



**Ministero dell'Ambiente  
e della Tutela del territorio**

Direzione per la Ricerca Ambientale  
e lo Sviluppo Divisione IV



**APAT**

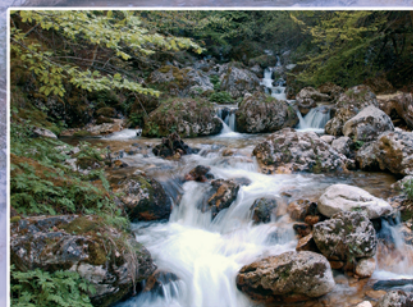
Agenzia per la protezione  
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Progetti di ricerca in materia ambientale ai sensi della legge n.305/89.  
Attuazione PTTA: azioni nazionali in materia di ricerca ambientale.

Attuazione Programma PR. 1A

# **Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque, con particolare riferimento all'applicazione del decreto legislativo 152/99**

**RELAZIONI FINALI**





Ministero dell' Ambiente e  
della Tutela del Territorio  
Direzione per la Ricerca  
Ambientale e lo Sviluppo  
Divisione IV



**Progetti di ricerca in materia ambientale ai sensi della legge n.305/89.  
Attuazione PTTA: azioni nazionali in materia di ricerca ambientale.**

**Attuazione Programma PR. 1A**

*“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di  
qualità ecologico e chimico delle acque, con particolare  
riferimento all'applicazione del decreto legislativo 152/99”.*

**RELAZIONI FINALI**

### **Informazioni legali**

L'Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici o le persone che agiscono per conto dell'Agenzia stessa non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questa pubblicazione.

### **APAT – Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici**

Servizio Interdipartimentale Informativo Ambientale

Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 ROMA

<http://www.apat.it>

### **Elaborazione grafica**

Grafica di copertina: Franco Iozzoli, APAT

Foto di copertina: Paolo Orlandi, APAT

### **Coordinamento tipografico**

Stefano De Vincenzi, APAT

Maria Giuseppina Farrace, APAT

Cecilia Silvestri, APAT

Emanuela Spada, APAT

## **Responsabile di Progetto**

**Claudio Fabiani**

APAT – Dipartimento Tutela Acque Interne e Marine

Servizio Tutela delle Risorse

## **Responsabili scientifici**

Roberto **Barale** – Università degli Studi di Pisa

Alberto **Basset** – Università degli Studi di Lecce, DiSTeBA

Maria Cristina **Buia** – Stazione Zoologica “Anton Dohrn”

Antonio **Dalmiglio** – ARPA Lombardia

Roberto **Danovaro** – CoNISMa – ULR Università Politecnica delle Marche

Albino **Defilippi** – ARPA Piemonte, Dip.to Subprovinciale di Ivrea

Bona **Griselli** – ARPA Piemonte, Dip.to Subprovinciale di Ivrea

Giulio **Izzo** – ENEA

Alberto **Maffiotti** – ARPA Piemonte

Laura **Mancini** - ISS

Giancarlo **Marchetti** – ARPA Umbria

Piero **Rossanigo** – ARPA Piemonte, Dip.to Provinciale di Alessandria





## PRESENTAZIONE

La necessità di sviluppare efficaci strumenti operativi per tutelare e migliorare lo stato ambientale delle risorse idriche è ormai da anni una priorità delle politiche ambientali di tutti i paesi sviluppati e non. Le preoccupazioni per la qualità spesso compromessa di queste risorse fondamentali per la vita degli uomini e delle specie animali e vegetali hanno spinto i legislatori ad elaborare norme più severe di gestione, tutela, risanamento e controllo delle risorse con l'obiettivo di governare il loro uso, garantire ora e nel lungo periodo la disponibilità di acque di buona qualità, frenare e invertire il continuo degrado dello stato di qualità delle acque, circoscrivere l'insorgere di fenomeni di scarsità che generano conflitti tra le comunità umane, prevenire gli oramai frequenti fenomeni di siccità e di inondazioni legati ad un complessivo dissesto idrogeologico.

Queste preoccupazioni hanno prodotto leggi che definiscono obiettivi molto avanzati per le politiche delle acque e indicano criteri e metodologie di azione complessi, costosi ma rispondenti alle conoscenze scientifiche più aggiornate.

Dall'anno 2000 gli Stati della UE sono tenuti all'attuazione della Direttiva 2000/60/CE che fissa il quadro comunitario condiviso della politica delle acque e definisce l'obiettivo generale da raggiungere entro il 2015 per tutte le tipologie di corpi idrici superficiali e sotterranei, naturali e artificiali, per le acque dolci, salmastre o marine. Alcuni Stati membri, tra cui l'Italia con il d.lgs 152/99, si sono dotati di strumenti simili anche in anni precedenti. Di fatto in questo ultimo quinquennio si è assistito ad una accelerazione negli studi, nello sviluppo di nuove metodologie di monitoraggio e controllo, una più adeguata organizzazione territoriale e nuovi criteri di programmazione, gestione e utilizzo delle risorse.

Non tutte le metodologie ritenute necessarie sono sviluppate e standardizzate in modo adeguato e non sempre le strutture tecniche impegnate nelle attività di monitoraggio e controllo dispongono delle conoscenze specialistiche richieste.

Si è reso quindi necessario in questi anni sviluppare, da parte delle Amministrazioni centrali e periferiche e delle istituzioni scientifiche, una ampia gamma di attività di studio, ricerca e formazione per sopperire a quelle carenze.

In questo quadro il Ministero dell'ambiente e per la tutela del territorio, consapevole della necessità di sostenere e orientare questi sforzi di ricerca e sviluppo, ha promosso numerose iniziative tra cui il Progetto "*Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all'applicazione del decreto legislativo 152/99*" come previsto dalla legge 305/89 in attuazione del PTTA in materia di ricerca ambientale. Il Ministero ha assegnato all'APAT il coordinamento e la responsabilità complessiva del Progetto, le cui relazioni conclusive sono presentate nel corso del Convegno finale.

Le ricerche sviluppate dal Progetto non coprono ovviamente tutte le necessità derivanti dall'attuazione delle nuove normative ma danno un significativo contributo su alcuni temi sensibili riferiti alla valutazione della qualità delle acque marino costiere, al contributo dei sedimenti sulla qualità ecologica dei corpi idrici, ai criteri per definire una rete di monitoraggio delle acque sotterranee ancora non adeguatamente monitorate in alcune regioni italiane.

La partecipazione di istituzioni scientifiche, ISS, Istituto A. Dohrn di Napoli, ENEA, università di Pisa, Lecce, Ancona, e agenzie regionali, ARPA Piemonte, Umbria, Lombardia, sia con una attribuzione diretta di specifiche ricerche sia a supporto delle attività direttamente assegnate ad APAT è ampia e significativa in rapporto ai temi affrontati.

I risultati conseguiti e presentati nelle relazioni oggetto del Convegno finale, costituiscono uno stato di avanzamento di ulteriori iniziative e progetti già in campo o di prossima

attuazione e andranno ad alimentare la dotazione strumentale necessaria ad attuare più incisivi ed efficaci programmi di monitoraggio per la definizione dello stato ecologico e chimico dei corpi idrici e per la verifica della efficacia dei programmi di misure di tutela e risanamento delle acque.

