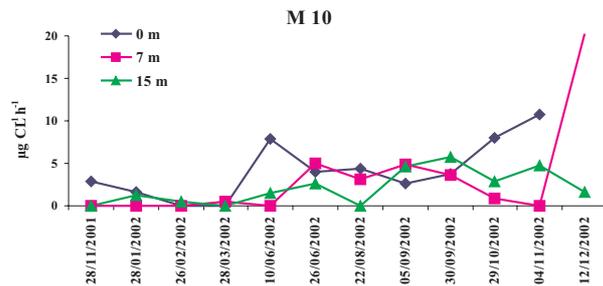


Figura 3.5.2 Andamento temporale del tasso di respirazione nella stazione M10.

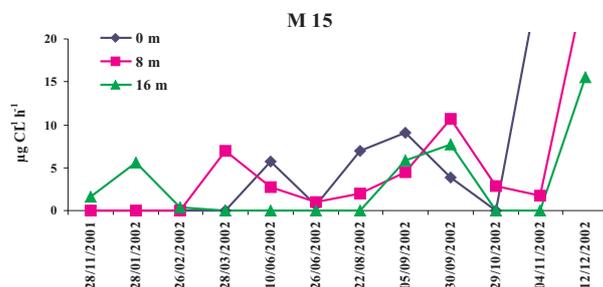


Figura 3.5.3 Andamento temporale del tasso di respirazione nella stazione M15.

L'andamento spazio-temporale del tasso di respirazione nella stazione M17 risulta confrontabile con quello della stazione M15. La produzione media di carbonio inorganico si attesta su valori pari a $4,77 \mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$ (fig. 3.5.4). A differenza della stazione M15, però, l'incremento estivo si manifesta già a fine giugno ed i valori rimangono elevati fino a fine ottobre quando si evidenzia una flessione che non raggiunge, peraltro, l'intensità rilevata nella stazione M15. Analogamente a quanto già osservato, il tasso respiratorio aumenta nuovamente in novembre e dicembre. Va inoltre sottolineato che la maggior produzione di CO_2 si registra spesso alla quota più profonda.

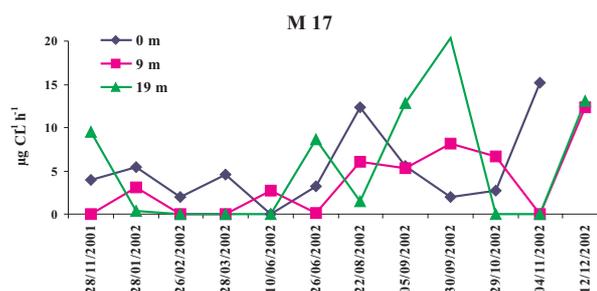


Figura 3.5.4 Andamento temporale del tasso di respirazione nella stazione M17.

Confrontando i risultati ottenuti con le osservazioni relative all'intero Golfo di Trieste si evidenzia una generale confrontabilità dei dati.

Per ridurre la variabilità legata alla distribuzione "hot spot" delle comunità planctoniche e del substrato organico, i dati puntiformi ottenuti dalle misure effettuate a quote discrete, sono stati integrati lungo la colonna d'acqua ed espressi in $\text{mgC m}^{-3} \text{h}^{-1}$ (equivalenti ai $\mu\text{gC L}^{-1} \text{h}^{-1}$) (fig. 3.5.5). Il risultato più evidente riguarda la ridotta produzione di C inorganico attraverso il processo respiratorio fino al mese di giugno in tutte le stazioni campionate, fatta eccezione per un lieve incremento in marzo nella stazione M1. Durante l'estate la respirazione è più intensa e raggiunge valori estremamente elevati alla fine di settembre nelle stazioni M15 e M17 con, rispettivamente, $9,52$ e $10,73 \text{ mgC m}^{-3} \text{h}^{-1}$. Nei mesi autunnali il processo respiratorio è molto contenuto mentre, in dicembre, la comunità planctonica consuma grandi quantità di carbonio organico raggiungendo i valori massimi di respirazione di tutto il periodo di studio.

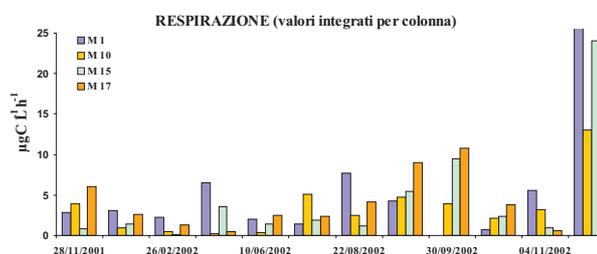


Figura 3.5.5 Respirazione nelle quattro stazioni oggetto di studio (valori integrati per la colonna d'acqua).

Non sono evidenti relazioni significative tra l'intensità del processo respiratorio e la temperatura dell'acqua. E' utile ricordare che la respirazione è un processo riferibile a tutta la comunità planctonica, composta da organismi di varie dimensioni e funzioni, in cui i batteri risultano i più abbondanti. Il metabolismo di questi procarioti non viene particolarmente influenzato dalla temperatura ma piuttosto dalle caratteristiche del substrato da degradare. La sostanza organica più appetibile dal popolamento batterico è quella prodotta dal fitoplancton attraverso i processi di fotosintesi. Il grado di accoppiamento tra produzione fototrofa e respirazione eterotrofa all'interno della comunità planctonica consente, pertanto, di valutare l'efficienza del trasferimento di energia verso i livelli trofici superiori.

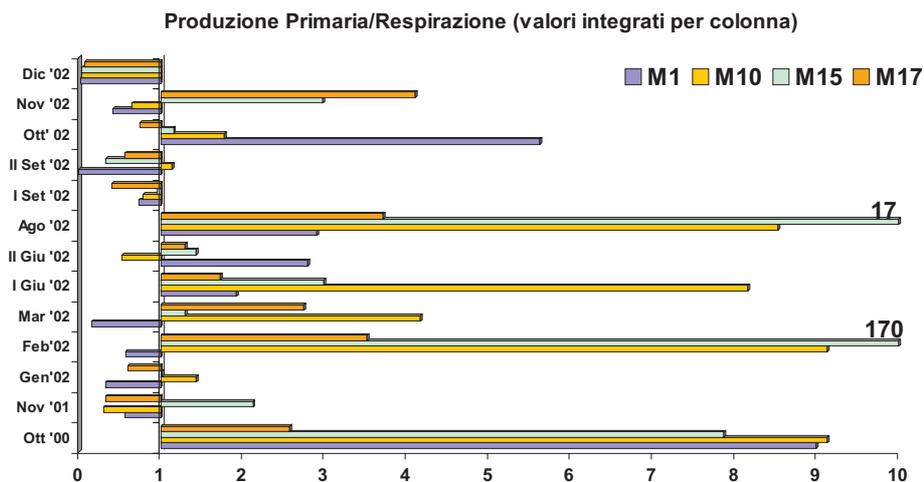


Figura 3.5.6 Rapporto produzione primaria/respirazione nelle quattro stazioni oggetto di studio.

Il rapporto tra la concentrazione di carbonio organico attraverso la produzione primaria e la concentrazione di carbonio consumata attraverso la respirazione offre un'indicazione della prevalenza di un determinato grado di trofia del sistema. Dai dati ottenuti si evidenzia una marcata autotrofia durante tutto il periodo primaverile ed estivo, particolarmente evidente nelle stazioni M15 e M17 (fig. 3.5.6). Con il sopraggiungere dell'autunno la produzione primaria non è più in grado di sostenere la richiesta energetica del popolamento planctonico ed il rapporto tra produzione primaria e respirazione diviene, salvo rare eccezioni, inferiore ad uno.

3.6 ELECTRON TRANSPORT SYSTEM (ETS)

L'ossigeno disciolto è uno dei parametri fondamentali negli studi sulla qualità dell'ecosistema marino. La solubilità dell'ossigeno è influenzata sia da parametri chimico-fisici, quali gli scambi che intercorrono tra la superficie dell'acqua e l'atmosfera, la temperatura, la pressione e la salinità, sia da parametri biologici quali l'attività batterica, il tasso di respirazione e la fotosintesi. La sua distribuzione, inoltre, viene controllata da fenomeni di advezione e diffusione che avvengono lungo la colonna d'acqua. Accanto a questi fenomeni naturali, la quantità di ossigeno può variare per la presenza sulla superficie dell'acqua di sostanze esogene quali grassi, idrocarburi e detergenti, i quali ne limitano la solubilità. La distribuzione dell'ossigeno, ad ogni modo, è dovuta prevalentemente all'equilibrio che si instaura tra i processi a carico dei produttori primari e quelli a carico della comunità eterotrofa, piuttosto che a reazioni di tipo inorganico (Packard et al. 1971a).

Il consumo di ossigeno lungo la colonna d'acqua è difficile da misurare utilizzando il metodo tradizionale Winkler (Winkler 1888), il quale risulta generalmente poco sensibile nel caso in cui i tassi di respirazione siano molto bassi. Ecco perché, analogamente a quanto effettuato per la misura di altri parametri biologici, si ricorre ad un approccio di tipo enzimatico. Tale approccio richiede però l'identificazione della reazione che limita la velocità massima del processo stesso (Packard et al. 1971b). Nel 1961 era stato proposto l'utilizzo dell'enzima succinicodeidrogenasi per stimare l'attività respiratoria in campioni di

zooplancton (Curl & Sandberg 1961). Tale enzima si dimostrò però inutilizzabile per campioni di fitoplancton (Pearre Sifford 1964). La misura dell'attività della catena di trasporto degli elettroni (Electron Transport System - ETS), invece, costituisce un ottimo metodo per determinare il potenziale di respirazione di una comunità planctonica (Klingenberg 1968). Tale complesso multienzimatico, costituito da citocromi, flavoproteine e ioni metallici, è localizzato a livello dei mitocondri (membrana interna) e dei suoi microsomi sia in cellule di origine animale che vegetale (fig. 3.6.1). Il complesso funziona come un sistema redox, il quale trasporta gli elettroni derivanti dai prodotti del catabolismo (ciclo di Krebs) all'ossigeno (o NO_3^-), l'accettore finale. L'energia liberata in questa successione di reazioni di ossido-riduzione viene utilizzata nella fosforilazione dell'ADP a carico della proteina di transmembrana (Fo-F1)-ATPasi (fig. 3.6.2) con produzione finale di ATP (Penefsky & Cross 1991).

Alcuni autori hanno dimostrato la capacità di una classe di composti organici (sali di tetrazolio) di agire a livello della catena di trasporto degli elettroni (Altman 1976). In particolare il 2-(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil tetrazolio cloruro (INT) (Kalina & Palmer 1968) si intercala nella catena ossidativa tra l'ubichinone e il citocromo c (Nachlas et al. 1960). In presenza degli opportuni substrati (NADH, NADPH, succinato) tale composto si comporta da accettore finale di elettroni sostituendosi alle molecole di ossigeno e permettendo così la misura delle V_{max} dell'attività del complesso in omogenati ottenuti da campioni di plancton. La reazione comporta la riduzione dell'INT nel composto colorato Formazan (fig. 3.6.3), il quale è dosabile spettrofotometricamente e la

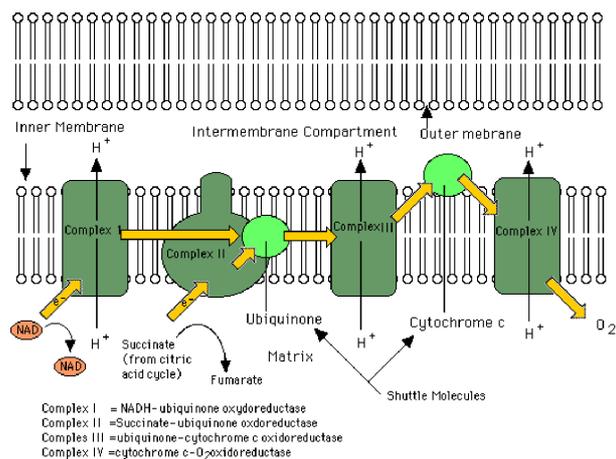


Figura 3.6.1 Rappresentazione schematica della catena di trasporto degli elettroni.

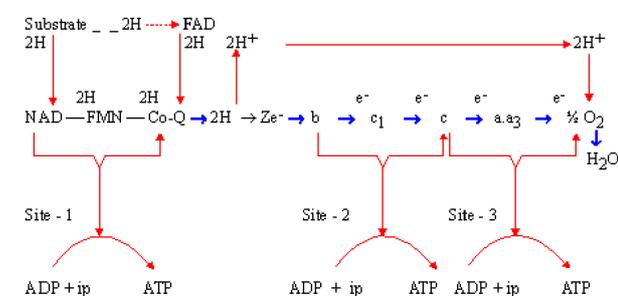


Figura 3.6.2 Reazioni implicate nei processi di fosforilazione ossidativa.

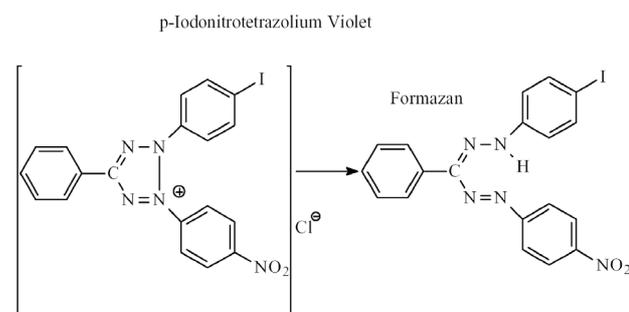
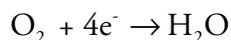
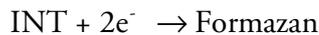


Figura 3.6.3 Riduzione del substrato.

cui quantità è correlata in modo stechiometrico al consumo dell'ossigeno secondo la relazione:



Ciò permette di calcolare gli equivalenti di ossigeno derivanti dalla riduzione dell'INT (Packard & Williams 1981).

Vari tipi di agenti perturbanti hanno un effetto inibitorio sulla respirazione degli organismi. Tra questi i più diffusi e di conseguenza i più studiati appartengono alla classe dei metalli pesanti e dei pesticidi (Kamler 1972). L'effetto inibitorio comporta la perdita della funzionalità dell'enzima per interazione con la porzione citocromica del complesso (Holian & Wilson 1980, Broberg 1983, Szabo 1989). E' altresì evidente che il potenziale incremento della concentrazione di cloro (dovuto all'attivazione dell'impianto) nel bacino oggetto di studio, possa provocare effetti analoghi a quelli sopra citati. Similmente ad altri sistemi enzimatici, anche l'ETS può modificare la sua attività in risposta a variazioni dell'ambiente circostante. Tale modificazione implica una regolazione fine del sistema, la quale si esplica o in una variazione di concentrazione dell'enzima stesso, oppure in una variazione della sua attività. Nel primo caso, si ha una repressione a livello genico nella sintesi delle deidrogenasi mentre, nel secondo caso, specifiche molecole ad attività regolativa provocano una modificazione allosterica dell'enzima (Dean & Koshland 1990). Quest'ultima può essere dovuta a variazioni nella disponibilità del substrato, ma sono soprattutto fattori chimici, quali il pH e la forza ionica, e fattori fisici, quali la pressione e la temperatura a far prevalere tale tipo di risposta. In particolare gli adattamenti alla temperatura sono sostanzialmente molto rapidi

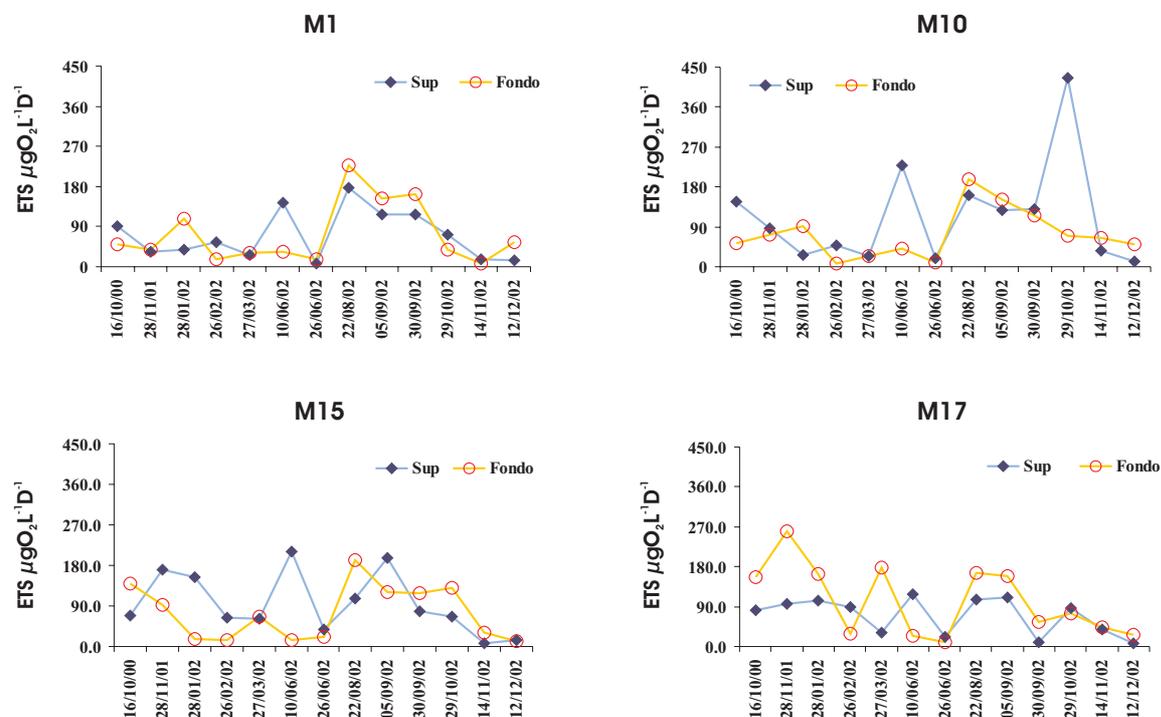


Figura 3.6.4 Distribuzione temporale dell'ETS (Electron Transport System) nelle 4 stazioni oggetto di studio.

rispetto agli altri, in quanto vanno a modificare le proprietà cinetiche e termodinamiche (affinità per il substrato, energia di attivazione) del complesso enzimatico (Low et al. 1973).

Le misure di attività sono state condotte su campioni d'acqua provenienti da quattro stazioni all'interno del bacino (M1, M10, M15, M17), in superficie e al fondo. Facendo una verifica degli andamenti (fig. 3.6.4) si nota che generalmente i livelli più elevati di attività si concentrano in uno specifico intervallo stagionale. In tre delle quattro stazioni (M1, M10, M15), infatti, nel periodo compreso tra i mesi di agosto e settembre 2002, sono stati trovati i valori medi di attività più elevati di tutto l'anno. I livelli medi minimi di attività sono invece associati alle misure effettuate in novembre e dicembre del 2002. Dall'analisi dei dati emerge che il massimo dell'attività si è verificato nel mese di ottobre 2002 nella stazione M10 alla quota superficiale ($425,8 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}\text{D}^{-1}$), mentre il valore minimo è stato registrato al fondo della stazione M1 nel mese di novembre 2002 ($7,7 \text{ } \mu\text{gO}_2 \text{ L}^{-1}\text{D}^{-1}$). Generalmente, comunque, non è stata evidenziata un'effettiva predominanza dell'attività in una quota rispetto all'altra. Ciò contrasta con quanto riportato da Packard et al. (1988), che evidenziano decrementi esponenziali dell'attività con l'aumentare della profondità. Tali autori, però, hanno lavorato in ambienti notevolmente diversi per profondità ed idrodinamismo rispetto alla Baia di Muggia, o il Golfo di Trieste, per i quali non esistono in letteratura dati pregressi.