Ing Roberto Mussapi

Dipartimento Tutela delle Acque Interne e Marine

## INDICE

	Pag.
<i>Messa a punto e sperimentazione di nuovi sistemi di monitoraggio delle acque sotterranee rivolte all'implementazione applicativa del d.lgs 152/99 (ARPA Umbria)</i>	11
<i>Lo studio della contaminazione dei sedimenti per la valutazione della qualità dei corsi d'acqua (ARPA Piemonte, Dip. Alessandria)</i>	37
<i>Biomonitoraggio delle acque correnti mediante l'impiego di indicatori algali (ARPA Piemonte, Dip. Ivrea)</i>	70
<i>Indagine sui sedimenti e sulle acque del Lago Sirio di Ivrea (ARPA Piemonte)</i>	98
<i>Sperimentazione in ambito locale delle metodologie operative per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque (ARPA Piemonte)</i>	131
<i>Criteri per la caratterizzazione e la classificazione dello stato di alcune tipologie di corpi idrici artificiali (ARPA Lombardia)</i>	168
<i>Analisi dello stato dell'arte degli indicatori biologici su acque lacustri e correnti (ISS)</i>	206
<i>Nuovi indicatori biochimici per la valutazione dello stato trofico degli ecosistemi marini da una prospettiva bentonica (CoNISMa)</i>	235
<i>Identificazione delle biocenosi di maggior pregio ambientali al fine della classificazione delle acque (SZN, Stazione Zoologica 'Anton Dohrn')</i>	268
<i>Identificazione, selezione e realizzazione casi di studio per la definizione di descrittori e scale temporali significative nel monitoraggio di ecosistemi di transizione (Università di Lecce, DiSTeBA)</i>	302
<i>L'uso di sedimenti per la valutazione della qualità delle acque di transizione: correlazione tra test fisici, ecotossicologici e biologici (ENEA, UTS-BIOTEC)</i>	342
<i>Criteri per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque (Università degli Studi di Pisa)</i>	376

Gli allegati richiamati nelle relazioni sono riportati nel CD allegato





## **ACQUE INTERNE**





## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs.152/99**

### **Sottoprogetto 10**

**“Messa a punto e sperimentazione di nuovi sistemi di monitoraggio delle acque sotterranee rivolti all’implementazione applicativa del D.Lgs.152/99”**

**Responsabile scientifico: Dott. Giancarlo Marchetti**



**Autori: Nicoletta Barbagianni, Alfio Burchia, Elisabetta Ciccarelli, Dott.sa Paola Grenni (IRSA-CNR Roma), Nicola Morgantini,. Sonia Renzi, Alessandra Santucci**

**Coordinamento**

Dott. Angiolo Martinelli ARPA Umbria, Dir. Sez. CAP U.O. Tecnica Direzione Generale

Dott. Giuseppe Giuliano IRSA-CNR Roma, Dirigente

Dott. Augusto Morosi ARPA Umbria, Dir. Laboratorio Dipartimento Provinciale di Perugia

**Analisi:** Giovanna Tozzi, Marcello Romagnoli, Claudio Spaccini, Enrica Ballerini, Anna Faffarini

## ABSTRACT

Gli schemi di monitoraggio e classificazione del DLgs.152/99 per le acque sotterranee implicano la disponibilità di procedure e di metodologie analitiche standardizzate aventi sul territorio una sufficiente omogeneità di rilevamento, soprattutto per i parametri addizionali, al fine di garantire condizioni di confrontabilità dei risultati a livello nazionale.

Il numero dei parametri addizionali e la variabilità degli ambienti di monitoraggio rendono difficile tale comparazione e non esistono indicatori di tipo biologico per i corpi idrici sotterranei. L'attività realizzata si proponeva di valutarne l'operatività e l'applicabilità quali parametri sintetici di valutazione, uno della componente biologica, non presente nella normativa vigente sulle acque sotterranee, l'altro di ridurre il numero dei parametri di osservazione del DLgs. 152/99.

La metodologia testata per l'indicatore sulla bioluminescenza ha evidenziato l'assenza di correlazione tra dato luminometrico e dato microbiologico: essa può essere spiegata tenendo conto sia dall'aspecificità che caratterizza la misura dell'ATP, sia delle caratteristiche dei metodi colturali.

Infatti il metodo bioluminometrico rileva una risposta biologica complessiva mentre i metodi colturali, anche quelli meno selettivi, come quelli utilizzati per la carica a 37° e 22°C, permettono di evidenziare non tutti i microrganismi presenti, ma solo quelli per i quali le condizioni ambientali da noi selezionate (temperatura, composizione terreno, tempi di incubazione ecc...) risultano ottimali.

Sulle situazioni idrogeologiche studiate il metodo ha comunque evidenziato una buona capacità di distinguere situazioni spazialmente e temporalmente diversificate quanto a contenuto batterico nelle acque: cosa che consente di proporlo, previo test pilota specifici, come strumento di caratterizzazione dello stato ambientale delle falde per i parametri microbiologici.

Il metodo della bioluminometria applicato nel monitoraggio degli acquiferi è risultato di facile utilizzo, applicabile anche sul campo, con opportuni accorgimenti, dai costi e tempi contenuti. Sicuramente è necessario considerare uno sviluppo normativo che preveda indicatori biologici per le acque sotterranee, procedere allo sviluppo di questa proposta applicativa o di altre che potranno essere sviluppate dalla comunità scientifica nazionale.

La metodologia testata per l'indicatore sulla risposta complessiva dei composti clorurati assorbibili (AOX) ha messo in evidenza una sua facilità di utilizzo in laboratorio, mentre per l'applicazione in campo, con un laboratorio mobile, i problemi riguardano il quantitativo e la conservazione di vetreria pulita e la presenza/uso di eventuali solventi per altri tipi di analisi.

I tempi di analisi, variabili in funzione delle soglie analitiche richieste, sono buoni rispetto al ventaglio di classi di sostanze indagate, che se analizzate separatamente in laboratorio avrebbero tempi molto più lunghi e costi non confrontabili.

I limiti di rilevabilità misurati sono risultati più alti di quelli dichiarati e richiedono ulteriori verifiche ed affinamento del metodo per un'applicazione collegata all'attuale limite normativo per i Composti alifatici alogenati.

Sicuramente il metodo può essere utilizzato per la definizione di aree con contaminazioni piuttosto marcate e dare quindi indicazioni della portata dell'inquinamento, risulta però poco riproducibile per l'individuazione di concentrazioni basse di analiti, ed in particolare non può essere significativo per il controllo di prodotti fitosanitari di tipo clorurato. La sua applicazione nel monitoraggio può essere valida a scala di rete regionale, o di reti locali, per le zone dove si hanno fenomeni contaminanti diffusi o si possono attendere nuovi eventi inquinanti da zone industriali e civili.

## INTRODUZIONE

Il DLgs. 152/99 fornisce i criteri per il rilevamento delle caratteristiche quali-quantitative delle acque sotterranee e per la classificazione del loro stato ambientale.

Per quanto riguarda lo stato chimico è prevista la determinazione di 7 parametri di base (Tab. 20, Allegato 1 del DLgs 152) e di un certo numero di parametri addizionali (Tab. 21, Allegato 1 del DLgs. 152) da individuare sulla base della situazione di vulnerabilità della risorsa, dell'uso del suolo, delle attività presenti sul territorio afferente e delle caratteristiche degli ecosistemi connessi e/o di particolari condizioni ambientali.

Tale approccio metodologico ha caratteristiche di ampia generalità e trova la sua base concettuale in due riferimenti classificatori, ambedue connessi all'uso potabile della risorsa sotterranea.

In particolare la classificazione della qualità di base deriva direttamente dalla nota proposta avanzata già nel 1993, congiuntamente dall'IRSA- CNR e dal GNDCI (Gruppo Nazionale per la Difesa dalle Catastrofi Idrogeologiche), e sperimentata con successo in numerose ambientazioni idrogeologiche e situazioni territoriali rappresentative a livello nazionale .

Per la classificazione legata ai parametri addizionali il valore soglia indicato è relazionato alle normative dell'uso potabile (DLgs. 31/01 e adeguamento della direttiva comunitaria 98/93/CE del Consiglio della Comunità Europea).

Gli schemi di monitoraggio e classificazione del DLgs.152/99 implicano da un lato la disponibilità di procedure e di metodologie analitiche standardizzate e dall'altro di una sufficiente omogeneità di rilevamento, soprattutto per i parametri addizionali, al fine di garantire condizioni di confrontabilità dei risultati a livello nazionale.

In tale ambito rilevanti sono gli aspetti relativi all'impegno operativo di campo e di laboratorio ed alle risorse finanziarie necessarie al conseguimento dei risultati di monitoraggio e classificazione.

Pertanto in prospettiva si dovrebbe tendere ad una qualche semplificazione/omogenizzazione delle procedure operative relative alla sezione dei parametri addizionali che consenta di ottimizzare da parte delle autorità competenti l'impiego delle risorse umane e finanziarie.

Un'analisi delle tendenze evolutive delle modalità di monitoraggio dei corpi idrici sotterranei evidenzia alcune caratteristiche:

- esiste la necessità di monitorare un numero sempre maggiore di sostanze chimiche di sintesi introdotte nell'ambiente sotterraneo e che si diffondono nei corpi idrici;
- le concentrazioni che si andranno a rilevare saranno sempre più basse in relazione a standards più restrittivi;
- dovrà essere esaminata più a fondo la componente biologica e quella tossicologica.

Al conseguimento degli obiettivi di una migliore efficienza delle azioni di monitoraggio e della confrontabilità dei risultati di classificazione contributi significativi possono essere forniti da:

- la messa a punto di sistemi di monitoraggio rivolti alla determinazione di parametri sintetici, rappresentativi di gruppi di sostanze piuttosto che di singoli composti;
- l'uso di metodologie integrate per gli aspetti chimico-fisico, biologico e tossicologico;
- lo sviluppo di metodologie e procedure ottimizzate di campo e di laboratorio.

## **OBIETTIVI**

Obiettivo generale del progetto proposto è la sperimentazione, di laboratorio e di campo, di procedure e metodologie per la determinazione di parametri/indicatori globali o complessivi di tipo chimico-organico in relazione all'applicazione del DLgs 152/99.

I gruppi di sostanze che vengono presi in considerazione da siffatti parametri/indicatori sono riconducibili alla Tabella 21 del suddetto decreto.

L'utilizzazione nelle attività di monitoraggio di particolari parametri/indicatori complessivi, relativi a determinati gruppi di sostanze o ad effetti sinergici della contaminazione delle acque sotterranee, consentirebbe di graduare e modulare gli impegni analitici in funzione della reale presenza degli inquinanti e della rilevanza degli effetti dannosi ad essi imputabili.

In particolare i parametri/indicatori di gruppo e/o di effetto sono applicabili a livello di screening analitico, rimandando l'esecuzione delle specifiche determinazioni delle diverse sostanze afferenti a una loro risposta positiva o dubbia.

La determinazione di questi parametri/indicatori complessivi è valida anche a livello di laboratorio, ma trova la sua validità principale soprattutto sul terreno, in quanto consentirebbe anche una gestione efficace delle fasi di campionamento, pre-concentrazione dei campioni e loro conservazione.

La possibilità di misurare in campo tali parametri/indicatori è legata alla disponibilità di apparati strumentali idonei ad essere trasportati (laboratorio mobile), di facile utilizzazione e con impegno finanziario contenuto.

Eventuali risultati positivi del progetto, relativi all'utilizzabilità di parametri/indicatori complessivi possono rappresentare un'alternativa procedurale ai criteri di monitoraggio e classificazione previsti dal Dlgs. 152 (caratterizzata da una sensibile semplificazione delle operazioni e relativa riduzione dei costi) da inserire nelle modalità tecniche attuative.

Gli obiettivi specifici del progetto sono:

- Ottimizzazione delle procedure di campionamento e misura sul terreno con l'ausilio di strumenti di screening in grado di indirizzare la parte analitica di laboratorio.
- Riduzione degli impegni analitici di routine di laboratorio a vantaggio di determinazioni specifiche.
- Riduzione dei costi di esecuzione del monitoraggio dello stato ecologico dei corpi idrici sotterranei senza perdita del dettaglio di informazioni.
- Omogenizzazione e semplificazione del monitoraggio per quanto riguarda i parametri addizionali.



## MATERIALI E METODI

La possibilità di misurare in campo dei parametri/indicatori è legata alla disponibilità di apparati strumentali idonei ad essere trasportati (laboratorio mobile), di facile utilizzazione e con impegno finanziario contenuto.

Per la determinazione di siffatti parametri/indicatori è necessario:

- Individuare i gruppi di sostanze contaminanti, significativi per il monitoraggio alla luce dei criteri generali esposti nel DLgs. 152, che possano essere oggetto di una valutazione complessiva o globale;
- Valutare le condizioni di determinazione di tali parametri indicatori per via strumentale in campo e in laboratorio tenendo conto delle problematiche di rilevabilità e riproducibilità;
- Esaminare criticamente dal punto di vista tecnico economico le offerte di strumentazione a livello industriale e l'opportunità di finalizzarne l'uso agli scopi del progetto;
- Sviluppare protocolli di base valutandone le caratteristiche di risposta analitica;
- Sperimentare a scala di laboratorio le determinazioni analitiche dei parametri indicatori;
- Confrontare i risultati analitici ottenibili mediante l'uso di parametri/indicatori con quelli ottenibili con le metodologie tradizionali;
- Sviluppare metodologie standardizzate applicabili in laboratorio e/o sul campo (laboratorio mobile);
- Applicare in condizione di monitoraggio operativo, su una rete di monitoraggio regionale, i parametri indicatori sperimentati in laboratorio.

Una prima indicazione delle possibilità di applicazione dei parametri/indicatori complessivi riguarda le seguenti determinazioni:

- Determinazione della carica batterica delle acque mediante tecniche di valutazione globale del contenuto di microrganismi presenti nelle acque (bioluminescenza) con applicazione sul campo e confronto con i metodi tradizionali.
- Analisi del TOX, cui rispondono composti quali i solventi organoclorurati e organobromurati, i PCB, gli insetticidi e fungicidi organoclorurati.

I due parametri globali aspecifici individuati per la sperimentazione si relazionano a situazioni di degrado qualitativo originate dalla presenza di contaminanti diversificati di rilevante importanza dal punto di vista tossicologico igienico, ma, comunque, di complessa determinazione individuale.

In particolare un parametro affronta la problematica dei cloroderivati organici sintetici; l'altro vuole contribuire ad ottenere informazioni rapide sulla contaminazione microbica, indicatore di suscettibilità delle falde acquifere.

### *I Composti organici cloroderivati.*

A fronte delle caratteristiche negative dal punto di vista ambientale dei comparti cloroderivati organici (scarsa biodegradabilità, liposolubilità, tossicità) e dalla pericolosità per l'uomo (mutagenicità, cancerogenicità) esistono difficoltà di determinazione specifica dei singoli composti connesse a tecniche d'indagine specifiche, complesse e costose.

Come noto anche con l'impegno di raffinate tecniche analitiche, come la GC accoppiata alla MS, o sistemi GC-F TIR e HPLC è possibile la determinazione solo di una parte delle numerose sostanze del genere in argomento.

In particolare, la tecnologia attuale consente, di dosare i composti che possono essere vaporizzati senza decomposizione. Per altri composti non vaporizzabili non esiste attualmente una specifica strumentazione che faccia fronte alla bisogna.

Nessuna delle metodiche di rilevazione finora applicabili (tranne l'attivazione a neutroni, la quale per altro richiede una strumentazione molto sofisticata) risponde in maniera uniforme a tutti i composti organici alogenati.

Inoltre, a causa della grande varietà dei composti presenti da determinare, la loro determinazione quali-quantitativa diviene comunque il collo di bottiglia dell'analisi.

Data l'estrema difficoltà, o addirittura l'impossibilità, di determinare tutti singoli individui alogenati, si cerca di quantizzare queste sostanze attraverso la determinazione degli alogeni liberati dalla loro distruzione ossidativa, introducendo parametri globali e aspecifici quali: AOX (Alogeni Organici Adsorbibili su carbone), POX (Alogeni purgabili) ed EOX (Alogeni Organici estraibili con solvente).

Ad esempio in Olanda, il KIWA (Ente nazionale di ricerca nel campo delle acque) ha recentemente messo a punto una metodica riguardante l'analisi dei composti organici alogenati adsorbibili (AOX) su carbone attivo come parametro di indagine dello stato di purezza delle acque.

Anche l'ISO (International Organization for Standardisation), sulla base di quanto è già stato fatto in questo campo da alcuni paesi, ha pubblicato, in attesa della versione definitiva del metodo ISO stesso, una bozza (ISOP-9562) per la misura degli alogeno-derivati organici.

L'Unione Europea (EU) ha riconosciuto l'importanza, in particolare degli AOX, nell'ambito della prevenzione dell'inquinamento ambientale. Tuttavia in Europa la legislazione che riguarda l'ambiente varia ancora da paese a paese, anche se le intenzioni sono o dovrebbero essere le stesse.

Dato il grande numero di fonti industriali e civili degli scarichi e l'innumerabile molteplicità dei prodotti organo alogenati presenti negli scarichi stessi, l'uso di parametri globali aspecifici che, mediante una strumentazione non particolarmente sofisticata, rappresenta una modalità estremamente valida per rappresentare a livello di screening l'inquinamento chimico dell'ambiente.

A seconda della procedura adottata per estrarre questi composti dalle acque, i TOX ( Total Organic Xhalogen) sono considerati come somma di composti organici assorbibili (AOX), strippabili (POX), ed estraibili con solvente (EOX).

Agli AOX appartengono composti non particolarmente volatili come i PCBs gli insetticidi organoclorurati, gli idrocarburi clorurati pesanti, ecc. , mentre per i POX ricordiamo i trialometani ed i clorobenzeni.

Il parametro AOX è definito come la quantità di composti organici (O) alogenati (X = Cl, Br, I) adsorbibili (A) su carboni attivi. Tutti gli AOX misurati sono espressi come quantità di cloruri.