L'analisi dell'influenza dell'attivazione della centrale termoelettrica va ricercata nei risultati ottenuti nella stazione M1. Il primo campionamento (ottobre 2000), effettuato prima della messa in funzione dell'impianto, presenta valori di attività molto simili a quelli registrati nello stesso periodo con l'impianto già in funzione (ottobre 2002). Tale risultato, assieme all'evidente andamento stagionale di tutto il sistema, e alla relativamente scarsa differenza di attività nelle quattro stazioni in esame, indica che non c'è stata una significativa alterazione dovuta a fenomeni perturbativi di origine chimico-fisica. Bisogna comunque considerare che la misura dell'ETS effettuata, rappresenta la massima potenzialità respiratoria del sistema (Savenkoff et al. 1995) e non una misura reale *in vivo* (Båmstedt 2000). Taluni fattori, inoltre, possono determinare una sovrastima dell'attività. Tra questi il più importante sembra essere rappresentato da ossidasi di origine algale e batterica le quali competono per gli stessi substrati dell'ETS (Packard et al. 1996).

3.7 TESTS DI TOSSICITÀ

Il crescente sviluppo dei processi produttivi industriali ed in genere delle attività antropiche hanno, come è noto, un pesante impatto sulle varie componenti dell'ambiente e pongono il problema di definire quale possa essere lo sviluppo sostenibile di tali attività per l'ambiente stesso, senza determinare un processo di degrado irreversibile, e quali possono essere i meccanismi di interazione tra xenobiotici e recettori. In quest'ottica i saggi biologici svolgono un ruolo importante nella valutazione dell'impatto reale o potenziale di agenti antropici sull'ambiente naturale.

Durante l'ultimo decennio la ricerca di opportuni "organismi indicatori di inquinamento" ed il conseguente sviluppo ed applicazione di tests ecotossicologici hanno subito un significativo incremento. Tra gli organismi per la rivelazione della tossicità, enorme successo ha avuto il test che si basa sull'utilizzo di batteri bioluminescenti.

In Italia, precedentemente alla promulgazione del D.Lgs. 152/99, i tests di tossicità sono stati impiegati per la protezione ambientale in misura puramente virtuale. Il menzionato decreto li introduce, invece, in modo consistente ed approfondito. Il *Vibrio fischeri* (precedentemente *Photobacterium phosphoreum*), in particolare, è tra gli organismi di cui è previsto l'uso per valutare il rischio associato alla presenza di microinquinanti organici negli scarichi, nonché nei corpi recettori.

Nel vasto panorama dei saggi biologici standardizzati oggi disponibili, il test batterico che utilizza *V. fischeri* sembra essere tra i più diffusi ed attendibili ed ampiamente utilizzato per rilevare effetti acuti delle sostanze tossiche in tutte le matrici (Environmental Canada 1992, ASTM 1995, AFNOR 1991, EPA 1991, DIN 1991, ICRAM 1996).

L'organismo utilizzato per il test è rappresentato dal batterio bioluminescente *V. fischeri*, batterio marino Gram-negativo della famiglia delle vibrionacee.

Il principio del test si basa sulla valutazione dell'energia luminosa sviluppata da questi batteri. La produzione di luce da parte di questi microrganismi è il risultato di un processo metabolico delle cellule ed è il riflesso del loro "stato di salute". L'emissione luminosa è catalizzata da luciferasi batteriche che utilizzano l'ossigeno molecolare per ossidare simultaneamente la luciferina e l'FMNH₂ e questo processo è accompagnato da emissione di luce (Meighen 1991).

L'inibizione ad opera di una sostanza tossica di uno dei numerosi enzimi direttamente o indirettamente coinvolti nel processo di bioluminescenza, conduce ad una riduzione della produzione di luce. La capacità luminosa dei batteri risulta, quindi, essere inversamente proporzionale al grado di tossicità della sostanza analizzata. In altri termini, la quantità di luce

specie test	<i>Vibrio fischeri</i>
kit utiliz	Ecotox
matrice	acqua di mare
tipo test	Comparison

data camp.	16-ott-00	0		28-nov-01	1		28-gen-02	2		26-feb-02	3		27-mar-02	4		10-giu-02	5		26-giu-02	6	
data test	17-ott-00			28-nov-01			28-gen-02			26-feb-02			27-mar-02			10-lug-02			10-lug-02		
	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	
St. M1 sup.	14.74	0	2.45	0	10.08	0	4.47	0	6.76	0	-77.52	0	-10.01	0							
St. M1 fondo	14.74	0	3.84	0	12.65	0	7.01	0	-4.18	0	-66.33	0	-17.41	0							
St. M10 sup.	0.00	0	13.99	0	-15.80	0	14.92	0	-1.45	0	-110.82	0	0.00	0							
St. M10 fondo	-4.31	0	11.80	0	7.36	0	5.52	0	-8.45	0	-101.74	0	1.81	0							
St. M15 sup.	-4.31	0	24.44	0	23.50	0	7.36	0	4.23	0	-6.80	0	2.82	0							
St. M15 fondo	-4.31	0	16.76	0	11.41	0	11.78	0	-9.60	0	-13.93	0	1.63	0							
St. M17 sup.	-4.31	0	26.51	0	11.07	0	11.22	0	14.00	0	7.00	0	-2.31	0							
St. M17 fondo	-4.31	0	29.55	0	20.50	0	11.02	0	-3.96	0	15.10	0	7.92	0							
data camp.	22-ago-02	7		5-set-02	8		30-set-02	9		29-ott-02	10		14-nov-02	11		12-dic-02	12				
data test	22-ago-02			5-set-02			30-set-02			29-ott-02			14-nov-02			13-dic-02					
	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU	% inibiz	TU					
St. M1 sup.	4.59	0	-12.45	0	-11.20	0	1.29	0	7.12	0	1.10	0									
St. M1 fondo	-24.20	0	-22.21	0	-20.97	0	-11.41	0	-0.07	0	10.32	0									
St. M10 sup.	-11.57	0	-12.96	0	-27.28	0	-0.50	0	-2.61	0	5.41	0									
St. M10 fondo	-30.88	0	-3.51	0	-23.01	0	-9.67	0	-7.15	0	2.05	0									
St. M15 sup.	19.19	0	7.12	0	9.29	0	-14.79	0	32.51	0	2.42	0									
St. M15 fondo	9.67	0	-11.57	0	8.09	0	-15.68	0	34.28	0	1.39	0									
St. M17 sup.	10.33	0	-18.95	0	8.61	0	-24.35	0	20.93	0	-9.79	0									
St. M17 fondo	9.62	0	-21.67	0	13.89	0	-34.16	0	10.62	0	-1.53	0									

Tabella 3.7.1 Valori medi delle letture dopo 5 e 15 minuti delle percentuali di inibizione alla bioluminescenza da parte di *Vibrio fischeri* per le 13 crociere.

		superficie		fondo	
		Variabile 1	Variabile 2	Variabile 1	Variabile 2
St. M1	Media	18.23	17.35	18.23	18.15
	Varianza	262.98	243.23	262.98	275.76
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.99		0.99	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	2.45	P<005	0.19	
	P(T<=t) una coda	0.01		0.43	
	t critico una coda	1.71		1.71	
St. M10	Media	18.23	17.33	18.23	17.10
	Varianza	262.98	200.32	262.98	175.90
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.98		0.95	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	1.24		1.01	
	P(T<=t) una coda	0.11		0.16	
	t critico una coda	1.71		1.71	
St. M15	Media	15.22	12.63	15.22	12.63
	Varianza	251.77	144.97	251.77	130.75
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.98		0.94	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	2.62	P<001	2.01	P<005
	P(T<=t) una coda	0.01		0.03	
	t critico una coda	1.71		1.71	
St. M17	Media	15.62	12.77	15.62	13.30
	Varianza	260.58	125.21	260.58	136.70
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.97		0.95	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	2.31	P<005	1.84	P<005
	P(T<=t) una coda	0.02		0.04	
	t critico una coda	1.71		1.71	

Tabella 3.7.2a Tossicità: test t di student per le letture con Microtox dopo 5 minuti.

persa da una sospensione di batteri luminescenti dopo l'esposizione al campione rispetto alla situazione "naturale" è una misura della tossicità delle sostanze.

I risultati delle prove di tossicità sono riportati in tabella 3.7.1 dove le percentuali di inibizione o stimolazione sono espresse come media delle letture dopo 5 e dopo 15 min. Per tutti i campioni la EC_{50} è risultata maggiore del 90%, quindi non è stato possibile calcolare le corrispettive unità tossiche (UT), tuttavia in alcuni mesi e soprattutto in alcune stazioni si è riscontrata una leggera inibizione alla bioluminescenza di *V. fischeri* rispetto ai campioni di controllo. Delle quattro stazioni analizzate nei tredici campionamenti quella che più volte ha causato un'inibizione batterica è stata la stazione M15 seguita dalla M1 e dalla M17, mentre nella M10 si è osservata la minor inibizione. La massima inibizione rispetto ai cam-

		superficie		fondo	
		Variabile 1	Variabile 2	Variabile 1	Variabile 2
St. M1	Media	18.01	17.74	18.01	18.28
	Varianza	241.51	236.98	241.51	270.30
	Osservazioni	12.00	12.00	12.00	12.00
	Correlazione di Pearson	1.00		1.00	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	11.00		11.00	
	Stat t	1.18		-0.54	
	P(T<=t) una coda	0.13		0.30	
	t critico una coda	1.80		1.80	
St. M10	Media	18.01	17.60	17.43	16.99
	Varianza	241.51	192.82	229.57	162.81
	Osservazioni	12.00	12.00	12.00	12.00
	Correlazione di Pearson	0.98		0.96	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	11.00		11.00	
	Stat t	0.44		0.33	
	P(T<=t) una coda	0.34		0.37	
	t critico una coda	1.80		1.80	
St. M15	Media	14.89	12.99	14.89	12.71
	Varianza	226.11	138.42	226.11	110.91
	Osservazioni	12.00	12.00	12.00	12.00
	Correlazione di Pearson	0.98		0.94	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	11.00		11.00	
	Stat t	1.59		1.21	
	P(T<=t) una coda	0.07		0.13	
	t critico una coda	1.80		1.80	
St. M17	Media	15.16	13.14	15.16	13.31
	Varianza	232.08	114.43	232.08	123.53
	Osservazioni	12.00	12.00	12.00	12.00
	Correlazione di Pearson	0.95		0.93	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	11.00		11.00	
	Stat t	1.15		1.01	
	P(T<=t) una coda	0.14		0.17	
	t critico una coda	1.80		1.80	

Tabella 3.7.2b Tossicità: test t di student per le letture con Microtox dopo 15 minuti.

pioni di controllo è stata trovata nella stazione M15 a novembre 2002, dove nel campione superficiale si aveva una diminuzione della bioluminescenza batterica del 32,5%, in quello di fondo del 34,3%. Per verificare la differenza percentuale nella bioluminescenza tra il controllo e il campione nelle 12 campagne effettuate dopo l'entrata in funzione dell'impianto è stato effettuato il test statistico t di student tra i due gruppi di dati sia per le letture dopo 5 minuti e 15 minuti (tab. 3.7.2a-b) che per l'insieme di tali valori. (tab. 3.7.2c). Da qui è risultato che nelle letture effettuate dopo 5 minuti i campioni superficiali delle stazioni M1, M15 e M17 presentavano differenze significative rispetto ai controlli ($p \leq 0,05$) mentre nelle letture dopo 15 minuti soltanto il campione M15 si avvicinava ad una significatività del 95% ($p = 0,05$). Nel t test per entrambe le letture (5 e 15 min) si aveva una differenza

		superficie		fondo	
		Variabile 1	Variabile 2	Variabile 1	Variabile 2
St. M1	Media	18.23	17.35	18.23	18.15
	Varianza	262.98	243.23	262.98	275.76
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.99		0.99	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	2.45	P<005	0.19	
	P(T<=t) una coda	0.01		0.43	
	t critico una coda	1.71		1.71	
St. M10	Media	18.23	17.33	18.23	17.10
	Varianza	262.98	200.32	262.98	175.90
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.98		0.95	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	1.24		1.01	
	P(T<=t) una coda	0.11		0.16	
	t critico una coda	1.71		1.71	
St. M15	Media	15.22	12.63	15.22	12.63
	Varianza	251.77	144.97	251.77	130.75
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.98		0.94	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	2.62	P<001	2.01	P<005
	P(T<=t) una coda	0.01		0.03	
	t critico una coda	1.71		1.71	
St. M17	Media	15.62	12.77	15.62	13.30
	Varianza	260.58	125.21	260.58	136.70
	Osservazioni	24.00	24.00	24.00	24.00
	Correlazione di Pearson	0.97		0.95	
	Differenza ipotizzata per le medie	0.00		0.00	
	gdl	23.00		23.00	
	Stat t	2.31	P<005	1.84	P<005
	P(T<=t) una coda	0.02		0.04	
	t critico una coda	1.71		1.71	

Tabella 3.7.2c Tossicità test t di student per le letture con Microtox dopo 5-15 minuti.

significativa del 95% rispetto ai controlli nel campione superficiale della stazione M1 e una significatività del 99% ($p \leq 0,01$) nel campione superficiale della stazione M15.

Con l'entrata in funzione dell'impianto pur non trovando una tossicità rilevante, ($EC_{50} > 90\%$) la stazione M1, posta in prossimità della condotta principale e la stazione M15, presentano un'inibizione della bioluminescenza da parte del batterio. La maggiore inibizione ritrovata nei test effettuati dopo 5 minuti rispetto a quelli effettuati dopo 15 minuti potrebbe essere dovuta a due fattori: il primo è che le sostanze clorate immesse dall'impianto sono volatili, quindi l'inibizione è più elevata nei campioni incubati per un periodo minore, il secondo potrebbe essere dovuto ad un adattamento dei batteri al lieve effetto provocato dalle sostanze utilizzate dall'impianto.

3.8 COMUNITÀ FITOPLANCTONICA

Per tutte le attività umane la risorsa acqua ha sempre rappresentato un elemento che ha favorito crescita e sviluppo. Lungo le coste, dall'inizio del secolo fino agli anni '70, si è assistito ad una crescita esponenziale nella costruzione di centrali idroelettriche e di stabilimenti industriali che utilizzano l'acqua di mare nei sistemi di raffreddamento dei loro impianti, il conseguente riscaldamento dell'acqua è stato considerato come un potenziale inquinante su larga scala (Langford 1990). Questo ha dato vita a molti studi riguardanti gli effetti sugli organismi esposti alle alterazioni termiche. E' noto che temperatura, luce e idrodinamismo sono i fattori che maggiormente influenzano gli organismi autotrofi e, insieme alla disponibilità dei nutrienti, condizionano la loro fisiologia (Martinez-Arroyo et al. 2000), se varia qualche parametro si modifica la struttura della comunità.

Diversi sono i risultati emersi dagli studi sugli effetti degli scarichi di acqua calda sulla comunità fitoplanctonica: alcuni autori hanno riscontrato alterazioni nei valori di abbondanza e produzione primaria (Miller & Brighthouse 1984, Tessier 1990), mentre altri non hanno trovato effetti apprezzabili o addirittura, hanno rilevato un beneficio per alcune popolazioni (Hirayama & Hirano 1970, Lee Chen 1992).

Altri fattori come la clorazione dell'acqua, sono invece citati come inquinanti più dannosi rispetto all'incremento della temperatura (Jolley et al. 1978, Geider & Osborne 1992).

In questo studio sono stati confrontati i valori delle abbondanze fitoplanctoniche in quattro stazioni poste a distanze diverse dalla presunta fonte inquinante, al fine di valutarne l'impatto sulla comunità fototrofa.

La struttura della comunità fitoplanctonica del periodo esaminato risulta essere quella tipica del Golfo di Trieste, ovvero costituita da diatomee, dinoficee ed altri piccoli flagellati indeterminati, appartenenti alla frazione nanoplanctonica (2-20 μm) (Fonda Umani 1996).

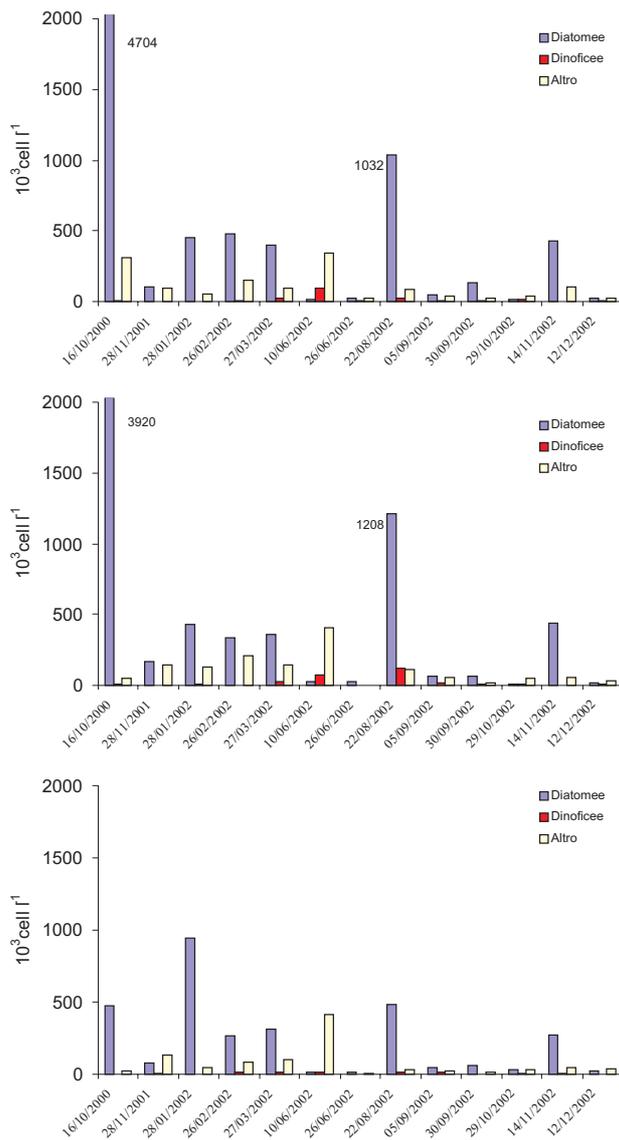


Figura 3.8.1 Distribuzione temporale della comunità fitoplanctonica nella stazione M1 lungo la colonna d'acqua rispettivamente, dall'alto verso il basso, superficie, intermedio e fondo.

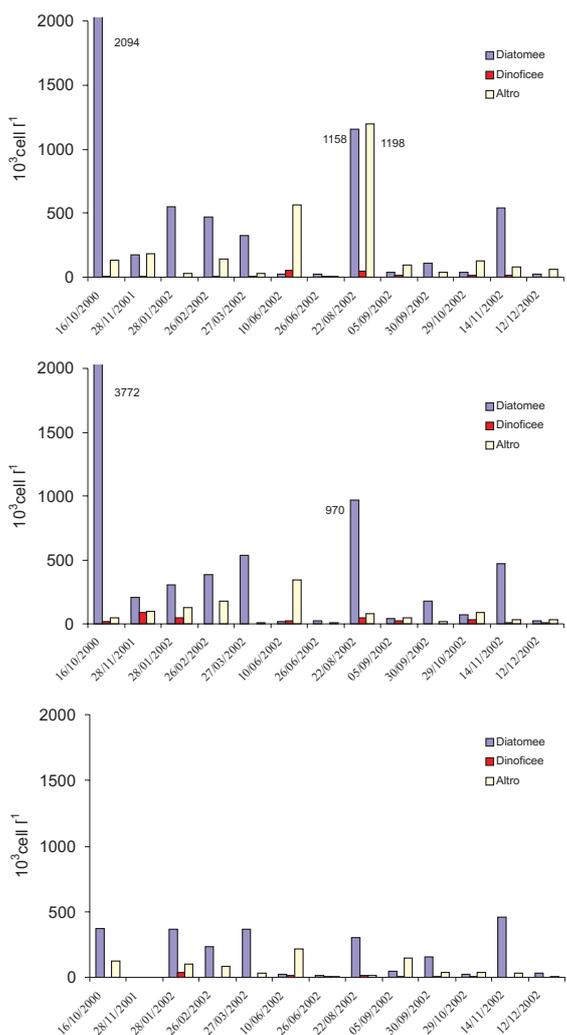


Figura 3.8.2 Distribuzione temporale della comunità fitoplanctonica nella stazione M10 lungo la colonna d'acqua rispettivamente, dall'alto verso il basso, superficie, intermedio e fondo.