Questo è un parametro che è definito con il metodo in cui è stato determinato e perciò la sua espressione è una convenzione analitica.

Il metodo è stato sviluppato per il controllo della qualità delle acque, e usato come test sulle acque potabili. Esso rappresenta la quantità di sostanze organiche legate con cloro, bromo, e iodio (non il fluoro per motivi di maggiore polarità) che sono adsorbite su carbone attivo.

Questo metodo è utile come screening per l'evidenziazione di un eventuale inquinamento anche se non risulta utilizzabile per una eventuale classificazione della tipologia della molecola inquinante, infatti non discrimina tra le diverse molecole che possono dare un risultato positivo.

Le molecole che vengono meglio adsorbite sono quelle a bassa polarità come ad esempio:

solventi organoclorurati, i policlorobifenili, gli insetticidi, ed i fungicidi organoclorurati (clorofenolo, acido benzoico, tricloroetilene, alaclor, 4-cloronitrobenzene, 1,2-dicloroetano, esaclorocicloesano, 4-bromofenolo, esaclorobenzene, pentaclorofenolo, 3-cloronitrobenzene, 1,2-dicloroetano, dicloroetene, tetraclorometano, tricloroetano, atrazina). Le molecole polari avendo poca affinità con il carbone attivo non vengono dosate quantitativamente; tra queste ricordiamo l'acido clorosuccinico, il cloroetano ecc.

#### Materiali e metodo.

E' stato testato il Kit Dr. Lange LCK 391.

Il principio del metodo si basa sul fatto che i composti organici alogenati disciolti nelle acque sono adsorbiti dal carbonio attivo per le loro caratteristiche idrofobiche. Il carbone adsorbito viene poi incenerito in presenza di ossigeno. Gli alogeni derivanti dai legami con i composti organici sono letti come alogeni liberi. Gli alogeni liberi prodotti reagiscono in cuvetta sviluppando una colorazione che è letta fotometricamente a 468 nm.

La concentrazione di AOX è espressa in  $\mu\text{g/l}$  di cloruri poiché la maggior parte di molecole organiche alogenate ha come legante il cloro.

#### Applicazione.

Il metodo è applicabile ad acque reflue e di controllo di industrie galvaniche, acque potabili e acque superficiali.

Intervallo di misura (riportato dal metodo).

40 ml di campione : 50-500  $\mu\text{g/l}$  AOX (200-2000  $\mu\text{g/l}$  come 2-clorofenolo; 58-585  $\mu\text{g/l}$  come tetracloroetilene )

300 ml di campione : 5-70  $\mu\text{g/l}$  di AOX (20-280  $\mu\text{g/l}$  come 2-clorofenolo; 6-82  $\mu\text{g/l}$  come tetracloroetilene )

In laboratorio non siamo riusciti a scendere al di sotto di 15  $\mu\text{g/l}$  di cloruri per le letture del bianco.

#### Interferenze

La determinazione è influenzata da alti contenuti di COD e Cloruri del campione. Le concentrazioni seguenti sono interferenti sull'analisi degli AOX

Volume di campione	Cloruri	COD
40 ml	3000 mg/l	1000 mg/l
300 ml	1000 mg/l	100 mg/l

Se una alta concentrazione di COD provoca una sottostima dei risultati poiché si instaura una competizione tra tutte le molecole organiche adsorbibili, dall'altra parte una elevata concentrazione di cloruri può portare ad una sovrastima nella determinazione colorimetrica finale.

Quando il campione contiene concentrazioni superiori ai valori riportati in tabella è necessario procedere con diluizioni.

Altri tipi di problemi si hanno quando il contenuto di composti organici volatili clorurati è superiore al 25% in quanto si ha comunque una perdita; in effetti in questo caso i POX vanno determinati con il metodo dello spazio di testa.

Particolare attenzione va rivolta all'inquinamento ambientale e alla pulizia della vetreria.

## Procedimento

Il procedimento può essere riassunto in 4 punti:

- 1- Arricchimento su carbone attivo;
- 2 -espulsione degli alogeni inorganici per mezzo del lavaggio della compressa adsorbente;
- 3- mineralizzazione per mezzo dell'incenerimento (o digestione chimica a secco)della compressa di carbone attivo;
- 4- misura colorimetrica dei cloruri prodotti dalla mineralizzazione.

### 1. Arricchimento della compressa di carbone attivo

si misura la quantità di acqua, per 300 ml si usa la beuta, per 40 ml si usa il provettone, si inserisce il magnete, la compressa di carbone attivo dopo aver regolato il pH tra 2 e 3 con la soluzione A contenuta nel Kit e si lascia arricchire sotto agitazione per 30 minuti.

### 2. Espulsione degli alogeni inorganici per mezzo del lavaggio della compressa adsorbente:

si lava accuratamente il filtro di carbone attivo per eliminare i cloruri inorganici presenti. Questo passaggio risulta piuttosto critico, in effetti un campione che contiene una elevata concentrazione di cloruri può dare dei risultati sovrastimati.

### 3. Mineralizzazione per mezzo dell'incenerimento:

si tratta della digestione del disco di carbone attivo per combustione in presenza di ossigeno. Prima di posizionare il carbodisk, si aggiungono nel camino 2 ml della soluzione B, si chiude il sistema (Powerlyser) e si porta al microonde 1 minuto a 900W.

Una buona riuscita dell'incenerimento del Carbodisk si ha quando è totalmente asciutto, pertanto è necessario lasciarlo asciugare per non meno di 2 minuti.

### 4. Misura colorimetrica dei cloruri prodotti dalla mineralizzazione:

Si utilizza il test in cuvetta, si legge l'assorbanza e si calcola la concentrazione di cloruri prodotta; una aliquota dello stesso campione analoga alla prima viene trattata ripartendo dal punto 1.

Il risultato finale è la somma dei due risultati parziali.

I criteri adottati per la scelta delle aree da considerare sono stati i seguenti: zone già note per casi pregressi di contaminazione, reperti analitici che comprovassero la tipologia e l'entità delle contaminazioni esistenti, possibilità di un adeguato supporto logistico per la fase relativa al campionamento. In base a questi presupposti sono stati individuati tre ambiti idrogeologici di pianura ove si hanno contaminazioni di tipo industriale su acquiferi ad uso potabile (Città di Castello, Perugia-S.Sisto-Balanzano e Marsciano), per un totale di 34 campioni. I prelievi hanno riguardato sia pozzi distribuiti nell'area di studio con prelievi effettuati con pompe, sia profili verticali di distribuzione degli inquinanti (campionamenti a diverse profondità).

Per evidenziare gli andamenti verticali degli inquinanti, il campionamento è stato condotto immergendo in falda un campionatore Bailer in polietilene da 90 cm x 38 mm D.I. e prelevando a diverse profondità in condizioni piezometriche statiche.

I campioni sono stati prelevati in bottiglie di vetro scuro con tappo smeriglio, refrigerati e immediatamente portati in laboratorio per l'esecuzione dell'analisi.

### *La contaminazione microbica delle falde.*

Riguardo alla contaminazione microbica, nuovi metodi di determinazione rapida stanno emergendo nella moderna microbiologia e stanno incontrando il giudizio favorevole degli Enti regolatori sempre alla ricerca di alternative ai metodi tradizionali che causano costosi ritardi nell'ottenimento dei risultati analitici. Particolare attenzione a tali procedure è data dall'industria alimentare e farmaceutica, da quella cosmetica e da quella microelettronica.

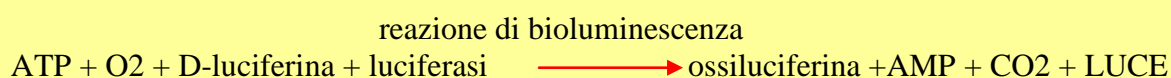
In particolare la tecnologia bioluminescente dell'ATP (Adenosine Triphosphate) è un metodo di determinazione rapida della carica microbica che può soddisfare la richiesta di sensibilità e di economicità.

Gli studi storici indicano che l'energia rilasciata sotto forma di luce in presenza di ATP è proporzionale alla qualità di ATP e proporzionale alla conta cellulare.

L'uso di questo indice potrebbe portare anch'esso un contributo alla semplificazione delle valutazioni di screening del livello di contaminazione delle acque sotterranee.

L'ATP è una molecola presente in tutte le cellule metabolicamente attive, sia di origine procariotica che eucariotica, in quanto fornisce l'energia necessaria per le diverse attività cellulari, può essere utilizzata quindi come indicatore del numero di cellule vitali presenti in una determinata matrice.