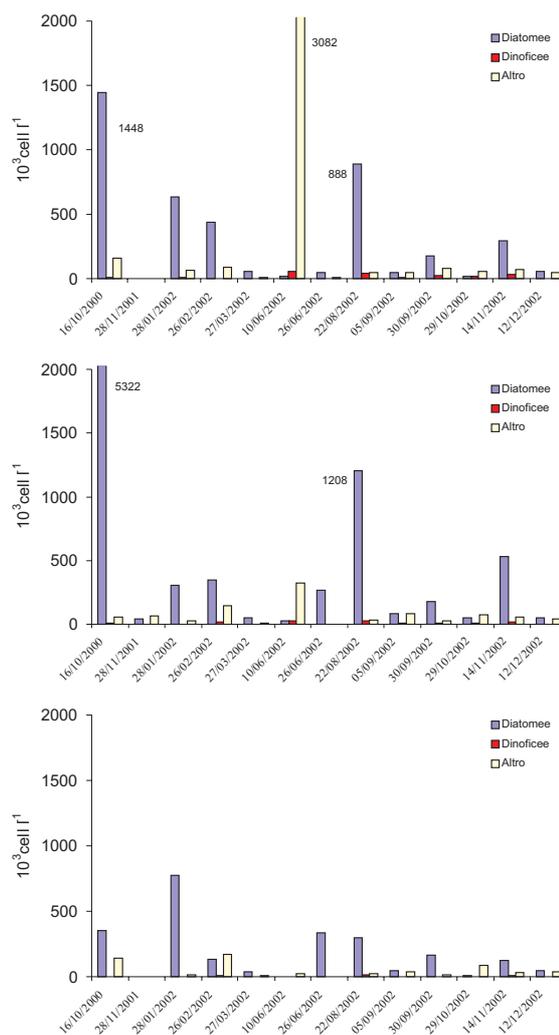


Figura 3.8.3 Distribuzione temporale della comunità fitoplanctonica nella stazione M15 lungo la colonna d'acqua rispettivamente, dall'alto verso il basso, superficie, intermedio e fondo.

Dalle analisi dei campioni raccolti durante la prima campagna (16 ottobre 2000), sono state rilevate delle importanti abbondanze fitoplanctoniche in tutte le stazioni, in particolar modo alle prime due quote (superficie e intermedio), sostenute esclusivamente da diatomee appartenenti al genere *Chaetoceros*.

Questo campionamento è presumibilmente coinciso con il verificarsi di una fioritura autunnale che ha coinvolto tutto il Golfo di Trieste (Relazione conclusiva Interreg 2 2001); tale dato, quindi, non può essere considerato come valido riferimento con il quale confrontare i dati successivi, raccolti a sistema di raffreddamento in azione.

I risultati ottenuti dai campionamenti successivi, hanno fatto registrare andamenti analoghi in tutte le stazioni, con abbondanze inferiori sul fondo (figg. 3.8.1-4), come rilevato precedentemente nel Golfo di Trieste (Cabrini et al. 2000).

Durante tutto il periodo di campionamento, nella stazione M17 sono state rilevate densità microalgali inferiori rispetto alle altre stazioni, soprattutto in superficie.

Nell'agosto 2002, in occasione di una seconda fioritura rilevata negli strati più superficiali, a carico della diatomea *Chaetoceros anastomosans*, le abbondanze risultano essere ancora molto simili, sebbene in M17 siano state registrati valori pari a 1509333 cell L⁻¹ in superficie e 1454000 cell L⁻¹ alla quota intermedia, leggermente maggiori rispetto alle altre stazioni.

Da sottolineare anche una massiccia presenza di piccoli fitoflagellati alle quote superficiali delle stazioni M15 e M10, rispettivamente nei campioni raccolti il 10 giugno 2002 e il 22 agosto 2002. In particolare, i flagellati autotrofi ritrovati nella stazione M10 appartengono alla classe delle Chlorophyceae, tipiche delle acque litorali a ridotto idrodinamismo.

Nonostante siano state osservate differenze tra le abbondanze della stazione M17, in generale inferiori ai valori riscontrati nelle stazioni più vicine al punto di immissione delle acque, queste non sono rilevanti e significative a tal punto da essere attribuibili con certezza all'apporto di acque più calde nella zona antistante l'impianto, in quanto la diversità specifica è la stessa in tutti i siti monitorati, né vengono segnalate specie tipiche di acque con caratteristiche fisico-chimiche alterate.

Le maggiori abbondanze sono presumibilmente dovute alla maggiore influenza degli apporti terrigeni costieri nelle aree più vicine alla costa.

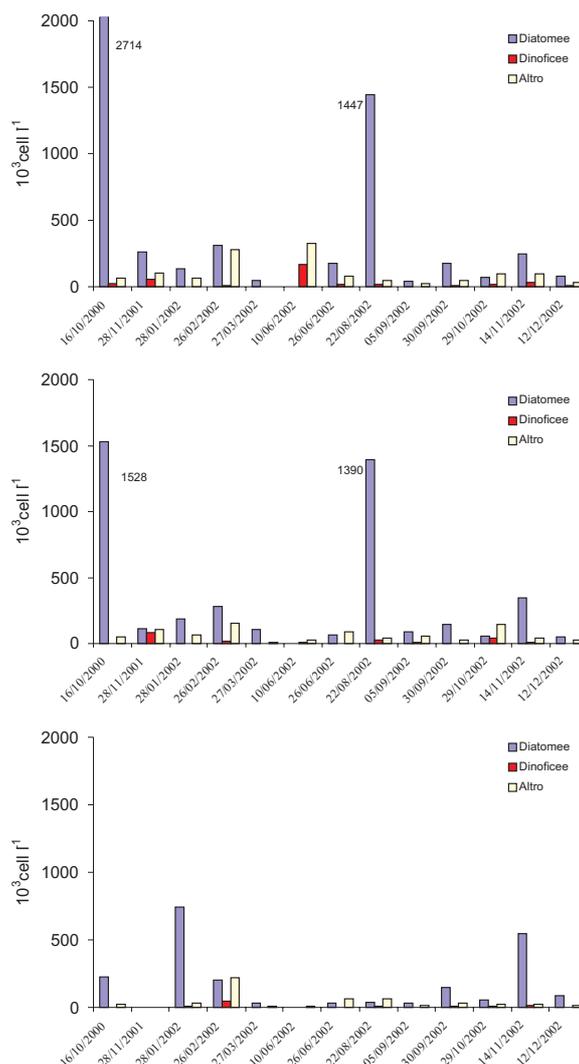
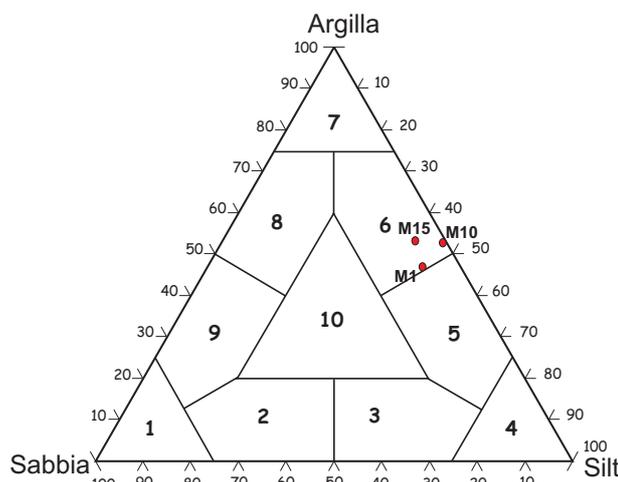


Figura 3.8.4 Distribuzione temporale della comunità fitoplanctonica nella stazione M17 lungo la colonna d'acqua rispettivamente, dall'alto verso il basso, superficie, intermedio e fondo.

4 CARATTERISTICHE DEL SEDIMENTO

4.1 GRANULOMETRIA, CARBONIO E AZOTO

I sedimenti delle zone costiere sono particolarmente ricchi di sostanza organica, essa può avere diverse origini: continentale, risultante dall'erosione delle coste, dall'apporto diretto dei fiumi, dall'atmosfera, o avere origine marina. Tali ambienti sono inoltre caratterizzati da tassi di sedimentazione particolarmente elevati, che determinano una buona conservazione della sostanza organica (Faganeli et al. 1994), impedendone la rapida degradazione dovuta all'attività batterica. La materia che si deposita sul fondo viene inglobata nel sedimento proporzionalmente alla composizione tessiturale dei sedimenti stessi. Le frazioni che riescono a trattenere i contenuti maggiori di sostanza organica sono quelle più fini in quanto creano una sorta di impermeabilizzazione delle particelle sedimentate, impedendo un sufficiente apporto di O₂ per la rimineralizzazione (Eisma et al. 1991).



1: Sabbia - 2: Sabbia siltosa - 3: Silt sabbioso - 4: Silt - 5: Silt argilloso
6: Argilla siltosa - 7: Argilla - 8: Argilla sabbiosa - 9: Sabbia argillosa
10: Loam

Figura 4.1.1 Diagramma di Shepard (1954) delle tre stazioni analizzate in dicembre 2002.

Per quanto riguarda le analisi granulometriche, sono fornite le percentuali di sabbia, silt e argilla (tab. 4.1.1) nella campagna di dicembre 2002. La tessitura del sedimento è stata descritta sia secondo la classificazione di Nota (1958) sia secondo quella di Shepard (1954).

Due dei tre campioni analizzati (M1 e M15) sono classificati come pelite sabbiosa mentre il campione M10 è completamente pelitico. E' stato eseguito anche il diagramma triangolare di Shepard (fig. 4.1.1) che suddivide le frazioni granulometriche in 10 classi principali in base ai seguenti limiti: da 2000 a 63 µm (sabbia), da 63 a 2 µm (silt) e <2 µm (argilla). In questo caso tutti e tre i campioni, cadono nel campo 6 caratterizzati cioè da un'argilla siltosa.

I valori di carbonio organico e di azoto totale nelle due campagne di prelievo dei sedimenti sono riportati nella tabella 4.1.2. Il carbonio organico varia da un massimo di 37,21 mg g⁻¹ ritrovato in ottobre 2000 nello strato 30-50 mm della stazione M1 ad un minimo di 13,01 mg g⁻¹ ritrovato nello stesso strato della stazione M1 in dicembre 2002; l'azoto totale

dic-02		% GHIAIA	% SABBIA	% SILT	% ARGILLA	% PELITE	Classificazione	Classificazione
		>2mm	2mm/62,5µm	62,5µm/3,9µm	<3,9µm	<62,5µm	Nota	Shepard
	M1	-	6.99	45.60	47.41	93.01	pelite sabbiosa	argilla siltosa
	M10	-	-	46.82	53.18	100.00	pelite	argilla siltosa
	M15	-	5.43	41.20	53.37	94.57	pelite sabbiosa	argilla siltosa

Tabella 4.1.1 Analisi granulometriche sulle 3 stazioni.

		mm	C. org (mg/g)	dev.st.	N. tot (mg/g)	dev.st.	C/N	dev.st.
ott-00	St. M1 (valori medi)	0-10	27,46	13,41	1,72	0,44	18,6	11,84
		10\30	28,64	13,15	2,18	1,29	15,3	30,95
		30\50	37,21	10,49	0,64	0,33	68,2	34,03
	St. M10 (valori medi)	0-10	29,1	15,88	1,01	0,2	33,5	28,3
		10\30	26,93	11,62	1,38	0,26	22,8	8,67
		30\50	29,16	4,37	1,5	0,17	22,7	5,78
	St. M15 (valori medi)	0-10	19,77	5,12	1,96	0,25	11,8	4,17
		10\30	27,96	6,26	2,29	0,2	14,2	2,63
		30\50	24,91	5,33	1,98	0,05	14,7	3,01
dic-02	St. M1 (valori medi)	0-10	21,91	3,85	1,72	0,12	14,9	3,45
		10\30	15,82	6,65	1,57	0,15	11,8	3,66
		30\50	13,01	0,99	1,45	0,02	10,5	0,68
	St. M10 (valori medi)	0-10	16,11	0,2	1,98	0,19	9,5	0,9
		10\30	20,43	6,7	2,35	0,62	10,1	2,04
		30\50	29,89	5,71	2,28	0,22	15,3	4,02
	St. M15 (valori medi)	0-10	28	0,25	2,08	0,19	15,7	1,28
		10\30	23,06	1,93	2,34	0,2	11,5	0,49
		30\50	22,34	6,34	2,04	0,18	12,8	2,98

Tabella 4.1.2 Carbonio organico e azoto totale 3 stazioni.

è variato da un massimo di 2,35 mg g⁻¹ ritrovato a dicembre 2000 nella stazione M10 (10-30 mm), ad un minimo di 0,64 mg g⁻¹ in ottobre 2000 nella stazione M1 (30-50 mm). Si nota una grande disomogeneità nei diversi strati di ogni campione soprattutto in quelli più vicini alla condotta (st. M1). In questa stazione il contenuto di carbonio organico è decisamente diminuito dopo la messa in funzione dell'impianto, nelle altre due stazioni la diminuzione è meno evidente e compare soltanto nel strato più superficiale (0-10 mm).

4.2 MATERIA ORGANICA LABILE (LOM)

La porzione labile della sostanza organica sedimentata (LOM – labile organic matter) consiste principalmente in composti semplici e/o combinati (per esempio biopolimeri) ed include carboidrati, lipidi, proteine e acidi nucleici che vengono rapidamente mineralizzati, mentre la frazione refrattaria è formata da sostanze difficilmente degradabili quali acidi umici, fulvici e carboidrati complessi (Danovaro et al. 2001). Lo studio della composizione biochimica del sedimento ed in particolare la caratterizzazione dei diversi componenti della LOM permette di valutare la disponibilità nutrizionale per i vari organismi bentonici (Fichez 1991).

La LOM è stata analizzata nei primi 5 cm di sedimento superficiale suddivisi in 3 strati (0-1; 1-3; 3-5 cm) nei quali sono state determinate le concentrazioni di carboidrati solubili in acqua (estrazione a 80°C), proteine e lipidi. I risultati ottenuti sono riassunti nella tabella 4.2.1.

Le concentrazioni di carboidrati, nel primo campionamento (18 ottobre 2000), sono risultate comprese tra 74 e 271 µg g⁻¹ (unità di glucosio equivalenti/peso secco sedimento),

	strato	18-ott-00		12-dic-02		
		$\mu\text{g g}^{-1}$ s.s.	dev.st	$\mu\text{g g}^{-1}$ s.s.	dev.st	
CARBOIDRATI	Stazione M1	0-1 cm	151	11.7	79	5.1
		1-3 cm	112	4.9	43	3.4
		3-5 cm	74	5.8	63	3.1
	Stazione M10	0-1 cm	142	16.3	265	15.4
		1-3 cm	153	12.9	42	3.2
		3-5 cm	124	4.0	159	14.2
	Stazione M15	0-1 cm	239	9.2	128	7.6
		1-3 cm	271	24.7	216	1.7
		3-5 cm	260	8.2	297	20.5
LIPIDI	Stazione M1	0-1 cm	2271	44.1	667	19.9
		1-3 cm	2838	22.4	827	6.4
		3-5 cm	2260	38.6	744	33.3
	Stazione M10	0-1 cm	2091	43.5	1262	5.0
		1-3 cm	1060	24.1	485	23.5
		3-5 cm	1733	39.7	848	13.5
	Stazione M15	0-1 cm	1224	18.2	532	13.1
		1-3 cm	1242	19.9	807	13.7
		3-5 cm	663	30.8	627	25.0
PROTEINE	Stazione M1	0-1 cm	2324	31.6	1034	34.7
		1-3 cm	2032	26.5	1054	9.7
		3-5 cm	1539	11.0	850	24.8
	Stazione M10	0-1 cm	1268	11.3	2598	45.2
		1-3 cm	1661	17.6	1452	27.4
		3-5 cm	1748	33.9	1107	14.9
	Stazione M15	0-1 cm	1584	10.6	1745	1.0
		1-3 cm	1347	19.7	1076	11.9
		3-5 cm	2046	7.8	1017	11.6

Tabella 4.2.1 Concentrazioni di carboidrati (unità glucosio equivalenti/sedimento secco), proteine (unità albumina bovina eq./s.s.) e lipidi (unità tripalmitina eq./s.s.).

mentre nel secondo (12 dicembre 2002) i valori sono variati tra 42 e 297 $\mu\text{g g}^{-1}$ (tab. 4.2.1). Le concentrazioni più limitate corrispondono sempre alla stazione M1 che presenta valori particolarmente bassi soprattutto nel 2002. In tale stazione, infatti, si assiste ad un decremento della concentrazione, rispetto al 2000, pari al 47% nel primo cm di sedimento ed al 61% nello strato successivo (1-3 cm). Nei sedimenti più profondi (3-5 cm) la diminuzione appare più limitata (14%). Tale andamento non è invece stato evidenziato nelle altre due stazioni che ad ogni modo presentano notevole variabilità temporale e profili verticali non definiti che sottolineano la limitata degradazione della componente glucidica della LOM. Tale componente, che può risultare più o meno degradabile da parte della comunità eterotrofa a seconda della sua composizione, deriva fundamentalmente dalla produzione microfitobentonica. Nel Golfo di Trieste, infatti, la comunità microfitobentonica appare costituita prevalentemente da diatomee (Sdrigotti et al. 2002, Welker et al. 2002) capaci di produrre diverse frazioni di polisaccaridi la cui secrezione è strettamente collegata all'attività fotosintetica, alla fisiologia ed allo stato metabolico delle cellule microalgali (Staats et al. 2000). Di conseguenza nel sedimento può essere presente carbonio fotoassimilato di fresca produzione, più facilmente utilizzabile dal popolamento eterotrofo, o carboidrati extracellulari, più strettamente associati alla parete cellulare ed alle particelle di sedimento o derivanti dalla conversione dei carboidrati colloidali attraverso interazioni con particelle di

sedimento e ioni metallici (De Brouwer & Stal 2001) e quindi più biorefrattari. Il forte decremento della concentrazione di carboidrati nella stazione M1 potrebbe forse essere attribuito ad una diminuzione nell'abbondanza del popolamento microfitebentonico che, inoltre, nel mese di dicembre 2002 potrebbe essersi trovato in una condizione di fotolimitazione e di conseguenza aver manifestato un'attività fotosintetica estremamente limitata. L'assenza di netti gradienti verticali di concentrazione nelle stazioni M1 ed M10 suggerisce, invece, la possibile presenza di carboidrati biorefrattari, in tutto il sedimento analizzato, sebbene risulti particolarmente anomalo il valore estremamente basso evidenziato a livello del secondo strato della stazione M10 nel dicembre 2002. In M15, invece, l'aumento di concentrazione con la profondità supporta l'ipotesi che lungo gli strati si accumulino i carboidrati maggiormente biorefrattari. La distribuzione della sostanza organica, in ogni caso, è condizionata anche dai fenomeni di bioturbazione derivanti dall'attività della macrofauna. La zona oggetto di studio, inoltre, è soggetta al traffico marittimo delle navi che portano materie prime all'impianto siderurgico le quali, a causa del basso fondale, determinano il rimescolamento degli strati superficiali del sedimento.

I lipidi evidenziano una netta diminuzione di concentrazione passando dal primo al secondo campionamento in tutte e tre le stazioni ed in particolare nella M1 dove, nel 2002, raggiungono al massimo un terzo dei valori misurati nell'ottobre del 2000 (tab. 4.2.1) quando erano stati evidenziati i massimi di concentrazione, con valori compresi tra 2260 e 2838 $\mu\text{g g}^{-1}$ (unità tripalmitina equivalenti/sedimento secco). La distribuzione verticale di concentrazione, lungo la profondità del sedimento, è piuttosto irregolare in tutti e tre i siti esaminati, ma mantiene lo stesso andamento passando dal 2000 al 2002. Le concentrazioni più elevate, infatti, corrispondono sempre al secondo strato (1-3 cm) nelle stazioni M1 ed M15, mentre nella stazione M10 a tale profondità si assiste ad una netta diminuzione di concentrazione in entrambi i periodi di campionamento. La presenza di ingenti quantità di lipidi negli strati superficiali del sedimento può essere attribuita a sorgenti antropiche, ad apporti continentali di sostanza organica di origine vegetale o ad elevata sedimentazione fitoplanctonica di specie ricche in lipidi quali, ad esempio, diatomee del genere *Coscinodiscus* (Neira et al. 2001).

Le concentrazioni di proteine variano tra 1268 e 2324 $\mu\text{g g}^{-1}$ (unità albumina bovina equivalenti/sedimento secco), nel campionamento eseguito nel 2000 e tra 850 e 2598 $\mu\text{g g}^{-1}$ nel 2002 (tab. 4.2.1). Nel 2000 i valori più elevati sono stati evidenziati nella stazione M1; nel 2002 nella M10. I profili verticali di concentrazione risultano più regolari nel 2002, quando, in tutte e tre le stazioni, si evidenziano valori più bassi negli strati più profondi.

Carboidrati, proteine e lipidi sono stati convertiti in equivalenti di carbonio utilizzando i fattori di conversione di 0,45, 0,50 e 0,75 gC g^{-1} rispettivamente, in accordo con la composizione degli standard utilizzati per la retta di taratura (Fichez 1991). La somma delle tre classi biochimiche, in termini di carbonio, rappresenta la misura della frazione di carbonio biopolimerico (C-LOM) potenzialmente disponibile per gli eterotrofi bentonici (Fabiano et al. 1995). In figura 4.2.1a-b è rappresentato l'andamento delle concentrazioni di C-LOM e la relativa composizione in carboidrati, proteine e lipidi, nelle tre stazioni oggetto di studio durante le due fasi di campionamento. Appare evidente come, nel 2000, la componente

maggiormente rappresentata sia costituita dai lipidi seguiti dalle proteine, mentre i carboidrati sono presenti sempre in concentrazioni estremamente limitate. Nel 2002 si assiste ad un generale calo di concentrazione del carbonio biopolimerico, soprattutto a carico della componente lipidica. Ne consegue che le proteine acquistano, in proporzione, maggiore importanza, mentre i carboidrati mantengono sempre valori molto bassi.

La percentuale di carbonio biopolimerico sul carbonio organico totale (C-LOM/TOC, %) può essere utilizzata per stimare la frazione di carbonio organico sedimentato potenzialmente utilizzabile dagli organismi bentonici. Il rapporto C-LOM/TOC costituisce, infatti, un indice trofico che permette di valutare la qualità ed il valore nutrizionale dell'alimento disponibile. Il valore di tale indice risulta compreso tra 6,3 e 11,2% e tra 4,2 e 14,7% nel 2000 e nel 2002 rispettivamente. Ciò significa che la frazione di carbonio organico più refrattaria, costituisce la porzione maggiore (in media più del 90%) della sostanza organica sedimentata in tutti i siti ed in entrambi i campionamenti. Ad eccezione del terzo strato della stazione M1 e in superficie nella stazione M10, ad ogni modo, i valori dell'indice trofico risultano sempre più alti durante il primo campionamento (fig. 4.2.2). Tale andamento suggerisce una progressiva riduzione nel contenuto di composti biochimici nei sedimenti superficiali (0-5 cm) della Baia; l'elevato valore evidenziato nella stazione M10, infatti, più che ad un aumento di C-LOM è attribuibile ad un generale decremento del carbonio organico totale (vedi cap. 4.1).

I cambiamenti nella qualità e quantità di LOM evidenziati possono essere attribuiti a diversi fattori. In concomitanza alle fasi finali di una fioritura fitoplanctonica, ad esempio, si assiste normalmente ad un flusso di sostanza organica arricchita in carboidrati verso il

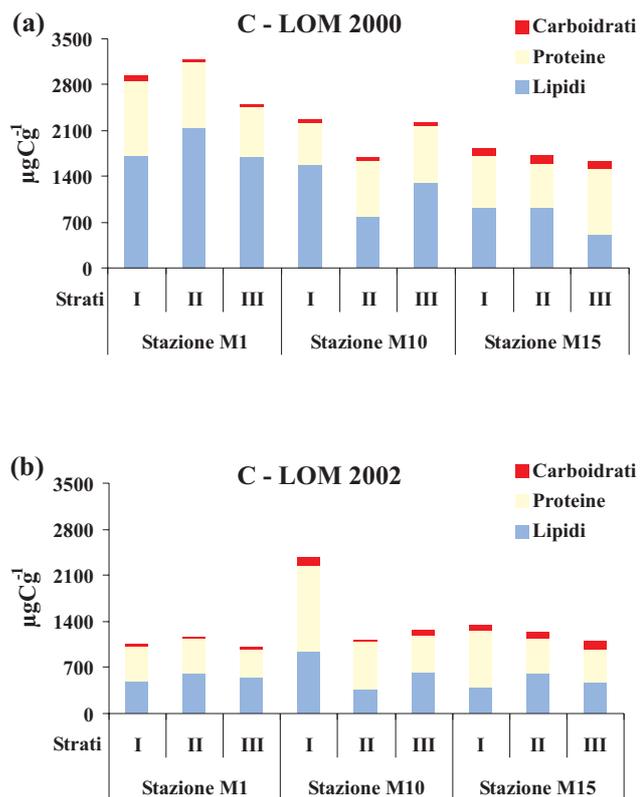


Figura 4.2.1a-b Composizione del carbonio biopolimerico (C-LOM) nei tre strati analizzati (0-1, 1-3, 3-5 cm) delle stazioni M1, M10 e M15 nel 2000 (a) e nel 2002 (b).

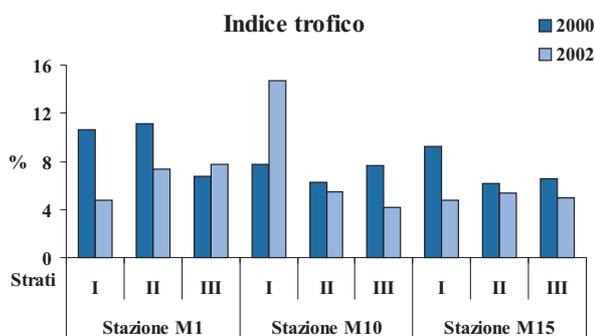


Figura 4.2.2. Variazione dell'indice trofico nei tre strati analizzati (0-1, 1-3, 3-5 cm) delle stazioni M1, M10 e M15 nel 2000 e nel 2002.

fondo; composti biochimici di varia natura, inoltre, possono essere convogliati verso il sedimento dall'apporto di sostanza organica di derivazione continentale; d'altra parte la sedimentazione di cellule fitoplanctoniche vitali può incrementare il contenuto in proteine ricche in azoto ed in lipidi (Neira et al. 2001). I valori mediamente più elevati di C-LOM e dell'indice trofico evidenziati, nel corso del primo campionamento, quindi, sono probabilmente attribuibili all'intensa fioritura fitoplanctonica evidenziata solo due giorni in tutte le stazioni analizzate che ha senz'altro determinato un ingente flusso di sostanza organica dalla colonna d'acqua verso il sedimento sottostante.

4.3 MICROBIOLOGIA DEL SEDIMENTO

Il ruolo svolto dai batteri del sedimento nell'ambito dei processi biogeochimici è stato notevolmente enfatizzato dagli studi condotti negli ultimi anni (Bensoussan & Bianchi 1983, Rowe & Deming 1985, Cahet et al. 1990, Turley & Lochte 1990, Poremba et al. 1994, Tholosan & Bianchi 1998).

Le comunità batteriche negli strati superficiali dei sedimenti utilizzano il materiale organico particellato (POM) proveniente dalla colonna d'acqua che, in relazione alla sua origine, composizione e dimensione presenta una caratteristica velocità di sedimentazione. Durante la precipitazione lungo la colonna d'acqua le particelle vengono modificate dall'intervento dei predatori, nonché dalla degradazione microbica e chimica. Questi processi influenzano notevolmente il potere nutritivo delle particelle: le sostanze facilmente degradabili come amidi, proteine e grassi vengono, infatti, velocemente rimosse e il particolato che raggiunge il fondo risulta costituito prevalentemente da cellulosa, chitina e vari composti proteici. I batteri sono tra i pochi organismi in grado di utilizzare tutti i tipi di risorse energetiche disponibili ma, ovviamente, prediligono la sostanza organica di nuova produzione caratterizzata da una maggiore labilità. La loro distribuzione, pertanto, oltre ad essere influenzata dalle caratteristiche dimensionali, minerali e micromorfologiche delle particelle del sedimento (Deflaun & Mayer 1983) e dal controllo "top-down" esercitato dall'attività di "grazing" dei flagellati eterotrofi e della meio e macrofauna (Hondeveld et al. 1992, Buffan-Dubau & Carman 2000), risulta condizionata dalla disponibilità di sostanza organica, e soprattutto dalla qualità di sostanza organica labile (LOM).

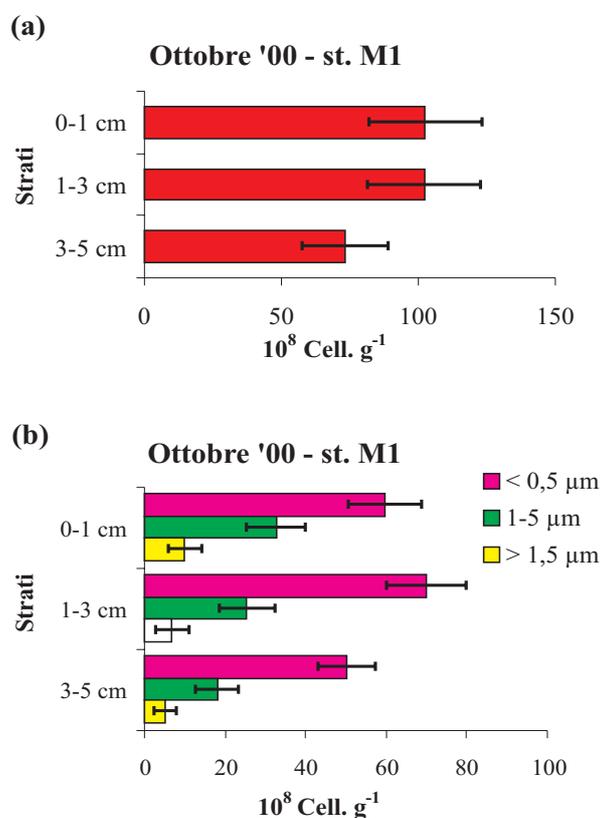


Figura 4.3.1 Abbondanze batteriche totali (a) e ripartite nelle diverse classi dimensionali (b) nella st. M1.

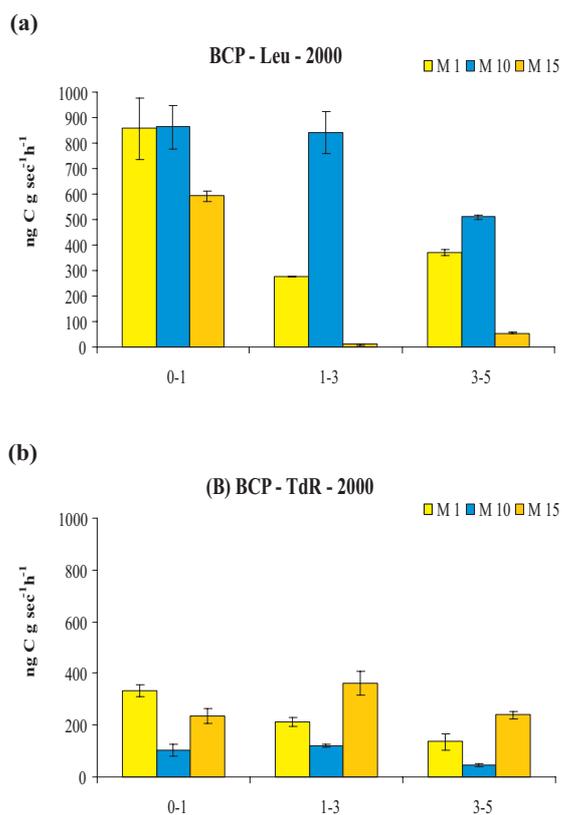


Figura 4.3.2 Produzione batterica misurata con l'incorporazione di ³H-leucina (a) e ³H-timidina (b) nelle tre stazioni considerate. I valori riportati in ascisse si riferiscono ai diversi strati di sedimento espressi in centimetri.

I risultati dello studio condotto hanno evidenziato una notevole differenza nei due periodi considerati sia relativamente alla distribuzione che all'attività della comunità microbica.

In ottobre 2000, nella stazione M1 le abbondanze batteriche si attestavano su $1 \cdot 10^{10}$ cell g⁻¹ con un decremento nello strato più profondo (fig. 4.3.1a). In ogni strato prevalevano gli organismi di piccole dimensioni (<0,5 mm) (fig. 4.3.1b). Il metabolismo batterico era improntato verso la sintesi proteica, probabilmente in relazione alla scarsa biolabilità del substrato. La BCP, infatti, misurata mediante l'incorporazione di ³H-leucina (fig. 4.3.2a), aminoacido e quindi coinvolto nella sintesi proteica, risultava considerevolmente più elevata della BCP stimata mediante incorporazione di ³H-timidina, precursore delle molecole di acidi nucleici (fig. 4.3.2b). L'elevata sintesi proteica supportava la produzione di enzimi che, rilasciati all'esterno della cellula, degradano le molecole organiche. L'attività legata all'idrolisi delle proteine risultava essere 10-100 volte superiore rispetto a quella legata all'idrolisi degli zuccheri (β -glucosidasi), indicando un'elevata velocità di ricircolo del carbonio di origine proteica rispetto a quella polisaccaridica. Aminopeptidasi e β -glucosidasi subivano un blando decremento, passando dallo strato subsuperficiale a quello profondo. La lipasi rappresentava l'enzima meno attivo, con velocità idrolitiche inferiori nello strato intermedio (fig. 4.3.3a-b-c).

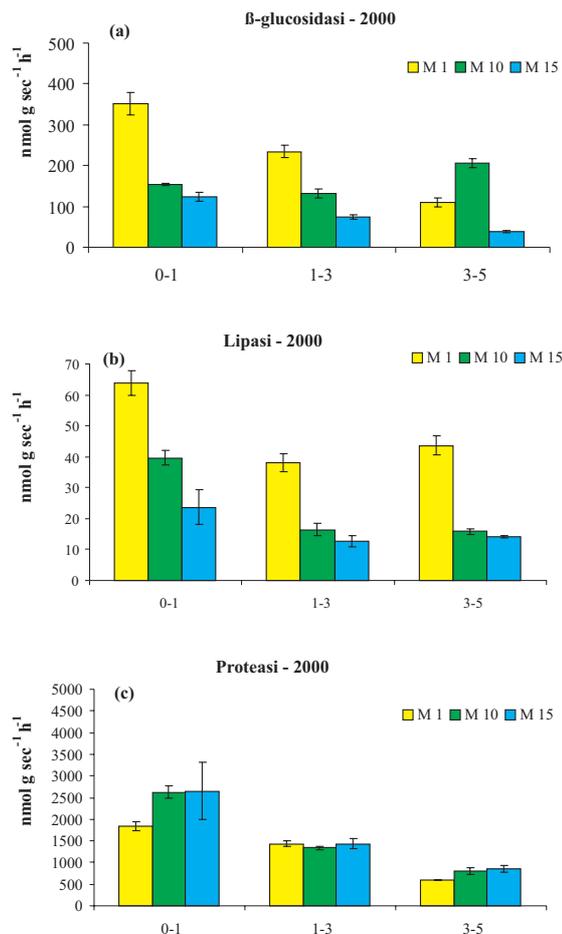


Figura 4.3.3 Attività enzimatiche batteriche: β glucosidasi (a), lipasi (b) e proteasi (c) nelle tre stazioni considerate. I valori riportati in ascisse si riferiscono ai centimetri di sedimento.

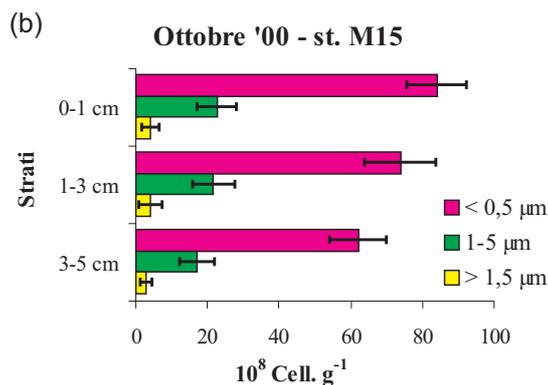
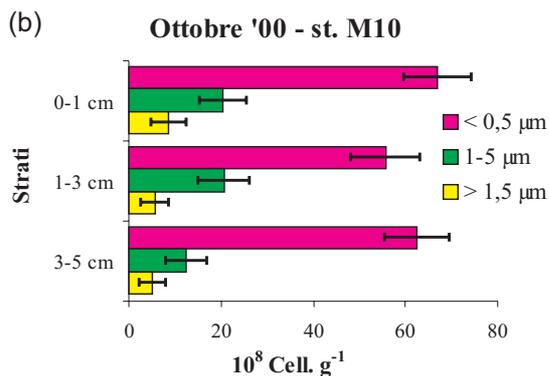
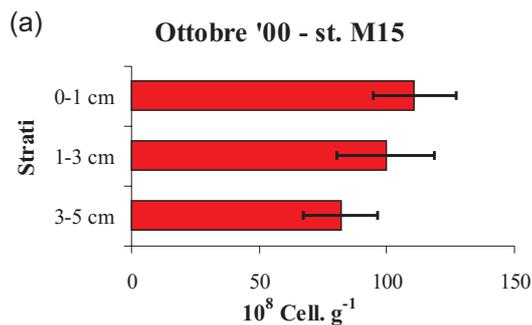
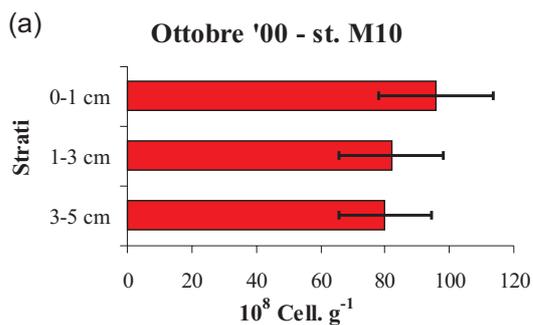


Figura 4.3.4 Abbondanze batteriche totali (a) e ripartite nelle diverse classi dimensionali (b) nella st. M10.

Figura 4.3.5 Abbondanze batteriche totali (a) e ripartite nelle diverse classi dimensionali (b) nella st. M15.

Le abbondanze batteriche nella stazione M10 erano lievemente inferiori rispetto a quelle rilevate nella stazione M1 (fig. 4.3.4a). Il popolamento era sempre caratterizzato dalla prevalenza di organismi di piccole dimensioni (fig. 4.3.4b). La distribuzione lungo il sedimento non era uniforme, ma decresceva con l'approfondimento. Il metabolismo batterico era sempre improntato verso la sintesi proteica e la BCP, misurata mediante incorporazione di ³H-leucina (fig. 4.3.2a), risultava più elevata rispetto a quanto osservato nella stazione M1, soprattutto per quanto riguardava gli strati più profondi del sedimento, mentre diminuiva la BCP da incorporazione di ³H-timidina (fig. 4.3.2b). Gli enzimi idrolitici sottolineavano, ancora, una considerevole idrolisi proteica, superiore a quanto rilevato nella stazione M1, mentre l'enzima lipasi e β-glucosidasi risultavano meno attivi (fig. 4.3.3a-b-c).