La determinazione dell'ATP, presente nelle cellule batteriche, è stata eseguita con il metodo bioluminometrico. Tale tecnica analica permette di rilevare la luminescenza emessa durante la reazione di idrolisi dell'ATP in presenza della luciferina e dell'enzima luciferasi di lucciola.



La quantità di luce prodotta da questa reazione enzimatica è direttamente proporzionale alla quantità di ATP presente nel campione ed è misurata con un apposito luminometro.

La bioluminometria trova applicazione prevalentemente nel controllo di qualità nell'industria alimentare, farmaceutica e cosmetica, nel monitoraggio dell'igiene degli impianti e della qualità delle materie prime. E' stato proposto un metodo APAT IRSA-CNR Man 29/03 (9030), che prevede la determinazione dell'ATP ai fini della valutazione della biomassa totale in ambienti acquatici.

I materiali e la strumentazione utilizzati per l'esecuzione del metodo bioluminometrico sono riportati in maniera dettagliata nell'elenco sotto:

- Luminometro (Pallchek-PALL)
- Funnel sterili da 0.45µm
- Reagenti per estrazione ATP
- Complesso enzimatico luciferina/luciferasi
- Soluzione di riferimento di ATP
- Pipette con volume regolabile
- Materiale monouso sterile: puntali-spatole-supporti-vials-pinzette-provette-guanti
- Frigorifero (2-8°C)
- Acqua distillata sterile
- Pompa e beuta da vuoto
- Bottiglie sterili



L'applicazione di tale metodologia ha previsto l'esecuzione di controlli di qualità preliminari del luminometro e dei reattivi, mediante l'utilizzo di ATP standard e di acqua distillata sterile come controllo negativo.

Si è proceduto quindi alla filtrazione di un'aliquota ( 500ml) dei campioni raccolti su funnel sterili da 0,45µm. Sulle membrane prelevate con pinzette sterili e posizionate sull'apposita piastra con supporto dello strumento, è stato aggiunto un liquido di estrazione, che lisando le membrane cellulari libera l'ATP intracellulare.

Dopo alcuni secondi sono stati aggiunti la D-luciferina e l'enzima luciferasi e si è proceduto rapidamente alla misurazione dell'emissione luminosa in RLU (Unità di Luminescenza Relative). Al valore del campione è stato sottratto quello del bianco misurato nelle stesse condizioni, ma utilizzando acqua distillata sterile.

I dati analitici ottenuti sono stati registrati su apposita scheda di campo, che raccoglieva anche tutte le informazioni necessarie per l'identificazione dei campioni esaminati.

#### *Metodi microbiologici*

Un'aliquota dei campioni prelevati per la misura dell'ATP, è stata trasportata in laboratorio al buio a 4-10°C ed utilizzata immediatamente per l'esecuzione delle analisi microbiologiche.

I parametri ricercati, attraverso l'esame colturale, sono stati: la Carica microbica a 37°C e 22°C, i Coliformi totali e fecali, gli Enterococchi. Nei campioni prelevati nel 2005 è stata eseguita anche la ricerca di *Escherichia coli*.

I metodi di riferimento impiegati (Rapporti ISTISAN, APAT IRSA-CNR, UNI EN ISO) sono stati quelli normalmente utilizzati dal laboratorio per il controllo microbiologico delle acque profonde, ed hanno previsto la determinazione delle cariche a 37°C e 22°C, mediante la tecnica di semina per inclusione su agar, e quella dei microrganismi indicatori con i metodi delle membrane filtranti (MF) e dei tubi multipli (MPN).

I dati analitici ottenuti sono stati correlati con i valori di RLU rilevati per gli stessi campioni ed elaborati in modo da evidenziare informazioni importanti al fine della valutazione dell'idoneità del metodo bioluminometrico come metodo microbiologico di screening.

Nel corso della prima fase del progetto, attivata nel 2003, è stato avviato lo studio per sviluppare e verificare la possibilità di utilizzare indici di contaminazione microbiologica per la sorveglianza attiva del rischio d'inquinamento degli acquiferi.

Sono stati effettuati 24 prelievi presso pozzi presenti nel Territorio della Conca Eugubina (CEU) e della Media Valle del Tevere (MVT), appartenenti alla rete regionale di monitoraggio ai sensi del DLgs. 152/99 e successive modifiche, mediante l'uso del laboratorio mobile ARPA, appositamente concepito per l'ottimizzazione delle attività di terreno, in ambito Progetto Interregionale PRISMAS del Ministero dell'ambiente.

Su questi campioni si è proceduto alla misurazione in campo, all'interno del laboratorio mobile, della molecola di ATP con un apposito strumento (bioluminometro BioProbe della Pall), capace di rilevare la luminescenza dopo reazione con luciferina e luciferasi. Più precisamente, sono stati concentrati, mediante filtrazione, 500 ml di campione su funnels sterili da 0.45 µm; sui filtri prelevati è stato aggiunto un liquido di estrazione che lisando le membrane cellulari libera l'ATP in esse contenuto; dopo alcuni secondi sono stati aggiunti la D-luciferina e l'enzima luciferasi e si è proceduto rapidamente all'inserimento dei filtri nel bioluminometro e alla misura della luminescenza dell'ATP espressa in unità RLU (relative light units). Al valore del campione è stato sottratto quello del bianco misurato nelle medesime condizioni, ma utilizzando acqua bi-distillata sterile.



Fig. 1- Il Laboratorio mobile utilizzato ed il banco di lavoro interno

I campioni sono stati raccolti in contenitori sterili, tutte le operazioni sono state effettuate utilizzando materiale sterile monouso mentre i materiali metallici sono stati sempre flambati prima del loro utilizzo.

Sono stati effettuati, inoltre, prelievi in doppio, per ripetere in laboratorio le misure luminometriche e per determinare, con le consuete metodiche microbiologiche (Rapporti ISTISAN 97/8 –1997), la carica batterica a 37°C e a 22°C, i coliformi totali, i coliformi fecali e gli streptococchi fecali.

La seconda fase operativa 2005 del progetto si è sviluppata nella primavera 2005 e l'attività ha interessato gran parte degli stessi punti del 2003, con una riduzione di campioni in Conca Eugubina ed un aumento in Media Valle del Tevere.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Il metodo bioluminometrico, utilizzato per la determinazione dell'ATP, è risultato dal punto di vista operativo di facile esecuzione ed applicabile anche in campo, anche se qualche difficoltà è stata incontrata nel mantenere le condizioni ambientali il più vicino possibile a quelle di Laboratorio. Il mezzo mobile deve risultare fornito di un frigorifero a 2-8°C per la conservazione dei reattivi e di un piano di appoggio che possa essere sottoposto a pulizia/disinfezione.

La strumentazione impiegata non è ingombrante, è facilmente trasportabile e può essere alimentata anche a batteria.

Il metodo è risultato molto rapido infatti, il tempo di analisi richiesto per l'applicazione dell'intero procedimento analitico (dal prelievo alla lettura) è di circa 30 minuti a campione. I dati relativi alle misure dell'ATP e alle concentrazioni dei diversi parametri microbiologici, raccolti durante la sperimentazione, sono riportati nell'allegato tecnico specifico.

I risultati ottenuti dalla loro comparazione evidenziano che i valori di luminosità (RLU) ottenuti per le acque sotterranee controllate con il metodo bioluminometrico, non sono risultati correlabili in maniera significativa, né con le conte dei batteri mesofili e termofili (Fig.2), né con le concentrazioni dei microrganismi indicatori quali i Coliformi totali e fecali (Fig.3), gli Enterococchi e E. coli (Fig.4).