Nella stazione M15 sono state raggiunte le abbondanze più elevate, sempre caratterizzate dalla prevalenza di batteri di piccole dimensioni (fig. 4.3.5a-b). Il decremento con la profondità era progressivo. La BCP da incorporazione di leucina risultava considerevolmente ridotta rispetto alle stazioni precedenti, soprattutto negli strati più profondi (fig. 4.3.2a). La BCP da incorporazione di timidina, invece, aumentava rispetto alla stazione M10 e alle profondità maggiori era quasi raddoppiata (fig. 4.3.2b). Il rapporto tra BCP da incorporazione di timidina (Tdr) e la BCP da incorporazione di leucina (Leu) risultava, negli strati subsuperficiali superiore ad 1. Quando questo rapporto è superiore a 1 prevalgono i processi duplicativi, mentre quando è inferiore a 1 prevalgono i processi metabolici di crescita cellulare (Simon & Azam 1989) e, quindi, di sintesi

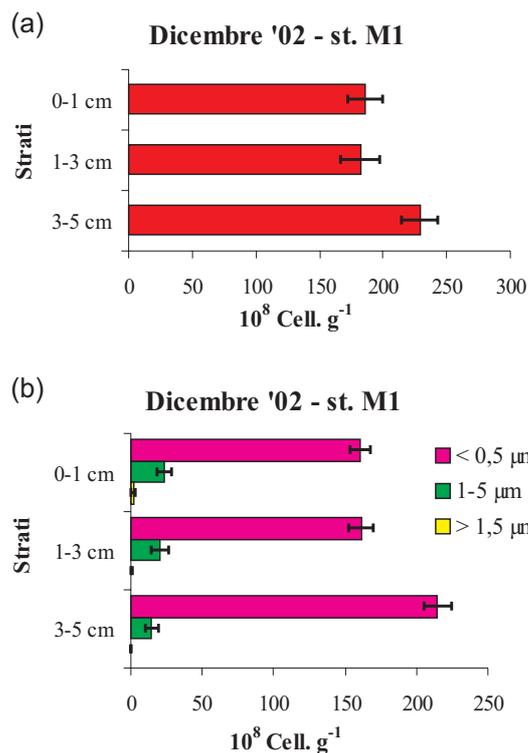


Figura 4.3.6 Abbondanze batteriche totali (a) e ripartite nelle diverse classi dimensionali (b) nella st. M1.

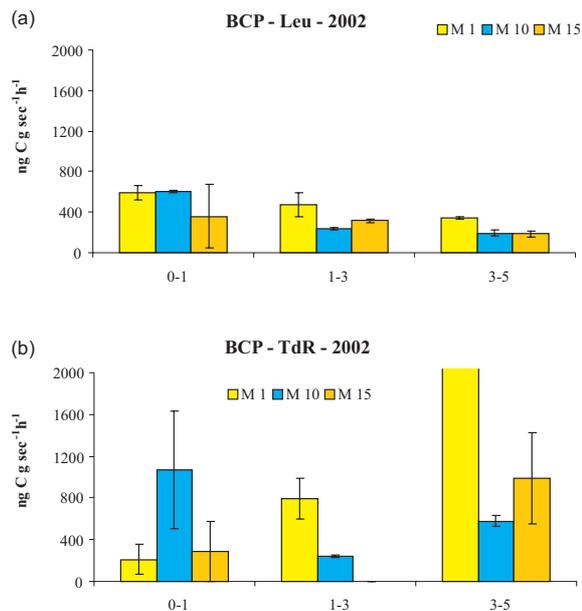


Figura 4.3.7 Produzione batterica misurata con l'incorporazione di ³H-leucina (a) e ³H-timidina (b) nelle tre stazioni considerate. I valori riportati in ascisse si riferiscono ai diversi strati di sedimento espressi in centimetri.

proteica. La degradazione enzimatica della sostanza organica era estremamente attiva nei confronti delle proteine, mentre risultava ulteriormente diminuita la velocità d'idrolisi di zuccheri e lipidi.

Il campionamento di dicembre 2002 ha evidenziato una situazione diversa. Nella stazione M1 le abbondanze sono quasi raddoppiate ed i valori massimi corrispondono alla quota di fondo (fig. 4.3.6a). La comunità è sempre rappresentata da organismi di piccole dimensioni (fig. 4.3.6b). La BCP da incorporazione di leucina è piuttosto simile al mese di ottobre, con valori lievemente superiori (fig. 4.3.7a), mentre la BCP da incorporazione di timidina è simile in superficie, ma negli strati profondi aumenta in modo esponenziale (fig. 4.3.7b). Il metabolismo batterico, pertanto, viene indirizzato, in superficie, verso la sintesi proteica mentre, in profondità, verso l'incremento di biomassa. La degradazione della sostanza organica, intensa soltanto in superficie, riguarda prevalentemente le proteine, mentre gli enzimi glucosidasi e lipasi risultano poco attivi (fig. 4.3.8a-b-c). Questo comportamento, associato ad un prevalere del metabolismo duplicativo porta a ritenere che il substrato disponibile sia ancora sufficientemente labile.

Nella stazione M10 le abbondanze sono aumentate considerevolmente con un popolamento costituito prevalentemente da batteri di piccola dimensione (fig. 4.3.9a-b). Il metabolismo è rivolto soprattutto alla duplicazione cellulare: l'incorporazione di timidina è aumentata, mentre è calata l'assimilazione di leucina (fig. 4.3.7a-b). Il rapporto Tdr/Leu, in questa stazione, è sempre superiore ad 1 a dimostrazione di una notevole disponibilità di substrato. Le attività esoenzimatiche sono rivolte alla degradazione proteica, ma risultano considerevolmente inferiori rispetto a quelle rilevate in ottobre (fig. 4.3.8a-b-c).

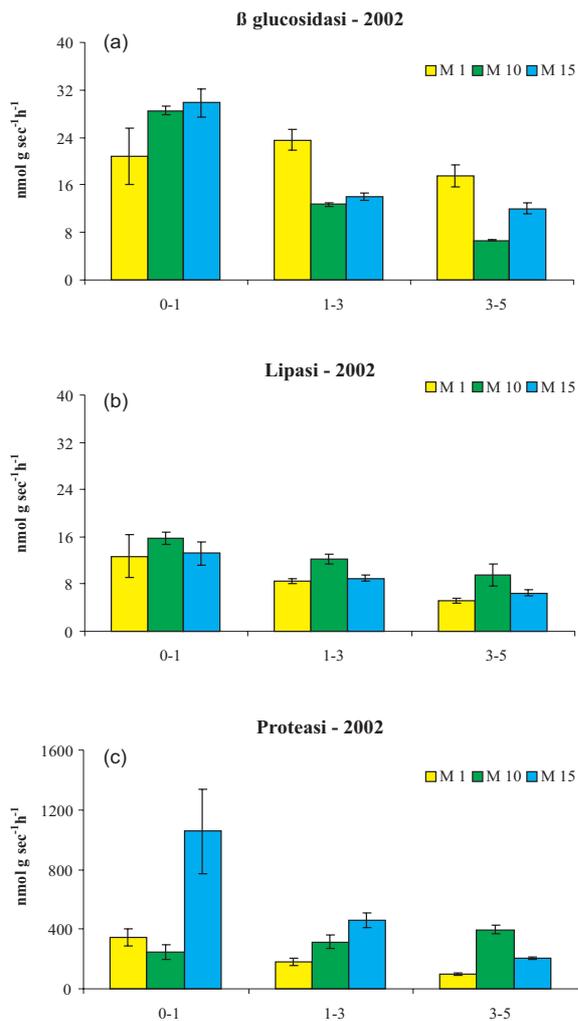


Figura 4.3.8 Attività esoenzimatiche batteriche: β glucosidasi (a), lipasi (b) e proteasi (c) nelle tre stazioni considerate. I valori riportati in ascisse si riferiscono ai centimetri di sedimento.

Anche nella stazione M15 aumentano le abbondanze batteriche (fig. 4.3.10a-b), ma il metabolismo della comunità è rivolto prevalentemente alla sintesi proteica (fig. 4.3.7a-b). La duplicazione cellulare risulta attiva soltanto nello strato più profondo dove il rapporto Tdr/Leu risulta superiore a 1. Le attività degradative diminuiscono considerevolmente e la proteasi si conferma l'enzima più attivo (fig. 4.3.8a-b-c).

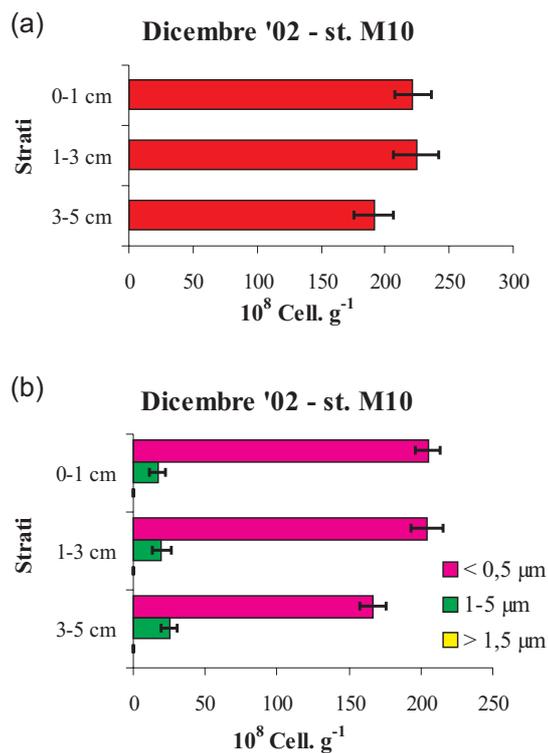


Figura 4.3.9 Abbondanze batteriche totali (a) e ripartite nelle diverse classi dimensionali (b) nella st. M10.

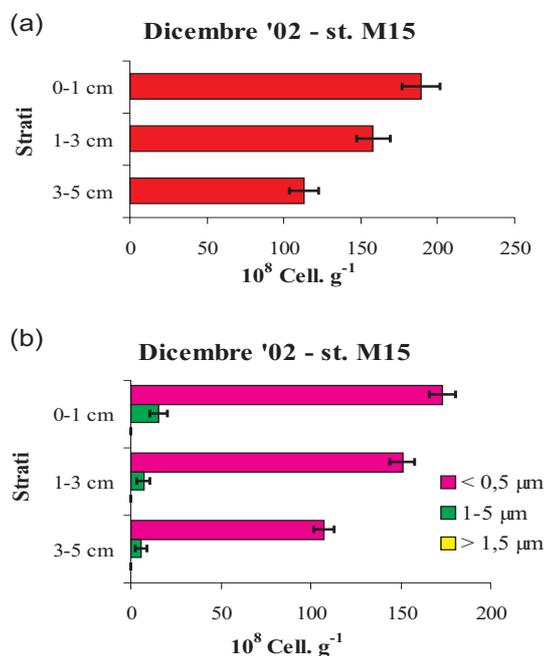


Figura 4.3.10 Abbondanze batteriche totali (a) e ripartite nelle diverse classi dimensionali (b) nella st. M15.

4.4 COMUNITÀ MEIOBENTONICA

Il meibenthos è costituito da organismi pluricellulari che, convenzionalmente, possono passare attraverso un setaccio a maglie di 1 mm e vengono trattenuti da un setaccio a maglie di 40 μm (Vitiello & Dinet 1979). Il termine meiofauna viene usato di solito come sinonimo di meibenthos, giacché la stragrande maggioranza degli organismi bentonici che rientrano in queste classi di grandezza sono metazoi (Fize 1963).

La meiofauna si distingue in temporanea e permanente: la prima è costituita da organismi che soltanto per un periodo più o meno limitato della loro vita presentano dimensioni tali da appartenere alla meiofauna; la seconda è invece costituita da organismi le cui dimensioni sono costantemente al di sotto del millimetro e sono trattenuti da setacci a maglie di 40 μm (Dinet 1979).

Il fattore più importante nel definire la struttura del popolamento è la granulometria del sedimento che determina la quantità di spazio interstiziale disponibile. Sedimenti più ghiaiosi, infatti, comportano spazi interstiziali più ampi e quindi un popolamento di dimensioni maggiori. Nei sedimenti fangosi, al contrario, gli spazi disponibili sono ridotti, con conseguente diminuzione della taglia degli organismi (Nybakken 1997). La meiofauna dei fondi fangosi del Golfo di Trieste non è interstiziale ed è concentrata nei primi 5 cm del sedimento (Vrišer 1983-84).

Gli organismi del meibenthos presentano una distribuzione in senso orizzontale piuttosto eterogenea, anche quando la granulometria del sedimento è uniforme (Nybakken 1997). Una tale eterogeneità può essere giustificata dalla distribuzione spaziale eterogenea della macrofauna, la quale esercita una notevole influenza sulla meiofauna (Bell & Coull 1978, Vrišer 1984).

Il meibenthos viene generalmente considerato un buon indicatore biologico per il monitoraggio ambientale, a causa della sua rapidità di risposta allo stress causato dall'inquinamento dei fondi marini. Tale capacità è dovuta essenzialmente al fatto che gli organismi della meiofauna sono di piccole dimensioni e sono particolarmente abbondanti in tutti i sedimenti marini, il loro ciclo vitale si compie esclusivamente in ambiente sedimentario, non presentano infatti fasi di vita planctonica, presentano inoltre elevate velocità di accrescimento anche in condizioni di stress (Sandulli 1986, Danovaro et al. 1995). Gli studi riguardanti l'utilizzo del meibenthos come bioindicatore hanno preso in considerazione l'intera comunità, oppure hanno focalizzato l'attenzione sui gruppi tassonomici più rappresentativi dal punto di vista numerico: nematodi e copepodi arcticoidi (Sandulli 1986).

Raffaelli & Mason (1981) indicarono i copepodi come gli organismi più sensibili agli stress ambientali rispetto ai nematodi, proponendo l'utilizzo del rapporto numerico nematodi su copepodi come indice per evidenziare la presenza di ambienti inquinati. Studi successivi hanno dimostrato la scarsa validità dell'uso generalizzato di tale rapporto nel monitoraggio ambientale, in quanto le abbondanze relative di nematodi e copepodi sono fortemente influenzate dal tipo di sedimento, dal tipo di inquinamento (organico od inorganico) e dal tipo di habitat (zona di marea o piani sottostanti) (Danovaro et al. 1995). Warwick (1981) suggerì che un rapporto nematodi su copepodi pari a 40 poteva indicare una situazione di

stress per i sedimenti fangosi ed un valore pari a 10 per le sabbie. Vidakovic (1983) riscontrò invece che il numero dei copepodi aumentava considerevolmente rispetto a quello dei nematodi in alcune zone influenzate da scarichi urbani. Viene generalmente accettato, comunque, che in ambiente inquinato il numero dei taxa tende a diminuire, come pure i valori delle abbondanze relative dei singoli gruppi tassonomici (Sandulli 1986).

I primi studi sugli effetti causati dall'inquinamento organico alla comunità meiobentonica del Golfo di Trieste sono stati condotti da Marcotte (1974), Marcotte & Coull (1974) e da Vrišer (1979, 1982, 1983-84, 1986) nella Baia di Pirano (Slovenia). Lo studio sulla struttura e l'abbondanza della meiofauna è stato in seguito esteso a tutta l'area slovena del Golfo di Trieste (Vrišer 1989, 1991), analizzando più in dettaglio la comunità dei copepodi arpacoidi (Vrišer 1992). Nella zona centrale del Golfo di Trieste sono stati condotti alcuni studi sulla struttura della comunità meiobentonica nel corso del triennio 1990-92 (Aleffi et al. 1992, Brizzi & Zanolin 1992) e in seguito nel periodo 1999-2000 (Relazione conclusiva Interreg 2 2001).

La comunità meiobentonica dell'area di studio, caratterizzata da fondi fangosi ricchi di materiale carbonioso, è costituita da 10 taxa: 5 fanno parte della meiofauna permanente (nematodi, copepodi arpacoidi, chinorinchi, ostracodi e acari), i restanti 5 sono forme giovanili che rientrano nella meiofauna temporanea (policheti, cumacei, anfipodi, bivalvi e gasteropodi). Il minor numero di taxa, pari a 4, è stato rilevato ad ottobre 2000 nella st. M1, mentre il numero più elevato, corrispondente a 9, è stato rilevato a dicembre 2002 nelle stazioni M10 e M15. Complessivamente, dopo due anni, si è registrato un leggero aumento del numero di taxa nelle tre stazioni (tab. 4.4.1).

Il numero totale di individui a dicembre 2002 presenta valori superiori rispetto ad ottobre 2000 in tutti i siti di prelievo ed in particolare nella st. M10 e st. M15, con un incremento di oltre un terzo degli individui (fig. 4.4.1). La st. M1 presenta i valori di abbondanza più simili nei due anni, la st. M10 presenta in entrambe i campionamenti un numero di individui sostanzialmente inferiore alle altre due stazioni, nella st. M15 infine è stato rilevato il maggior numero di individui ($907 \cdot 10^3$ ind. m^{-2} a dicembre 2002).

I nematodi, che rappresentano il gruppo più rappresentativo della comunità meiobentonica, presentano valori di abbondanza mediamente più elevati nella st. M1, l'abbondanza nella st. M10 è circa la metà rispetto alla st. M1, mentre nella st. M15 si registra il valore più abbondante in assoluto nel prelievo di dicembre 2002 (fig. 4.4.2). I copepodi presentano, a ottobre 2000, dei valori crescenti di abbondanza dalla st. M1 verso la st. M15, mentre a dicembre 2002 tali valori raddoppiano nella st. M1 e st. M10 e rimangono pressoché invariati nella st. M15 (fig. 4.4.3).

Taxa	ott-00	dic-02	ott-00	dic-02	ott-00	dic-02
	M1	M1	M10	M10	M15	M15
Nematoda	626	574	297	346	389	673
Copepoda Harpacticoida	83	183	120	247	172	176
Copepoda nauplii	2	14	5	10	2	25
Polychaeta	2	36	9	20	7	12
Kinorhyncha	0	4	2	8	2	6
Cumacea	0	0	1	0	0	0
Ostracoda	0	5	3	4	3	7
Amphipoda	0	0	0	3	1	1
Isopoda	0	0	0	0	0	0
Acarina	1	2	1	10	0	1
Bivalvia	0	0	0	4	0	4
Gastropoda	0	0	0	2	0	2
Totale	714	818	438	654	576	907

Tabella 4.4.1 Valori di abbondanza dei taxa espressi in ind * 10 cm⁻².

Per quanto riguarda l'abbondanza percentuale dei taxa nelle singole stazioni esaminate, si rileva che i nematodi costituiscono il gruppo dominante, seguiti sempre dai copepodi e poi dall'insieme degli altri gruppi (figg. 4.4.4-5-6-7-8-9).

Generalmente una situazione di stress ambientale tende a determinare nella meiofauna una riduzione o scomparsa dei taxa meno abbondanti (Vrišer 1986). I nematodi ed i copepodi, invece, possono manifestare una diminuzione o un aumento delle loro abbondanze, a seconda dell'ambiente e/o del tipo di inquinamento (Heip et al. 1985, Danovaro et al. 1995). Le diversità di comportamento dipendono essenzialmente dalla composizione in specie dei due taxa considerati: sembra che le forme epibentoniche dei copepodi riescono a sopravvivere, probabilmente grazie al minor contatto con il sedimento inquinato e molto spesso anossico (Danovaro et al. 1995).

La comunità meiobentonica esaminata è insediata in un'area considerata inquinata, come evidenziato da diversi studi sulle concentrazioni di alcuni inquinanti nel sedimento e sulle comunità bentoniche della Baia (Ghirardelli & Pignatti 1968, Specchi & Orel 1968, Orel et al. 1980, Solis-Weiss et al. inviato). In generale si può notare che i popolamenti meiobentonici di acque pure, nella zona

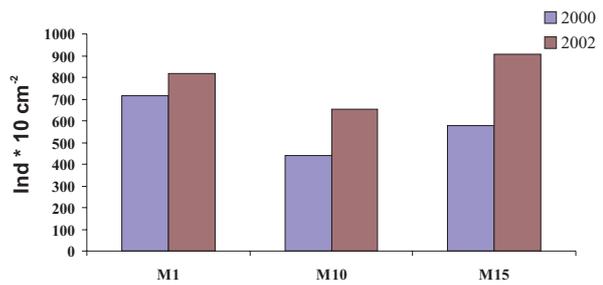


Figura 4.4.1 Meiofauna totale.

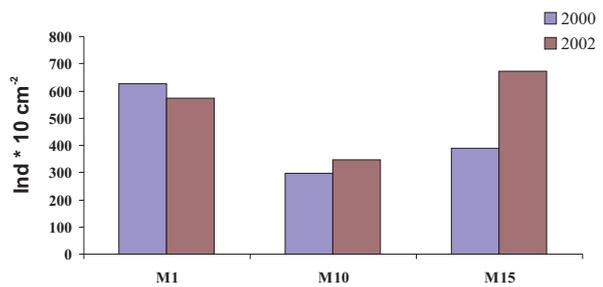


Figura 4.4.2 Nematodi.

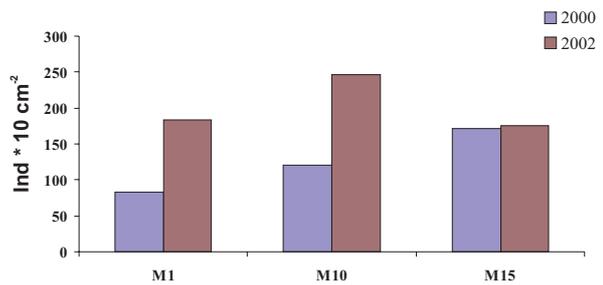


Figura 4.4.3 Copepodi arcticoidi.

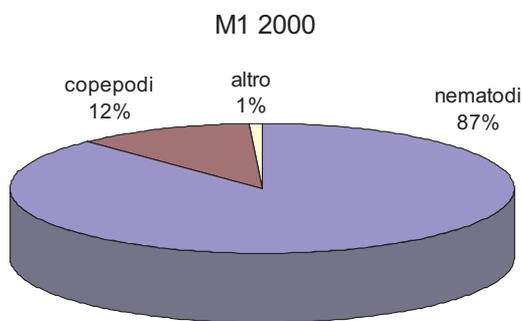


Figura 4.4.4 M1: valori percentuali relativi dei singoli taxa nel 2000.

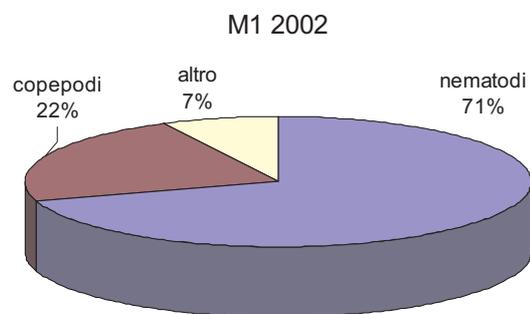


Figura 4.4.5 M1: valori percentuali relativi dei singoli taxa nel 2002.

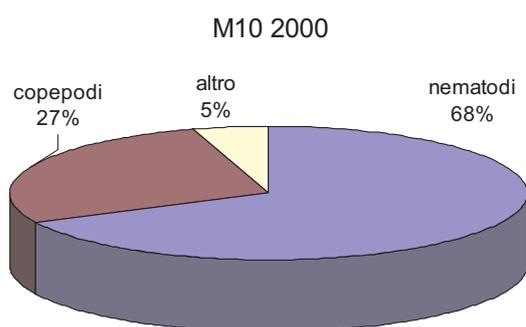


Figura 4.4.6 M10: valori percentuali relativi dei singoli taxa nel 2000.

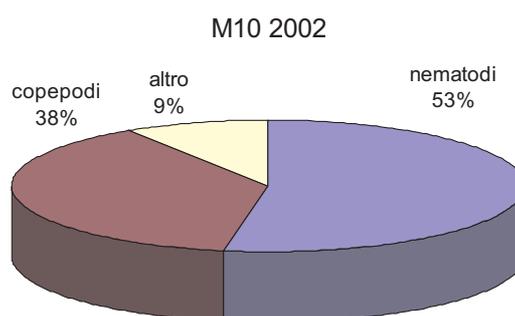


Figura 4.4.7 M10: valori percentuali relativi dei singoli taxa nel 2002.

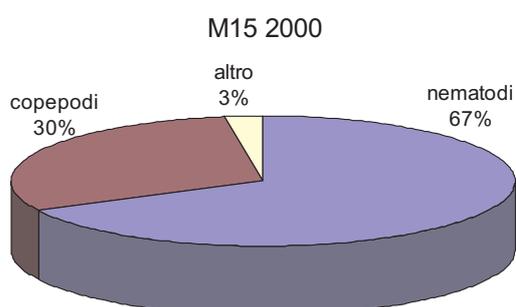


Figura 4.4.8 M15: valori percentuali relativi dei singoli taxa nel 2000.

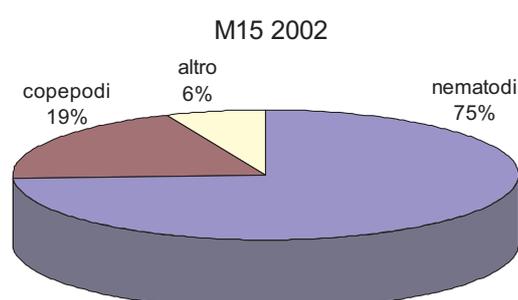


Figura 4.4.9 M15: valori percentuali relativi dei singoli taxa nel 2002.

centrale del Golfo di Trieste (Relazione conclusiva Interreg 2 2001), presentano valori del numero di taxa e delle abbondanze più elevati rispetto alle tre stazioni studiate.

Dal confronto tra i due campionamenti, effettuati prima e dopo la messa in funzione dello scarico delle acque di raffreddamento, si nota nel 2002 un generale aumento, in tutte le stazioni, sia del numero di taxa, sia dell'abbondanza degli individui di ogni taxon; ad eccezione dei nematodi nella st. M1 e st. M10 e dei copepodi nella st. M15, che hanno mantenuto una sostanziale stabilità. Le differenze rilevate fra i due anni possono essere attribuite alle diverse condizioni stagionali in cui sono stati prelevati i campioni. In ottobre 2000, infatti, la situazione era ancora estivo-autunnale, con una temperatura al fondo di quasi 20°C. Al contrario, a dicembre 2002 erano presenti condizioni invernali, con una temperatura al fondo di circa 12°C. Anche al centro del Golfo di Trieste la comunità meiobentonica presenta fluttuazioni di carattere stagionale con variazioni dell'abbondanza simili a quella illustrata nelle tre stazioni della presente indagine.

I popolamenti meiobentonici non sembrano essere stati influenzati dallo scarico delle acque di raffreddamento della centrale, il cui effetto è confinato allo strato superficiale della colonna d'acqua, ma piuttosto risentono della stagionalità e, soprattutto, delle generali condizioni di inquinamento dei sedimenti della Baia di Muggia.

4.5 COMUNITÀ MACROBENTONICA

Le comunità macrozoobentoniche sono costituite da organismi di dimensioni superiori a 0,5-1 mm, che trascorrono tutta o la maggiore parte della loro vita a contatto con il fondo o infossati nel sedimento. Nei fondi molli del Golfo di Trieste questi organismi sono rappresentati principalmente da policheti e molluschi e, in misura minore, da crostacei ed echinodermi.

Le caratteristiche di ridotta mobilità (quindi incapacità di sottrarsi alle fonti di stress o di inquinamento), di alta diversità (che porta ad una risposta selettiva allo stress ambientale) e di ciclo vitale relativamente lungo, fanno sì che l'analisi della loro composizione e delle eventuali modificazioni nel tempo, possa fornire una stima attendibile dello stato di salute o dell'intensità dell'inquinamento cui è stato sottoposto l'ambiente. La struttura di queste comunità è, infatti, direttamente correlata alle caratteristiche del substrato ed ai parametri chimico-fisici delle acque, e fornisce indicazioni sulle condizioni medie dell'ambiente, integrate lungo il periodo che precede il campionamento. Le alterazioni quali-quantitative che esse subiscono sono collegabili alle modificazioni ambientali naturali o antropiche, e di conseguenza, questi organismi, ed in particolare le specie più sensibili, sono considerati indicatori della qualità dell'ambiente in cui vivono e particolarmente adatte per valutare gli effetti dei diversi tipi di inquinanti (Reish 1986, Dauer 1993, Warwick 1993, Borja et al. 2000).

Il macrobenthos della Baia di Muggia è stato studiato fin dagli anni '60 allo scopo di valutare le influenze sui popolamenti di fondo di un'area fortemente antropizzata (Specchi & Orel 1968, Orel et al. 1980). Attualmente le comunità sono sensibilmente migliorate rispetto agli anni '70-'80, anche se continuano a presentare, soprattutto nella fascia più vicina alla costa settentrionale della Baia una diversità specifica inferiore a quella di altre zone del Golfo, non sottoposte ad una pressione antropica così intensa (Solis-Weiss et al. inviato).

Nell'area di studio sono stati raccolti in totale 70 taxa e 2413 individui. Il numero di taxa per stazione varia da un minimo di 15 nella st. M15 nel 2002, ad un massimo di 43 nella st. M10 nel campionamento del 2000 (fig. 4.5.1), mentre l'abbondanza totale varia tra 147 ind m⁻² (st. M15) e 787 ind m⁻² (st. M10) (fig. 4.5.2).

I policheti costituiscono circa il 68% delle specie campionate nelle tre stazioni e rappresentano l'85% delle abbondanze: questo è in genere il gruppo dominante nei popolamenti bentonici dei sedimenti fini (Fauchald 1977) e presenta il più elevato numero di specie in grado di sopravvivere in condizioni ambientali deteriorate (Pocklington & Wells 1992). Per tale motivo la dominanza di questo gruppo rispetto agli altri generalmente presenti nei sedimenti molli, quali molluschi, crostacei ed echinodermi, può indicare la presenza di situazioni di stress nell'ambiente marino. Tra i policheti vi sono, inoltre, alcune specie, quali *Capitella capitata* e *Malacoceros fuliginosus* considerate, se presenti in numero molto elevato (in genere migliaia per m²), indicatrici di inquinamento (Bellan & Pérès 1972, Pearson & Rosenberg 1978).

I molluschi, crostacei ed echinodermi mostrano percentuali molto basse sia per il numero di specie, attorno al 13% per molluschi, 16% per i crostacei e 4% per gli echinodermi, e ancora di più per le abbondanze, le cui percentuali sono rispettivamente 6%, 0,9% e 0,6%.

Le specie più abbondanti, in tutte e tre le stazioni, sono i policheti *Lumbrineris gracilis* e *Prionospio cirrifera* mentre, a livello di famiglia, i policheti paraonidi e cirratulidi raggiungono le densità più elevate. Specie caratteristiche di fondi fangosi, quali *Eunereis longissima*, *Maldane glebifex*, *Poecilochaetus fauchaldi* e *Brada villosa*, sono presenti soprattutto nella st. M10, il cui contenuto in pelite è più elevato (100%), rispetto alle altre due stazioni (rispettivamente 93% di pelite in M1 e 94,5% in M15).

Per confrontare la struttura delle comunità delle tre stazioni sono stati applicati gli indici di diversità di Shannon (H') e di equitabilità (J), che sono tra gli indici più utilizzati in questo tipo di studi. L'indice di Shannon condensa in un unico valore la ricchezza specifica della comunità e l'omogeneità della distribuzione degli individui tra le diverse specie, è pertanto più elevato con l'aumentare del numero di specie e con il diminuire della dominanza delle singole specie; l'indice di equitabilità è invece indipendente dal numero di specie e può variare da 0 con la dominanza assoluta di una specie, a 1 quando si verifica un'equidistribuzione quantitativa delle specie. I valori dell'indice di Shannon sono piuttosto omogenei in tutti i campionamenti e in tutte le stazioni, i valori più bassi si rilevano sempre nella st. M15 (tab. 4.5.1).

L'indice di equitabilità ha valori elevati, compresi tra 0,73 e 0,85, ed evidenzia una situazione di equilibrio dei popolamenti, che non presentano specie fortemente dominanti, come in genere avviene nelle comunità sottoposte a forti stress naturali o antropici. I valori calcolati per queste stazioni sono simili a quelli di una

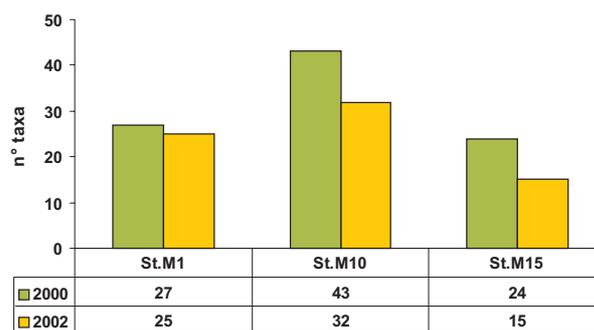


Figura 4.5.1 Numero di taxa nelle tre stazioni per il 2000 e 2002.

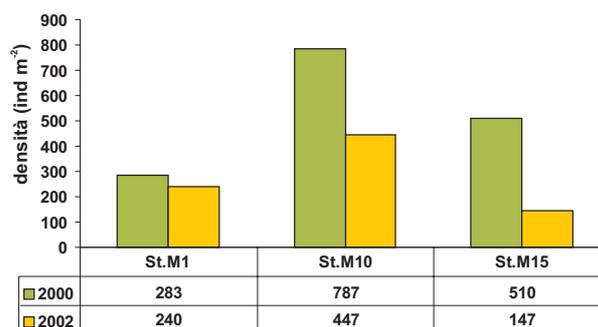


Figura 4.5.2 Abbondanza del macrobenthos nelle tre stazioni per il 2000 e 2002.

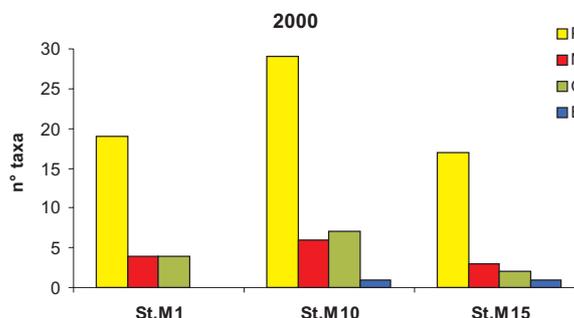


Figura 4.5.3 Numero di taxa di policheti, molluschi, crostacei ed echinodermi nel 2000.

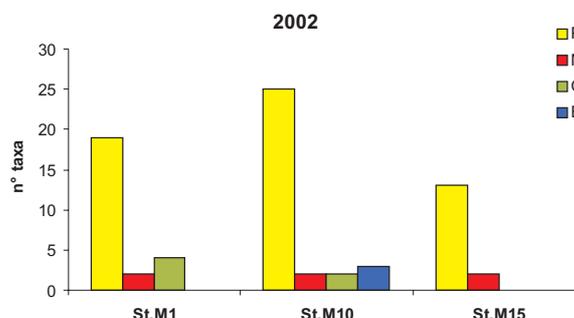


Figura 4.5.4 Numero di taxa di policheti, molluschi, crostacei ed echinodermi nel 2002.

stazione posta al centro del Golfo di Trieste sullo stesso tipo di sedimento, non soggetta a particolari influenze antropiche (Relazione finale Interreg 2 2001).

Analizzando le tre stazioni separatamente, la st. M10 posta in posizione intermedia rispetto allo scarico, è quella a più elevata diversità specifica ed abbondanza, mentre la st. M15, più esterna presenta il più basso numero di taxa.

Tra il campionamento effettuato ad ottobre 2000, prima della messa in funzione dell'impianto e quello eseguito a dicembre 2002, si nota una riduzione del numero di taxa e delle abbondanze in tutte le stazioni, tale riduzione appare meno evidente nella st. M1 (figg. 4.5.1-2), il cui popolamento non sembra variare molto nel tempo, mentre è certamente molto più consistente nella stazione M10, il cui numero di taxa decresce del 25% e la densità del 43% e, nella stazione M15 dove si osserva una riduzione del numero di taxa del 38% e della densità del 70%. Il decremento osservato nel 2002 è a carico di tutti e quattro i gruppi tassonomici più rappresentati (policheti, molluschi, crostacei ed echinodermi), sia analizzando il numero di taxa (figg. 4.5.3-4), che la densità (figg. 4.5.5-6). In particolare nella stazione M15 si nota la completa scomparsa di crostacei ed echinodermi nel 2002.

Le variazioni temporali sono evidenziate anche dai risultati ottenuti attraverso l'applicazione dell'analisi multivariata: nel dendrogramma di figura 4.5.7, i campionamenti sono suddivisi in due gruppi ben distinti, il primo costituito dalle tre stazioni campionate nel 2000 ed il secondo dai campionamenti del 2002.

L'analisi delle comunità bentoniche non ha evidenziato effetti collegabili allo scarico delle acque di raffreddamento, che non sembra influenzare gli organismi presenti nell'area

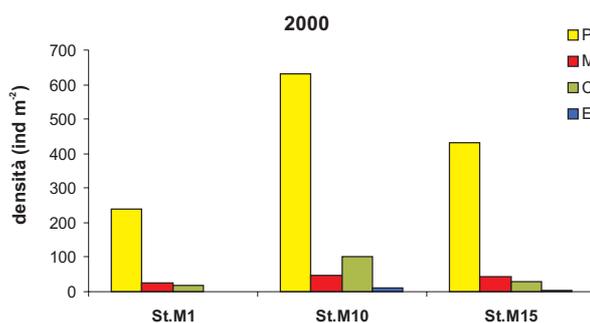


Figura 4.5.5 Abbondanza di policheti, molluschi, crostacei ed echinodermi nel 2000.

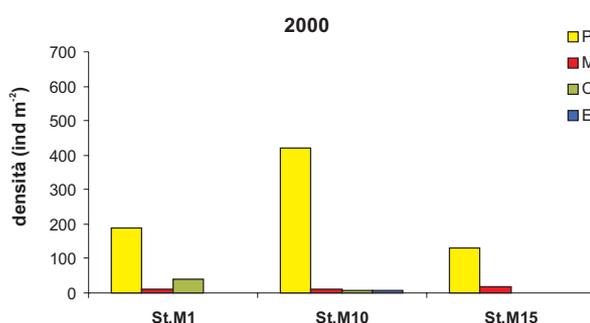


Figura 4.5.6 Abbondanza di policheti, molluschi, crostacei ed echinodermi nel 2002.

	2000		2002	
	H'	J	H'	J
St. M1	2,73	0,83	2,56	0,80
St. M10	2,91	0,77	2,53	0,73
St. M15	2,69	0,85	2,21	0,82

Tabella 4.5.1 Indici di diversità (H') e di equitabilità (J)

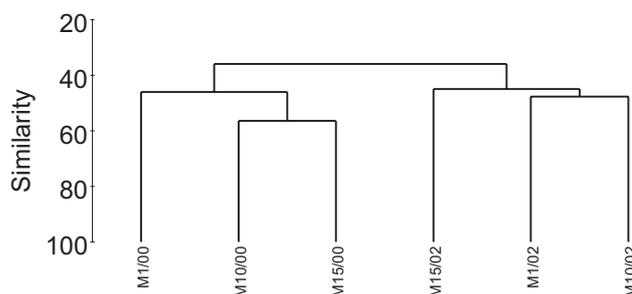


Figura 4.5.7 Dendrogramma delle stazioni M1, M10 e M15 per i campionamenti 2000 e 2002.

di studio, non vi sono, infatti, differenze rilevanti tra i popolamenti situati allo sbocco dello scarico e quelli della stazione più esterna posta a 1000 m da esso. Inoltre la composizione delle specie macrobentoniche non mostra la presenza di specie opportuniste, come riportato in altri studi relativi agli effetti dello scarico delle acque di raffreddamento di centrali elettriche, quali il polichete *C. capitata*, particolarmente abbondante in Tampa Bay, Florida (Mahadevan 1980) ed altre specie, tolleranti stress termici, quali *Caulleriella zetlandica* e *Tubificoides benedeni*, come evidenziato da uno studio effettuato sui popolamenti bentonici davanti ad una centrale nel Kent (Bamber & Spencer 1984).