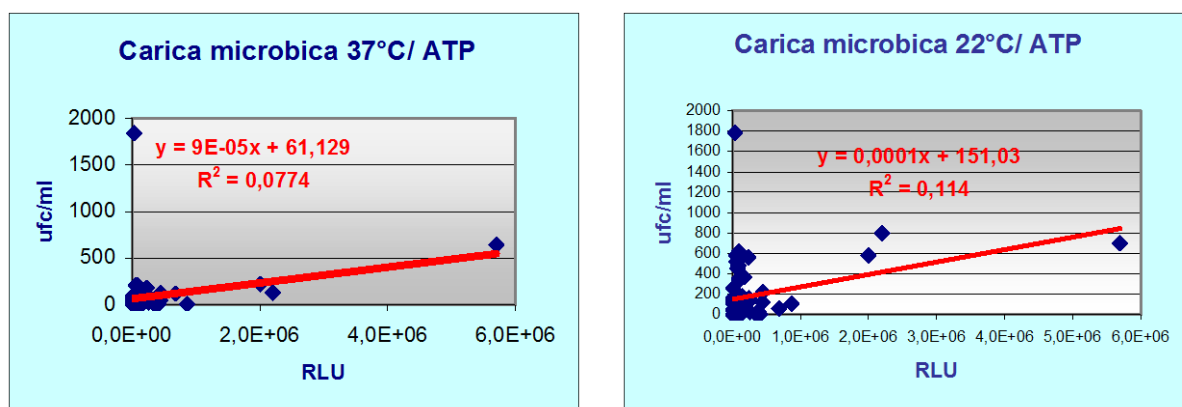


Fig. 2- Grafici di correlazione fra le concentrazioni della carica microbica a 37°C e 22°C (UFC/ml) e i valori di ATP (RLU). Dati relativi a 64 campioni

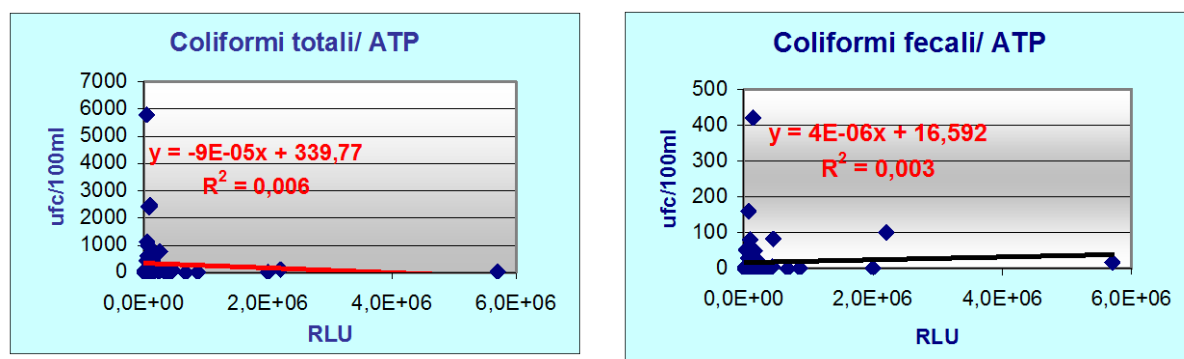


Fig. 3- Grafici di correlazione fra le concentrazioni dei Coliformi totali e fecali (UFC/ml) e i valori di ATP (RLU). Dati relativi a 61 campioni



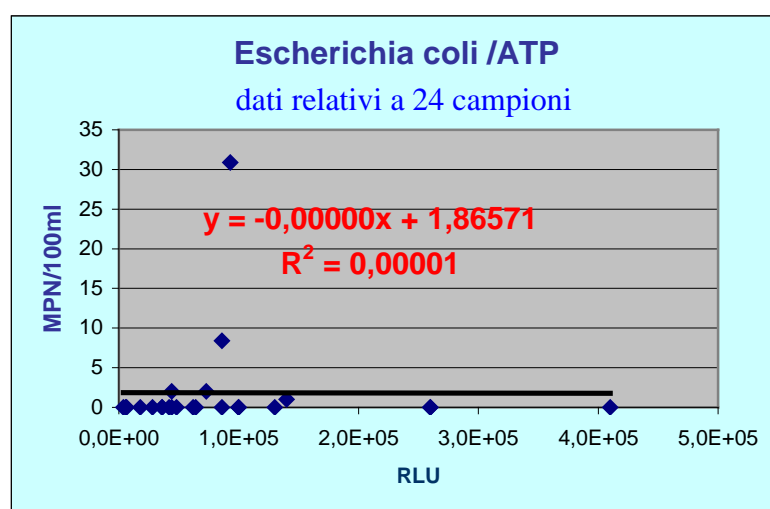
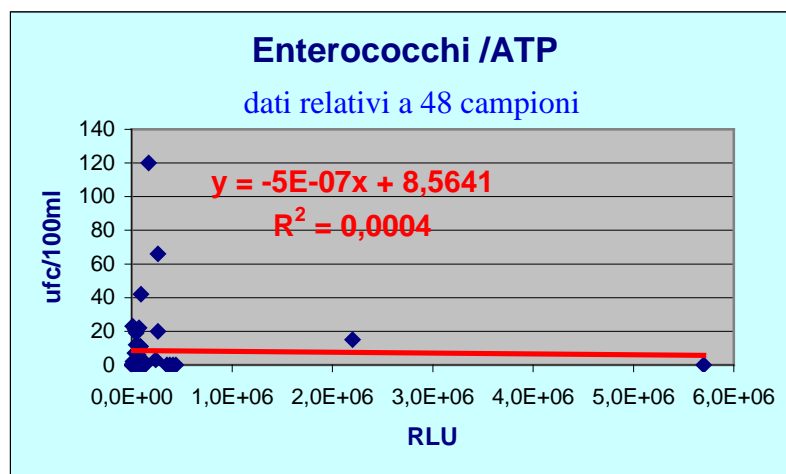


Fig. 4- Grafici di correlazione fra le concentrazioni degli Enterococchi (ufc/ml) e E. coli (MPN/ml) e i valori di ATP (RLU).

L'assenza di correlazione può essere spiegata tenendo conto sia dall' aspecificità che caratterizza la misura dell' ATP, sia delle caratteristiche dei metodi colturali. Infatti il metodo bioluminometrico rileva una risposta biologica complessiva mentre i metodi colturali , anche quelli meno selettivi, come quelli utilizzati per la carica a 37° e 22°C, permettono di evidenziare non tutti i microrganismi presenti, ma solo quelli per i quali le condizioni ambientali da noi selezionate (temperatura, composizione terreno, tempi di incubazione ecc...) risultano ottimali.

Nell'interpretazione di tali risultati c'è da tener presente inoltre, che il contenuto di ATP estratto, risulta dipendente non solo dalla concentrazione numerica della microflora della matrice acquosa, ma anche dalla sua diversa composizione. I parametri microbiologici (CB 37°,CB22°,CT,CF), correlati con i valori di RLU, rappresentano infatti, gruppi eterogenei di microrganismi aerobi, costituiti da diverse specie con differenti capacità metaboliche. Questo contribuisce a spiegare i diversi casi, riscontrati durante tale sperimentazione, in cui a valori luminometrici dello stesso ordine di grandezza sono corrisposte ampie oscillazioni dei conteggi delle cariche microbiche. Nel grafico di Fig. 5 si può osservare, come ai 14 valori di RLU dell'ordine di  $10^4$ , relativi ai 24 pozzi monitorati nel 2005, risultano associati valori che oscillano da 1 a 1840 UFC per la carica a 37°C e da 6 a 1780 UFC per quella a 22°C.

Fluttuazioni di tale ordine sono state osservate anche per i dati raccolti durante le altre campagne di prelievo.

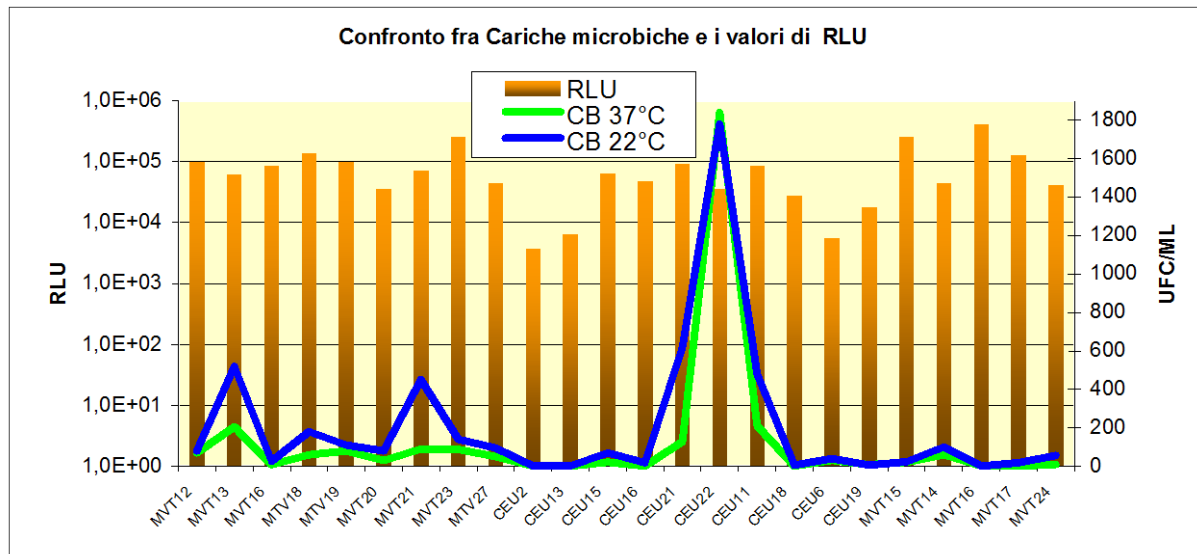


Fig. 5- Confronto fra le concentrazioni della Carica microbica a 37°C e 22°C (ufc/ml) e i valori di ATP (RLU).