La zona di studio presenta, già di per se, delle comunità con una diversità ridotta a causa di condizioni pregresse e, molto probabilmente, dell'ancora elevata concentrazione dei metalli pesanti nel sedimento. Le caratteristiche attuali sono certamente legate a quanto successo nei decenni passati, e non sono direttamente collegabili allo scarico della centrale, le cui acque rimangono confinate allo strato superficiale e non interessano il fondo.

5 CONCLUSIONI

Lo scopo di questo studio è stato quello di verificare se lo scarico delle acque di raffreddamento della centrale cogenerativa di Servola potesse in qualche modo influenzare le caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche dell'ambiente marino nella Baia di Muggia.

Il monitoraggio effettuato ha permesso di evidenziare come le condizioni di assenza di vento, oppure la presenza di venti e correnti superficiali provenienti dal I e II quadrante siano le caratteristiche meteomarine più significative per la dispersione nel bacino delle acque di raffreddamento. Al contrario, correnti del III e IV quadrante favoriscono l'omogeneizzazione della colonna d'acqua e la formazione di una zona di mescolamento a circa 450 m dalla costa. L'immissione in mare delle acque calde dello scarico non contribuisce a modificare significativamente la temperatura e le caratteristiche idrologiche del bacino, la distribuzione areale delle acque calde nello strato superficiale non supera una distanza di 350 - 400 m dalla costa ed il suo nucleo a maggiore temperatura viene rilevato quasi sempre in corrispondenza delle stazioni M8 ed M9, situate più a nord rispetto all'area di immissione dello scarico e prossime ad una zona bassa e confinata che tende ad accumulare calore.

Le acque della Baia di Muggia risultano sostanzialmente ben ossigenate, ad eccezione del mese di agosto, durante il quale l'ossigeno disciolto raggiunge alle quote di fondo le concentrazioni tipiche degli ambienti scarsamente ossigenati, situazione frequente nel Golfo di Trieste durante il periodo tardo estivo ed autunnale.

In considerazione del fatto che nelle acque di raffreddamento viene utilizzato il biossido di cloro quale agente antifouling, è stato esaminato questo parametro per evidenziare la sua diffusione. Si è notato che la presenza di cloro residuo è avvertita solo occasionalmente, a livello superficiale, nell'area prossima allo scarico (st.M1) e risulta sempre limitata e in concentrazioni inferiori ai limiti previsti dal D.Lgs.152/99. La valutazione della tossicità delle acque, eseguita con saggi su *Vibrio fischeri*, non ha evidenziato effetti tossici rilevanti, anche se la stazione M1, posta in prossimità dello scarico e la stazione M15, presentano una leggera inibizione della bioluminescenza del batterio.

La distribuzione temporale della concentrazione di clorofilla *a* risulta comparabile nelle stazioni M1, M10 e M15, alla quota superficiale e al fondo, mentre la stazione M17 più esterna, manifesta, in superficie, un andamento alquanto dissimile da quello delle altre stazioni. Tali differenze non sono state evidenziate a livello del fondo, dove gli andamenti sono maggiormente confrontabili. Anche la produzione primaria presenta valori più bassi alla quota superficiale della stazione M17 rispetto ai valori rilevati nelle altre stazioni. Il rapporto tra produzione primaria e respirazione risulta positivo nei primi mesi dell'anno e negativo dall'estate in poi. Il sistema oscilla quindi da una situazione di prevalenza dei processi di produzione su quelli di respirazione ad una in cui la richiesta di carbonio organico da parte delle comunità planctoniche non è supportata da una produzione sufficiente. In linea generale, come verificato anche dall'analisi dei dati relativi alla richiesta apparente di ossigeno (AUO), la produzione primaria risulta inferiore alle richieste metaboliche del sistema. Questa situazione di marcata eterotrofia d'altronde è tipica delle acque di tutto il Golfo di Trieste, non soltanto della Baia di Muggia, ed è indice di una scarsa produttività di tutta l'area.

L'andamento del fitoplancton è simile in tutte le stazioni monitorate, con abbondanze generalmente inferiori al fondo rispetto allo strato superficiale. Come già evidenziato dall'analisi della clorofilla *a* e della produzione primaria, la stazione M17 presenta valori d'abbondanza del fitoplancton inferiori a quelli riscontrati nelle stazioni più costiere, anche se queste differenze non sono significative. La diversità specifica è la stessa in tutti i siti monitorati e non vengono segnalate specie tipiche di acque con caratteristiche fisico-chimiche alterate. Le differenze osservate non risultano sostanziali, né da un punto di vista stagionale né spaziale, in quanto l'andamento e le variabilità riscontrate rientrano nell'intervallo di valori più volte descritto per il Golfo di Trieste. La maggiore abbondanza, così come la più alta produzione nell'area più costiera sono da mettere in relazione agli apporti terrigeni costieri, il cui effetto evidentemente non è più avvertibile nelle stazioni più al largo. La produzione più alta nella st.M1 è un chiaro indice, viceversa, del buon funzionamento della comunità dei produttori primari. Eccessi di clorazione, infatti, inibiscono come prima cosa la produzione primaria.

Le analisi effettuate sul sedimento di tre stazioni (M1, M10, M15), prima della messa in funzione dell'impianto e a distanza di due anni, non evidenziano alcun effetto direttamente collegabile allo scarico dell'impianto, le cui acque, come sottolineato dallo studio delle caratteristiche della colonna d'acqua, rimangono confinate allo strato superficiale e non interessano il fondo.

Da un punto di vista granulometrico i sedimenti delle stazioni M1 e M15 sono classificabili come pelite sabbiosa, mentre la stazione M10 è costituita interamente da sedimento pelitico. Le concentrazioni di carbonio organico e azoto totale presentano un'elevata disomogeneità nei diversi strati del sedimento, soprattutto per la stazione M1. In questa stazione il contenuto di carbonio organico appare diminuito dopo la messa in funzione dell'impianto, mentre nelle altre due stazioni la diminuzione è meno evidente e soltanto nello strato più superficiale (0-10 mm).

La porzione labile delle sostanze organiche sedimentate permette di valutare la disponibilità nutrizionale del sedimento per gli organismi bentonici. Le concentrazioni più ridotte di carboidrati si notano nella stazione M1 che presenta valori particolarmente bassi soprattutto nel 2002, forse attribuibile ad una diminuzione nell'abbondanza del popolamento microfitebentonico che, nel mese di dicembre 2002 potrebbe essersi trovato in una condizione di fotolimitazione e di conseguenza aver manifestato un'attività fotosintetica ridotta. Lipidi e proteine evidenziano una netta diminuzione di concentrazione passando dal primo al secondo campionamento in tutte e tre le stazioni. La somma di carboidrati, lipidi e proteine, in termini di carbonio, rappresenta la misura della frazione di carbonio biopolimerico (C-LOM) potenzialmente disponibile per gli eterotrofi bentonici: nel 2002 si assiste ad una generale diminuzione di concentrazione del carbonio biopolimerico, soprattutto a carico della componente lipidica. I valori mediamente più elevati di C-LOM e dell'indice trofico, evidenziati nel corso del primo campionamento, sono probabilmente attribuibili all'intensa fioritura fitoplanctonica registrata nel mese di ottobre 2000, che ha senz'altro determinato un ingente flusso di sostanza organica dalla colonna d'acqua verso il sedimento sottostante.

Le abbondanze batteriche presentano una notevole differenza nei due periodi considerati, con un aumento significativo in tutte le stazioni durante il secondo campionamento, lo

stesso andamento si rileva anche per i popolamenti meiobentonici. Al contrario la componente macrobentonica sembra influenzata dalla ridotta qualità trofica del sedimento evidenziata nel campionamento del 2002, e presenta un decremento della diversità e della densità in tutte le stazioni. Questa situazione può certamente aver favorito lo sviluppo delle comunità batterica e meiobentonica, a causa della ridotta attività di predazione degli organismi macrobentonici su di esse. In generale, nelle tre stazioni esaminate, il macrobenthos è caratterizzato da condizioni di equilibrio, non sono presenti, infatti, specie dominanti, che potrebbero indicare uno stress molto intenso e neppure specie indicatrici di ambienti inquinati.

Dallo studio effettuato nell'area prospiciente l'impianto, si evidenzia una moderata influenza dello scarico e soltanto per alcuni parametri della colonna d'acqua, in particolare la temperatura superficiale ed il cloro residuo, in entrambi i casi però i valori interessano soprattutto lo strato d'acqua superficiale e risultano ampiamente al di sotto dei limiti di legge. Per quanto riguarda il sedimento, le differenze riscontrate tra i due campionamenti (prima e a 2 anni dalla messa in funzione della centrale) sono collegabili, da un lato, alle condizioni ambientali della Baia, caratterizzata dalla presenza di concentrazioni elevate di metalli pesanti e di altre sostanze tossiche accumulate nei sedimenti nel corso di un centinaio d'anni (i primi insediamenti produttivi risalgono al 1908), dall'altro alla variabilità stagionale e all'evoluzione dei popolamenti del Golfo di Trieste. La diminuzione della sostanza organica labile e l'aumento delle componenti di dimensioni minori (batteri e meiofauna) mettono, infatti, in luce la tendenza, già notata nelle acque del Golfo di Trieste, verso una riduzione del grado di trofia del sistema ed un aumento degli organismi di dimensioni più piccole, rappresentati appunto dalla comunità microbica e meiobentonica.

6 BIBLIOGRAFIA

AA.VV. (1977) La baia di Muggia. Stato ed evoluzione dell'ambiente. Università degli Studi di Trieste – Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali. Comune di Muggia: 155pp

Adami G, Barbieri P, Campisi B, Predonzani S, Reisenhofer E (1996) Anthropogenic heavy metal distribution in sediments from an area exposed to industrial pollution (harbour of Trieste, Northern Adriatic Sea). *Boll Soc Adr Sci* 77: 5-18

Adami G, Aleffi F, Barbieri P, Favretto A, Predonzani S, Reisenhofer E (1997) Bivalves and heavy metals in polluted sediments: a chemometric approach. *Water Air Soil Poll* 99(1/4): 615-623

Adami G, Barbieri P, Piselli S, Predonzani S, Reisenhofer E (1998) New data on organic pollutants in surface sediments in the harbour of Trieste. *Annali Chimica* 88: 745-754

Adami G, Barbieri P, Reisenhofer E (1999) A comparison on five sediment decomposition procedures for determining anthropogenic trace metal pollution. *Intern J Environ Anal Chem* 75(3): 251-260

Adami G, Barbieri P, Reisenhofer E (2000a) An improved index for monitoring metal pollutants in surface sediments. *Toxicol Environ Chem* 77: 189-197

Adami G, Barbieri P, Piselli S, Predonzani S, Reisenhofer E (2000b) Detecting and characterising sources of persistent organic pollutants (PAHs and PCBs) in surface sediments of an industrialized area (harbour of Trieste, northern Adriatic Sea). *J Environ Monit* 2: 261-265

AFNOR (1991) Determination de inhibition de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum* T90-320

Ahmed SI, Kenner RA, King FD (1976) Preservation of enzyme activity in marine plankton by low-temperature freezing. *Mar Chem* 4: 133-139

Aleffi F, Brizzi G, Del Piero D, Goriup F, Landri P, Orel G, Vio E (1992) Macro and meiobenthos responses to oxygen depletion in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea, Italy). *Rapp Comm int Mer Médit* 33: 343

Altman FP (1976) Tetrazolium salts and formazans. *Prog Histochem Cytochem* 9(3): 1-56

ASTM. Standard Test Method D5660-95 (1995) Assessing the microbial detoxification of chemical contaminated water and soil using a toxicity test with a luminescent marine bacterium. West Conshohocken, PA: American Society for testing and materials

Azur Environmental (1998) Microtox Omni™ software Carlsbad California USA

Bamber RN (1995) The influence of rising background temperature on the effects of marine thermal effluents. *J Therm Biol* 20(1/2): 105-110

Bamber RN, Spencer JF (1984) The benthos of a coastal power station thermal discharge canal. *J mar biol Ass UK* 64: 603-623

Båmstedt U (2000) A new method to estimate respiration rate of biological material based on the reduction of tetrazolium violet. *J Exp Mar Biol Ecol* 251: 239-263

Bell SS, Coull BC (1978) Field evidence that shrimp predation regulates meiofauna. *Oecologia* 35: 141-148

Bellan G, Pérès JM (1972) La Pollution dans le Bassin Méditerranéen (Quelques Aspects en Méditerranée Nord-occidentale et en Haute Adriatique: Leurs Enseignements). In *Marine pollution and sea life* (ed M. Ruivo) Fishing news L.T.D., Surrey: 32-35

Bellan G, Bourcier M (1990) Les enseignements d'une étude sur dix ans (1976-1986) des peuplements de substrats meubles au large d'un émissaire d'eaux usées: Marseille-Cortiou. *Cah Biol Mar* 31: 225-249

Bensoussan M, Bianchi A (1983) Distribution et activité catabolique potentielle des communautés bactériennes des eaux et des sédiments profonds prélevés sur diverses marges continentales. In: Combaz A (ed) *Géochimie organique des sédiments marins d'Orgon à Misedor*. Editions du CNRS, Paris: 39-79

Bligh EG, Dyer W (1959) A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917

Borja A, Franco J, Pérez V (2000) A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Mar Poll Bull* 40: 1100-1114

Bregant D, Catalano G, Moro F (1981) La distribuzione dei nutrienti nel Golfo di Trieste. *Convegno delle unità operative afferenti ai sottoprogetti risorse biologiche e inquinamento marino, Roma novembre 1981*: 859-875

Brizzi G, Zanolin B (1992) Progetto Alpe Adria Programma di ricerca sul meiobenthos. *Relazione finale per l'anno 1992 (LBM rapporto interno)*

Broberg A (1983) Effects of heavy metals on electron transport system activity (ETSA) in freshwater sediments. *Environ Biochem Ecol Bull (Stockholm)* 35: 403-418

Buffan-Dubau E, Carman KR (2000) Diel feeding behavior of meiofauna and their relationships with microalgal resources. *Limnol Oceanogr* 45(2): 381-395

Cabrini M, Cok S, Pecchiari I (2000) Dinamica e struttura del fitoplancton nella fascia costiera del Golfo di Trieste. *Biol Mar Medit* 7(1): 850-853

Cahet G, Daumas R, Sibuet M (1990) In situ experimentation at the water/sediment interface in the deep sea. 2. Biotransformation of dissolved organic substrates by microbial communities at 2000 m depth in the Bay of Biscay. *Prog Oceanogr* 24: 169-178

Carpenter JH (1965) The accuracy of the Winkler method for dissolved oxygen analysis. *Limnol Oceanogr* 10: 135-140

Chin-Leo G, Banner R (1992) Enhanced bacterioplankton production and respiration at intermediate salinities in the Mississippi River plume. *Mar Ecol Prog Ser* 87: 87-103

Costa G, Honsell G, Reisenhofer E (1977) Determinazione elettroanalitica di metalli pesanti nella baia di Muggia: correlazioni con dati ambientali. *Boll Soc Adr Sci* 61: 11-22

Curl HC, Sandberg J (1961) The measurement of dehydrogenase activity in marine organism. *J Mar Res* 19: 123-138

Danovaro R, Fabiano M, Vincx M (1995) Meiofauna response to the *Agip Abruzzo* oil spill in subtidal sediments of the Ligurian Sea. *Mar Poll Bull* 30(2): 133-145

Danovaro R, Dell'Anno A, Fabiano M (2001) Bioavailability of organic matter in the sediments of the Porcupine Abyssal Plain, northeastern Atlantic. *Mar Ecol Prog Ser* 220: 25-32

Dauer DM (1993) Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. *Mar Poll Bull* 26(5): 249-257

Dean AM, Koshland DE Jr (1990) Electrostatic and steric contribution to regulation at the active site of isocitrate dehydrogenase. *Science* 247: 1044-1046

De Brouwer JFC, Stal LJ (2001) Short-term dynamics in microphytobenthos distribution and associated extracellular carbohydrates in surface sediments of an intertidal mudflat. *Mar Ecol Prog Ser* 218: 33-44

De Vittor C, De Prà F (2003) Distribuzione della clorofilla *a* frazionata nella colonna d'acqua del Golfo di Trieste: autunno 1998 – estate 2001. *Biol Mar Medit* in stampa

Deflaun MF, Mayer LM (1983) Relationship between bacteria and grain surface in intertidal sediments. *Limnol Oceanogr* 28: 873-881

Devinsky JS (1980) Effects of thermal effluents on communities of benthic marine macroalgae. *J Environ Man* 11: 225-242

DIN 38412-L34 (1991) Determination of the inhibitory effect of waste water on the light emission of *Photobacterium phosphoreum*

Dinet A (1979) A quantitative survey of meiobenthos in the deep Norvegia Sea. *Ambio Special Report* 6: 75-77

Dinet A, Nodot C, Vitiello P, Vivier MH (1982) Impact of a thermal effluent on benthic harpacticoid copepod community. *Tethys* 10: 355-363

Eisma D, Bernard P, Cadee GC, Ittekkot V, Kalf J, Laane R, Martin JM, Mook WG, Van Put A, Shumaker T (1991) Suspended matter particle size in some west European estuaries. Part I A review of floc formation and break up. *Neth J Sea Res* 28: 215-220

Environmental Canada (1992) Biological test method: toxicity test using luminescent bacteria (*Photobacterium phosphoreum*). Report EPS 1/RM/24 Ottawa: Environmental Canada

EPA – Environmental Protection Agency (1991) Technical support document for water quality –based toxics control EPA/505/2 -90-001

- Fabiano M, Danovaro R (1994) Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. *Hydrobiologia* 277: 71-84
- Fabiano M, Danovaro R, Frascetti S (1995) A three-year time-series of elemental and biochemical composition of organic matter in subtidal sandy sediments of the Ligurian Sea (northwestern Mediterranean). *Cont Shelf Res* 15: 1453-1469
- Faganeli J, Pezdic J, Ogorelec B, Misic M, Najadek M (1994) The origin of sedimentary organic matter in the Adriatic. *Cont Shelf Res* 14 (4): 365-384
- Fauchald K (1977) The polychaete worms: definition and keys to the orders, families and genera. Natural History Museum Los Angeles Country. Science Series 28: 1-188
- Favretto L, Campisi B, Reisenhofer E, Adami G (1997) Terrigenous debris and mussel pollution – a differentiation based on trace element concentration by means of multivariate analysis. *Analytica Chimica Acta* 344: 251-259
- Fichez R (1991) Composition and fate of organic matter in submarine cave sediments; implication for the biogeochemical cycle of organic carbon. *Oceanol Acta* 14: 369-377
- Fize A (1963) Contribution a l'étude de la microfaune des sables littoraux du Golfe d'Aigues Mortes. *Vie Milieu* 14: 671-774
- Fonda Umani S (1991) General features of the planktonic system in the Gulf of Trieste and their variations in the last decade. *MAP Tech Reps* 47: 82-101
- Fonda Umani S (1996) Pelagic biomass and production in the Adriatic Sea. In: Palomera J, Rubies P (eds) *The european anchovy and its environment*. *Sci Mar* 60: 65-77
- Fonda-Umani S, Princi M, Specchi M, Milani L (1982) Influenza di fattori ambientali locali sulla comunità planctonica del Golfo di Trieste. *Boll Mus Ist Biol Univ Genova* 50: 188-193
- Fry JC (1988) Determination of Biomass. *Methods in Aquatic Bacteriology* 2: 27-72
- Furhman JA, Azam F (1982) Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Mar Biol* 66: 109-120
- Geider R, Osborne BA (1992) *Algal photosynthesis*. Chapman Hall, New York 250pp
- Gerchacov SM, Hatcher PG (1972) Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments. *Limonol Oceanogr* 17: 938-943
- Ghirardelli E, Pignatti S (1968) Conséquences de la pollution sur le peuplements du Vallone de Muggia prés de Trieste. *Rev Intern Oceanogr Med* 10: 111-122
- Ghirardelli E, Orel G, Giaccone G (1973) L'inquinamento del Golfo di Trieste. *Atti Museo Civ Storia Nat Trieste* 17: 431-450
- Graeffe A (1881) *Arb Zool Inst Wien und Zool Stat Triest* 3: 334-344