L'assenza di una correlazione statisticamente significativa non ha permesso pertanto di individuare, nell'ambito di tale studio, valori di luminescenza (RLU) ai quali possano essere associate concentrazioni microbiche ben definite, utilizzabili per discriminare il grado di contaminazione degli acquiferi e individuare situazioni di rischio.

Durante la sperimentazione 24 campioni di acque sotterranee, prelevati nel corso del 2003, sono stati analizzati con il metodo bioluminometrico in doppio, in campo e in laboratorio. I grafici riportati in Fig.6 evidenziano per alcuni campioni delle differenze consistenti di lettura, che a macroscale non danno una correlazione significativa fra le due serie di dati luminometrici ottenuti, anche se nel 60% dei casi i valori sono risultati dello stesso ordine di grandezza (Fig.6 ). Tale dato può essere compatibile con il fatto che fra le determinazioni effettuate in campo e quelle in laboratorio intercorrevano mediamente 3-4 ore.

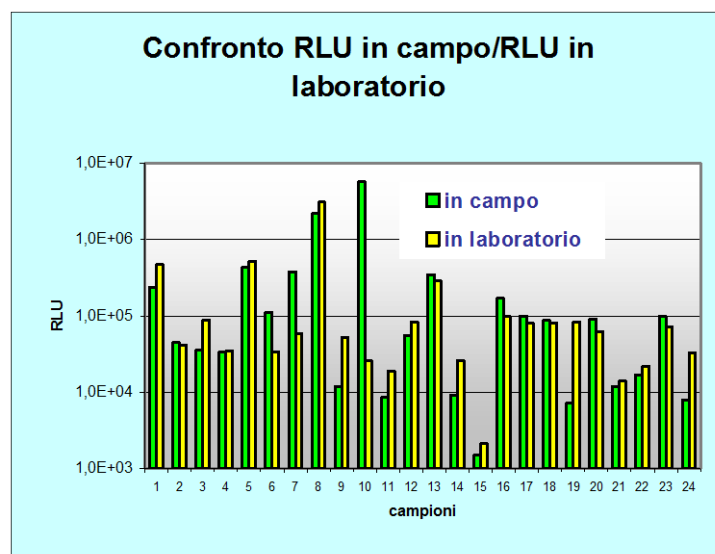


Fig. 6 - Grafici relativi alle misure luminometriche eseguite in doppio in campo e in laboratorio.

L'elaborazione dei dati sperimentali ha permesso di ottenere, oltre ad informazioni sulla correlazione del metodo bioluminometrico con i parametri microbiologici tradizionali, alcune utili indicazioni che potranno essere sviluppate ed approfondite da tutti coloro che volessero comunque applicare tale metodo nel controllo delle acque.

Una prima indicazione è riferita al "livello di background" individuato analizzando con il metodo bioluminometrico vari campioni di acqua sterile, nelle stesse condizioni operative dei campioni esaminati. In base alla nostra esperienza (Fig. 7) tale livello è risultato significativo fissarlo per le misure in campo a < 1000 RLU, infatti, i valori medi ottenuti per i controlli negativi nelle tre campagne di prelievo oscillano da 320 a 960 RLU. Tale valore è piuttosto elevato, in quanto risente di tutte quelle interferenze ambientali come la contaminazione delle superfici e dell'aria, che in campo risultano più difficili da tenere sotto controllo rispetto al laboratorio. Il valore medio per l'acqua sterile, ottenuto in laboratorio, è risultato pari a 300 RLU.

Inoltre, come si può osservare nel grafico di Fig. 7, tutti i campioni analizzati hanno presentato un valore di RLU mediamente superiore di due ordini di grandezza rispetto al valore di background e quindi si possono considerare significativi.

Per un solo campione, contenente abbondante materiale terroso, si è registrato un valore di RLU inferiore a quello del controllo, a causa dell'assorbimento della luminescenza emessa da parte delle particelle solide presenti. Tale valore è stato pertanto escluso dall'elaborazione dati.

Nello stesso grafico (Fig. 7), è possibile osservare che tutti i valori di bioluminescenza registrati per i 34 pozzi esaminati, risultano pertanto > di 1000 RLU. Tale valore sembrerebbe quindi rappresentare, nella valutazione del grado di contaminazione delle acque sotterranee esaminate, il valore soglia inferiore.

Si può inoltre notare come la maggior parte dei 64 valori di RLU determinati si collocano nell'intervallo fra 10.000 – 1.000.000 RLU (52 campioni pari al 81,2%). Modesto è invece il numero di campioni per i quali sono stati registrati valori compresi fra 1.000-10.000 RLU (9 campioni 14,1%) e >1.000.000 RLU (3 campioni 4,7%).

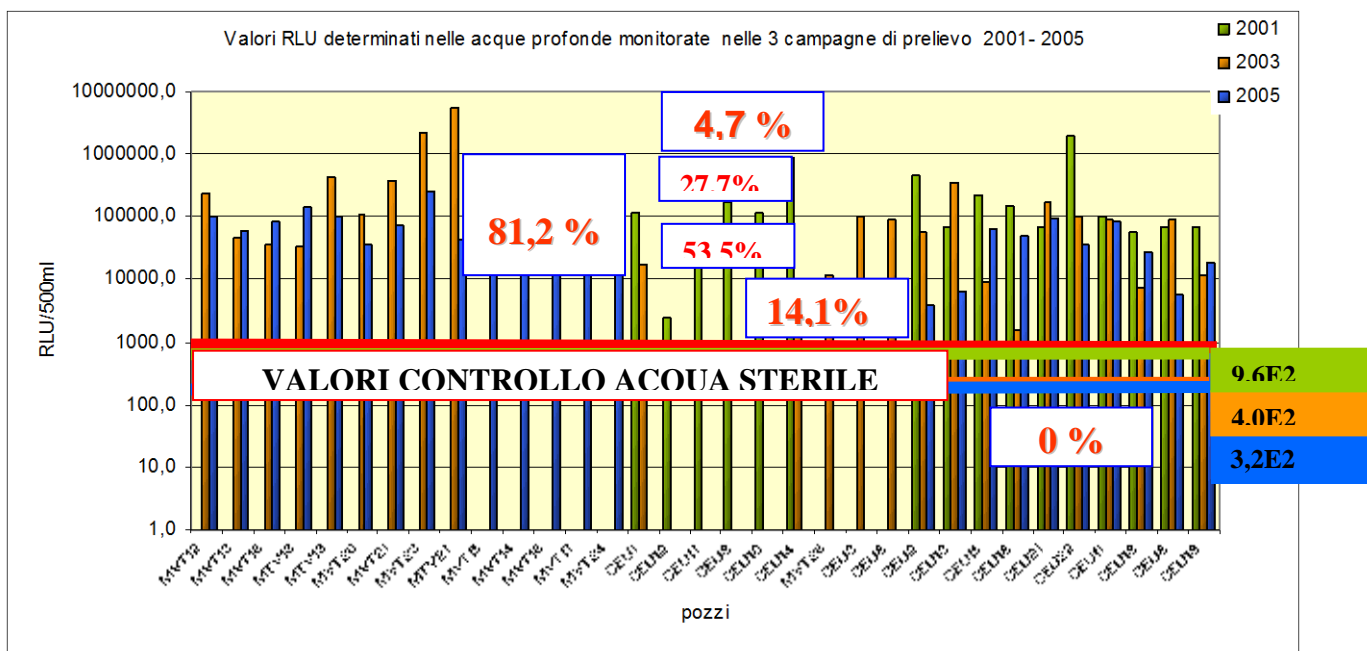


Fig. 7- Grafico dei dati luminometrici ottenuti per i campioni esaminati dal 2001 al 2005 e dei livelli di background ottenuti durante la sperimentazione.