- Graeffe E (1882) Boll Soc Adriat Sc Nat 7: 41-51
- Hartree EF (1972) Determination of proteins: a modification of the Lowry method that give a linear photometric response. *Analyt Biochem* 48: 422-427
- Hedges JI, Stern JH (1984) Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnol Oceanogr* 29: 657-663
- Heip C, Vincx M, Vranken G (1985) The ecology of marine nematodes. *Oceanogr Mar Biol Ann Rev* 23: 399-489
- Hirayama K, Hirano R (1970) Influence of high temperature and residual chlorine on marine phytoplankton. *Mar Biol* 7(3): 205-213
- Holian A, Wilson DF (1980) Relationship of transmembrane pH and electrical gradients with respiration and adenosine 5*-triphosphate synthesis in mitochondria. *Biochem* 19: 4213-4221
- Hondeveld BJM, Bak RPM, van Duyl FC (1992) Bacterivory by heterotrophic nanoflagellates in marine sediments measured by uptake of fluorescently labeled bacteria. *Mar Ecol Prog Ser* 89: 63-71
- Hoppe HG (1983) Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl-substrates. *Mar Ecol Prog Ser* 11: 299-308
- Hoppe HG, SJ Kim, K Gocke (1988). Microbial decomposition in aquatic environments: combined process of extracellular enzyme activity and substrate uptake. *Appl Environ Microbiol* 54: 784-790
- <http://ecozero.liguriainrete.it/ecozero/progamb.htm>. Progettare l'ambiente. Visitato nel maggio 2003
- ICRAM Istituto di Ricerca sulle Acque (1996) Saggio di tossicità acuta con batteri bioluminescenti. Metodo per la determinazione della diminuzione della bioluminescenza emessa da *Vibrio fischeri* ISSN: 0392-1425
- Jolley RL, Gorcheu H, Hamilton DH (1978) Water chlorination: environmental impacts and health effects, 2. Ann Arbor Sciences, Michigan
- Jun Wen Li, Zuobin Yu, Ximpei Cai, Ming Gao, Fuhuan Chao (1996) Trihalomethanes formation in water treated with chlorine dioxide. *Wat Res* 30: 2371-2376
- Junli H, Li W, Nanqi R, Fang M, Juli (1997) Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water. *Wat Res* 31: 607-613
- Justic D (1991) A simple oxygen index for trophic state description. *Mar Poll Bull* 22: 201-204
- Kamler E (1972) Bioenergetical aspects of the influence of 2,4-D-Na on the early development stages in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Polskie Archiwum Hydrobiologii* 19: 451-474

- Kalina M, Palmer JM (1968) The reduction of tetrazolium salts by plant mitochondria; role of coenzyme-Q and other lipids. *Biochem Biophys Acta* 47: 475-496
- Kester DR (1981) Dissolved gases other than CO₂ In: Riley JP, Chester R (eds) *Chemical oceanography*. Academic Press 11: 497-547
- Klingenberg M (1968) The respiratory chain, *In* *Biological oxidations*, pp. 3-54. Editor, TP Singer. Interscience, New York. 722 pp
- Langford TE (1990) *Ecological effects of thermal discharges*. Elsevier Applied Science: 468pp
- Langford TE, Hawkins SJ, Bray S, Hill C, Wels N, Yang Z (1998) *Pembroke Power Station: impact of cooling water discharge on the marine biology of Milford Haven*. Report No. UC285 by the Aquatic and Coastal Ecology Group, GeoData Institute, University of Southampton for the Countryside Council for Wales
- Lardicci C, Rossi F, Maltagliati F (1999) Detection of thermal pollution: variability of benthic communities at two different spatial scales in an area influenced by a coastal power station. *Mar Poll Bull* 38(4): 296-303
- Lee Chen YL (1992) Factors affecting the phytoplankton assemblages in a tropical coastal water influenced by thermal effluent of a power plant. *Bull Plankton Soc Japan* 39(1): 25-40
- Lee JJ, Furhman JA (1987) Relationship between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Appl Environ Microbiol* 53 :1298
- Lorenzen CJ, Jeffrey S (1980) Technical papers in marine science. SCOR-UNESCO 35: 1-20
- Low PS, Bada JL, Somero NG (1973) Temperature adaption of enzymes: roles of free energy, the enthalpy and the entropy of activation. *PNAS* 70: 420-432
- Ma SWY, Kueh CSW, Chiu GWL, Wild SR, Yip JY (1998) Environmental management of coastal cooling water discharges in Hong Kong. *Wat Sci Tech* 38: 267-274
- Mahadevan S (1980) A study of the effects of power plant thermal discharges on benthic infaunal communities at Big Bend, Tampa Bay (Florida). *Florida Science* 43: 7-10
- Majori L, Nedoclan G, Modonutti GB, Daris F (1978) Levels of metal pollutants in sediments and biota of the Gulf of Trieste: a long term survey. IV Journées Etud Pollutions, Antalya, CIESM: 237-243
- Malej A, Mozetic P, Malacic V, Terzic S, Ahel M (1995) Phytoplankton responses to freshwater inputs in a small semi-enclosed gulf (Gulf of Trieste, Adriatic Sea). *Mar Ecol Prog Ser* 120(1-3): 111-121
- Malej A, Fonda Umani S (1998) Evoluzione delle interazioni trofiche nell'ecosistema del Golfo di Trieste. Atti Convegno "Evoluzione dello stato trofico in Adriatico: analisi degli interventi attuali e future linee di intervento" Marina di Ravenna, 28-29 settembre 1995, Reg. Emilia Romagna, Prov. Ravenna Autorità di bacino del fiume Po (ed), 61-70

Marcotte BM (1974) The effects of organic pollution on meiofaunal population density, species diversity and community structure in the Bay of Piran, Yugoslavia (North adriatic). A thesis Facult Clark Univ Worchester, Mass: 45 pp

Marcotte BM, Coull BC (1974) Pollution, diversity and meiobenthic communities in the North Adriatic (Bay of Piran, Yugoslavia). *Vie Milieu* 24(2): 281-300

Marsh JB, Weinstein DB (1966) Simple charring method for determination of lipids. *J Lipid Res* 7: 574-576

Martinez-Arroyo A, Abundes S, Gonzales ME, Rosas I (2000) On the influence of hot-water discharges on phytoplankton communities from a coastal zone of the Gulf of Mexico. *Water Air Soil Poll* 119: 209-230

Meighen EA (1991) Molecular biology of bacterial bioluminescence. *Microbiol Reviews* 55(1): 23-142

Metodica 4500-D (1992) APHA, AWWA, WEF Standard methods. Ed. 18th 1044pp

Meyer-Reil LA (1983) Benthic response to sedimentation events during autumn to spring at a shallow water station in the Western Kiel Bight. II. Analysis of benthic bacterial populations. *Mar Biol* 77: 247-256

Meyer-Reil LA (1987) Seasonal and spatial distribution of extracellular enzymatic activities and microbial incorporation of dissolved organic substrates in marine sediments. *Appl Environ Microbiol* 1748-1755

Miller DS, Brighthouse BA (1984) Thermal discharges: a guide to power and process plant cooling-water discharges into rivers, lakes and seas. British Hydromechanics Research Association, London

Moncheva S, Gotsis-Skretas O, Pagou K, Krasteva A (2001) Phytoplankton blooms in Black Sea and Mediterranean coastal ecosystems subjected to anthropogenic eutrophication: similarities and differences. *Estuar Coast Shelf Sci* 53: 281-295

Montagna PA (1982) Sampling design and enumeration statistics for bacteria from marine sediments. *Appl Environ Microbiol* 43: 1366-1372

Nachlas MM, Margulies SI, Seligman AM (1960) Sites of electron transport to tetrazolium salt in succinoxidase system. *Biol Chem* 2: 2739-2743

Neira C, Sellanes J, Soto A, Gutiérrez D, Gallardo VA (2001) Meiofauna and sedimentary organic matter off Central Chile: response to changes caused by the 1997-1998 El Niño. *Oceanol Acta* 24: 313-328

Nieuwenhuize JY, Maas EM, Middleburg JJ (1994) Rapid analysis of organic carbon and nitrogen in particulate materials. *Mar Chem* 45: 217-224

Nota FJG (1958) Sediments of the western Guiana shelf. Report of the Orinoco Shelf expedition, vol 2 Veenman e Zones, Wageningen: 98pp

Nybakken JW (1997) Marine Biology An Ecological Approach (Cap. 7 Meiofauna). Fourth Edition Addison Wesley Longman: 481pp

Orel G, Vio E, Manià M, Del Piero D (1980) I popolamenti bentonici su due radiali della costa settentrionale della Baia di Muggia. Mem Biol Marina Oceanogr 10: 241-245

Owens TG, King FD (1975) The measurement of respiratory electron-transport-system activity in marine zooplankton. Mar Biol 30: 27-36

Packard TT (1969) The estimation of the oxygen utilization rate in seawater from the activity of the respiratory electron transport system in plankton. Ph.D. thesis, Univ. Wash., Seattle. 115 pp

Packard TT (1985) Measurement of electron transport activities in marine environments Advances in Aquatic Microbiology 3: 207-261.

Packard TT, Healy ML, Richards FA (1971a) Vertical distribution of the activity of the respiratory electron transport system in marine plankton. Limnol Oceanogr 16(1): 60-70

Packard TT, Blasco D, MacIsaac JJ, Dugdale RC (1971b) Variations of nitrate reductase activity in marine phytoplankton Invest. Pesq: 35

Packard TT, Williams PJ (1981) Rates of respiratory oxygen consumption and electron transport in surface seawater from the northwest Atlantic. Oceanol Acta 4(3): 351-358

Packard TT, Denis M, Rodier M, Garfield P (1988) Deep ocean metabolic CO₂ production: calculation from ETS activity. Deep Sea Res 35: 371-382

Packard TT, Berdalet E, Blasco D, Roy SO, St-Amand L, Lagacé B, Lee K, Gagné GP (1996) Oxygen consumption in the marine bacterium *Pseudomonas nautica* predicted from ETS activity and bisubstrate enzyme kinetics. J Plankton Res: 1810-1835

Pearson TH, Rosenberg R (1978) Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. Oceanogr Mar Biol Ann Rev 16: 229-311

Pearre Sifford Jr (1964) Metabolic activity as an indicator of zooplankton abundance. M.S. Thesis, Dalhousie Univ., Halifax. 78 pp

Penefsky HS, Cross RI (1991) Structure and mechanism of F₀-F₁-type ATP synthases and ATPases. Adv Enzimol 64: 173-215

Pocklington P, Wells P (1992) Polychaetes: key taxa for marine environmental quality monitoring. Mar Poll Bull 24(12): 593-598

Poremba K, Eadley D, Patching JW (1994) Dynamics of microbial abundance and activity in deep-sea sediment of the Northeast Atlantic. Microbiol Eur 2: 22-25

Raffaelli D, Mason CF (1981) Pollution monitoring with meiofauna, using the ratio of nematodes to copepods. Mar Poll Bull 12: 158-163

Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia (1994) Piano generale per il risanamento delle acque. Direzione Regionale dell'Ambiente. Studio Capella Gorizia

Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia (1998) Classificazione delle zone di produzio-

ne molluschi bivalvi. Elaborazioni cartografiche. Direzione Regionale della Sanità e delle Politiche Sociali

Reish D (1980) Effects of domestic wastes on the benthic marine communities of southern California. *Helgol. Meeresunters* 33: 377-383

Reish D (1986) Benthic invertebrates as indicators of marine pollution: 35 years of study. *IEEE OCEANS '86 Conf. Proc. Washington D.C., sept 23-25 1986*: 885-888

Relazione conclusiva Interreg 2 (2001) Progetto di monitoraggio dell'Alto Adriatico. Direzione Regionale dell'Ambiente. Relazione conclusiva luglio 1998 – giugno 2001: 105pp

Riemann B, Bjorsen P K, Newll S, Fallon R (1987) Calculation of cell production of coastal marine bacteria based on measured incorporation of ^3H -thymidine. *Limnol Oceanogr* 32:471-476

Rossi D, Baudo R, Bertoni R (1994) Stima della concentrazione della clorofilla *a* nel particellato acquatico. *Aqua Aria* 7: 629-642

Rowe GT, Deming JW (1985) The role of bacteria in the turnover of organic carbon in deep-sea sediments. *J Mar Res* 43: 925-950

Saggiomo V, Magazzù G, Modigh M, Decembrini F (1990) Produzione del fitoplancton. *Metodi nell'ecologia del plancton marino. Nova Thal* 11: 231-244

Sandulli R (1986) Pollution and meiofauna: a short review. *Nova Thal* 8(3): 317-323

Savenkoff C, Vezina AF, Chanut JP, Gratton Y (1995) Respiratory activity and CO_2 production rates of microorganism in the lower St Lawrence Estuary. *Continental Shelf Res* 15(6): 613-631

Sdrigotti E, De Vittor C, Bettoso N, Aleffi F, Del Negro P, Fonda Umani S (2002) Influenza della produzione microalgale sul valore nutrizionale dei sedimenti in un ambiente costiero dell'Alto Adriatico. *Biol Mar Medit* 9: 199-207

Shepard FP (1954) Nomenclature based on sand silt clay ratios. *Journ Sed Petr* 24: 151-158

Simon M, Azam F (1989) Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar Ecol Prog Ser* 51: 201-213

Smith DC, Azam F (1992) A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using ^3H -leucine. *Mar Microb Food Webs* 6(2): 107-114

Solis-Weiss V, Aleffi F, Bettoso N, Rossin P, Orel G, Fonda-Umani S Effects of industrial and urban pollution on the benthic macrofauna in the Bay of Muggia (industrial port of Trieste, Italy). (inviato).

Specchi M, Orel G (1968) i popolamenti dei fondi e delle rive del Vallone di Muggia presso Trieste. *Boll Soc Adr Sci* 56: 137-161

Specchi M, Valli G, Fonda-Umani S, Radini G (1980) Il plancton della Baia di Muggia.

Considerazioni sulla possibile identificazione di una comunità planctonica indicatrice di ambiente inquinato. *Mem Biol Marina Oceanogr* 10: 311-317

Specchi M, Fonda-Umani S, Radini G (1981) Les fluctuations du zooplancton dans une station fixe du Golfe de Trieste (Haute Adriatique). *Rapp Comm Int Mer Medit* 27(7): 97-100

Staats N, Stal LJ, De Winder B, Mur LR (2000) Oxygenic photosynthesis as driving process in exopolysaccharide production of benthic diatoms. *Mar Ecol Prog Ser* 193: 261-269

Steemann-Nielsen E (1952) The use of radioactive ^{14}C for measuring organic production in the sea. *J Cons Perm Int Exp Mer* 18: 117-140

Stossich A (1876) Breve sunto sulle produzioni marine del Golfo di Trieste. *Boll Soc Adr Sci Nat Trieste* 2(3): 349-371

Stossich A (1880) Breve sunto sulle produzioni marine del Golfo di Trieste. *Boll Soc Adr Sci Nat Trieste* 5: 55-184

Suresh K, Ahamed MS, Durairaj G, Nair KVK (1993) Impact of power plant heated effluent on the abundance of sedentary organism, off Kalpakkam, east coast of India. *Hydrobiologia* 268: 109-114

Szabo IM (1989) *A boiszfera mikrobiologiaja. The Microbiology of the Biosphere.* Budapest: Akademiai Kiado

Tessier C (1990) Suivi environnemental des rejets thermiques dans le fleuve Sant-Laurent a Gentilly de 1980 a 1989. *Collection Environnement et Geologie* 11, 562. Messier, Legendre et Delisle (Eds.), Québec, Canada

Tholosan O, Bianchi A (1998) Bacterial distribution and activity at the water-sediment boundary layer on NW Mediterranean continental margin. *Mar Ecol Prog Ser* 168: 273-283

Turley CM, Lochte K (1990) Microbial response to the input of fresh detritus to the deep-sea bed. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol* 89: 3-23

Verlaque M, Giraud G, Boudouresque CF (1981) Effects of a thermal power plant on the Mediterranean marine phytobenthos: the area of high frequency temperature changes. *Botanica Marina* 24: 69-87

Vidakovic J (1983) The influence of raw domestic sewage on density and distribution of meiofauna. *Mar Poll Bull* 14: 84-88

Vitiello P, Dinet A (1979) Definition et échantillonnage du meiobenthos. *Rapp Comm int Mer Médit* 25/26: 279-283

Vrišer B (1979) Modifikacije meiofavne v umetno poluiranem lagunarnem ekosistemu. *Biol Vestn (Ljubljana)* 1: 75-86

Vrišer B (1982) Strukturne in bioprodukcijske značilnosti meiofavne v sistem in umetno onesnazenem okolju Strunjanske Lagune. *Acta Adriat* 23(1/2): 339-353

Vrišer B (1983-84) Meiofaunal community structure and species diversity in the bays of Koper, Strunjan and Piran (Gulf of Trieste, North Adriatic). *Nova Thal* 6: 5-17

Vrišer B (1984) Vpliv nekaterih abiotičnih ekoloških faktorjev na gostoto in prostorsko razporeditev meiofavne glinasto-muljastega dna. Slovensko morje in zaledje VII št 6/7: 143-156

Vrišer B (1986) Vpliv organskega onesnazenja na meiofavno priobalnih muljev Koprškega zaliva. Biol Vestn 34(2): 93-104

Vrišer B (1989) Meiofavna južnega dela Tržaškega zaliva I. Taksonomska struktura in abundanca. Biol Vestn 37(4): 65-76

Vrišer B (1991) Meiofauna of the southern Part of the Gulf of Trieste (Northern Adriatic) II. Problems of the Mesoscale Spatial Distribution. Biol Vestn 39(1): 165-176

Vrišer B (1992) Meiofavna južnega dela Tržaškega zaliva III. Favna in združbe harpaktikoidov (Copepoda: Harpacticoida). Biol Vestn 40(2): 89-106

Vrišer B (1996a) Sezonska dinamika in variabilnost meiofavne v Tržaškem zalivu: triletna raziskava. Annales 9: 45-52

Vrišer B (1996b) Sezonska dinamika in variabilnost harpaktikoidov (Copepoda: Harpacticoida) v Tržaškem zalivu: triletna raziskava. Annales 9: 53-60

Vrišer B (1997) Seasonal and three-year variability of meiofauna in the Gulf of Trieste (northern Adriatic). Per Biol 2: 209-212

Warwick RM (1981) The nematode:copepod ratio and its use in pollution ecology. Mar Poll Bull 12: 329-333

Warwick RM (1993) Environmental impact studies on marine communities: pragmatical consideration. Australian J Ecol 18: 63-80

Welker C, Sdrigotti E, Covelli S, Faganeli J (2002) Microphytobenthos in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea): relationship with labile sedimentary organic matter and nutrients. Estuar Coast Shelf Sci 55: 259-273

Wentworth CK (1922) A scale of grade and class for clastic sediment. J Geol 30:372-392

Winkler LW (1888) Die Bestimmung des im Wasser gelosten Sauerstoffes. Chem Ber 21: 2843-2855

Zingone A, Honsell G, Marino D, Montresor M, Socal G (1990) Fitoplancton. Metodi nell'ecologia del plancton marino. Nova Thalassia 11: 183-198