Per poter valutare l'applicabilità di un metodo rapido come quello luminometrico, nel controllo delle acque profonde in situazioni di emergenza, è stato necessario indagare sulla sua capacità di fornire indicazioni relative alla possibile presenza di microrganismi patogeni. A tale fine, ci è sembrato interessante determinare la qualità microbiologica complessiva dei campioni analizzati, ed individuare la distribuzione dei campioni conformi e non conformi rispetto ai valori luminometrici ottenuti. I dati raccolti sono riepilogati nella Tab.1. Da una loro analisi emerge che i 31 campioni (su 62) Non Conformi, rispetto ai limiti fissati dalla normativa sulle acque potabili (D.L. 31/2001) per gli indicatori fecali, risultano distribuiti per l' 87,1% nel range di luminosità da 10.000 a 100.000.000.

Tab.1- Distribuzione dei campioni conformi e non conformi rispetto agli intervalli di luminosità (RLU).

INTERVALLI RLU	CAMPIONI NON CONFORMI	CAMPIONI CONFORMI
1.000 - 10.000	1	7
>10.000-100.000	16	13
>100.000-1.000.000	11	11
> 1.000.000	3	0

L'ampiezza dell' intervallo in cui sono collocati la gran parte dei campioni non conformi e, la distribuzione nello stesso intervallo, anche del maggior numero dei campioni conformi non fecalizzati (77,4%), confermano la non idoneità di un indicatore aspecifico, come la misura dell'ATP, per screening in situazioni di emergenza legate a contaminazione fecale.

Se si analizzano i dati graficati in Figura 7, in funzione di valutazione ambientale, ossia a prescindere dalla tipologia di batteri presenti nelle acque campionate, si possono fare alcune valutazioni collegabili alla caratterizzazione degli acquiferi ed alla loro variabilità di comportamento nel tempo.

Nel nostro caso, due acquiferi alluvionali aventi pressioni ambientali diverse.

I dati luminometrici misurati nel 2003 e 2005 in Conca Eugubina risultano mediamente inferiori a quelli rilevati in Media Valle del Tevere, e questo può essere riconducibile a un diverso grado di sensibilità degli acquiferi e/o ad una differente capacità di sviluppo e persistenza delle colonie batteriche.

Nel caso della Conca Eugubina si possono valutare anche i risultati di tre anni di osservazioni distinte: una variazione di 2 ordini di grandezza dei valori luminometrici è sicuramente significativa ed implica che ci siano fattori ambientali, naturali o meno, che possono incidere sull'abbondanza di ATP, e batteri presenti: sicuramente si può pensare a fattori climatici, piogge e loro intensità e distribuzione, a fattori antropici quali arrivo di nutrienti e percolazioni dal suolo, impatti di sostanze chimiche organiche ed inorganiche diffuse dal suolo (fitofarmaci, metalli, solventi ecc...).

Metodo AOX.

Le aree selezionate per il campionamento erano state precedentemente caratterizzate analiticamente come contaminate prevalentemente da solventi volatili clorurati per cui si è ritenuto opportuno ricontrollare per confronto anche il valore di tali analiti.

La tabella 2 riporta i valori ottenuti per la determinazione degli AOX insieme al valore dei VOC (composti organoalogenati volatili ed in particolare tri e tetracloro etilene)

I VOC sono stati determinati in una aliquota dello stesso campione prelevato per la determinazione degli AOX ed analizzati con la tecnica dello spazio di testa statico e determinazione gascromatografica (Metodo 5150 APAT IRSA-CNR Man 29/02 2003).

Tab. 2 – Analisi di AOX , VOC e tipo di campionamento eseguito (B: campionamento eseguito con campionatore Bailer; P: campionamento eseguito con pompa peristaltica)

CAMPIONI	AOX $\mu\text{g/l}$ (Cl <sup>-</sup> )		VOC $\mu\text{g/l}$	Tipo di prelievo
	ml di campione usato			
	40	300		
Pozzo 3bis		91	<1,0	P
Pozzo 5		22	<1,0	P
Pozzo 7	426		0,71	P
Pozzo 10		18	<1,0	P
Pozzo 11	204		<1,0	P
Pozzo 3	1 m	20	<1,0	B
	7 m	159	<1,0	B
	13 m	171	<1,0	B
Pozzo 3	20 m	338	<1,0	B
Pozzo 4	22 m	72	<1,0	B
Pozzo 6	29 m	150	<1,0	B
Pozzo tirasegno	1 m	92	87	B
	10 m		62	B
	16 m	213	1,9	B
Pozzo cantina sociale	1 m	156	37	B
	5 m	472	63	B
	7 m	158	31	B
Pozzo D	1 m		47	B
	15 m		79	B
	30 m		340	B
	45 m		175	B
	60 m		200	B
	75 m		105	B
	90 m		350	B
	105 m		129	B
	120 m		118	B
133 m		45	B	
Pozzo P71	285		53,6	P
Pozzo P73	105		<1,0	P
Pozzo P69	2686		3478	P
Pozzo P70	5342		2005	P
Pozzo P77	202		<1,0	P
Pozzo P78	346		<1,0	P
Pozzo P74	634		19,7	P

Da un'analisi dei dati possiamo fare le seguenti considerazioni:

- Gli andamenti ottenuti in alcuni casi (Fig.8 e Fig.9) sono caratteristici del tipo di inquinante monitorato. In effetti alcuni idrocarburi alogenati (metano alogenato, cloroformio, tetracloruro di carbonio, tri e tetracloroetilene, 1,1,1-tricloroetano) essendo più pesanti dell'acqua tendono a depositarsi al fondo della falda.

Questi composti possono essere individuati facilmente anche se si trovano a grande profondità e ciò perché essi sono poco solubili nell'acqua, hanno un elevato coefficiente di diffusione, un'elevata tensione di vapore ed inoltre non vengono biodegradati facilmente.

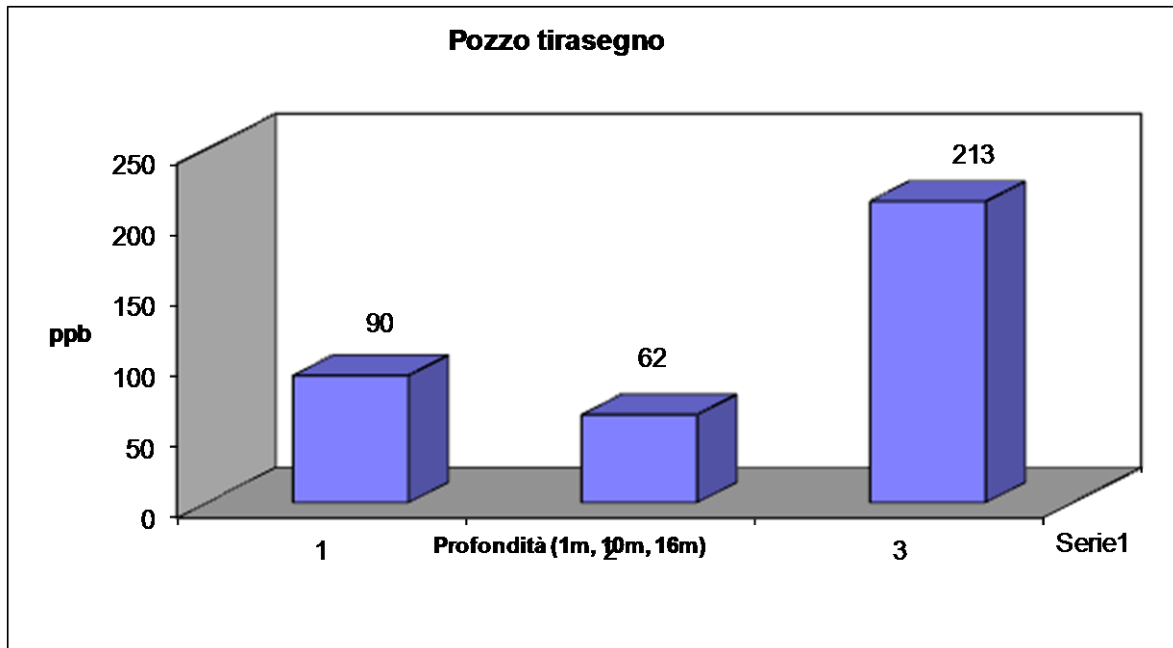


Fig. 8 – Andamento della concentrazione di AOX ( $\mu\text{g/l}$  di  $\text{Cl}^-$ ) in funzione della profondità.

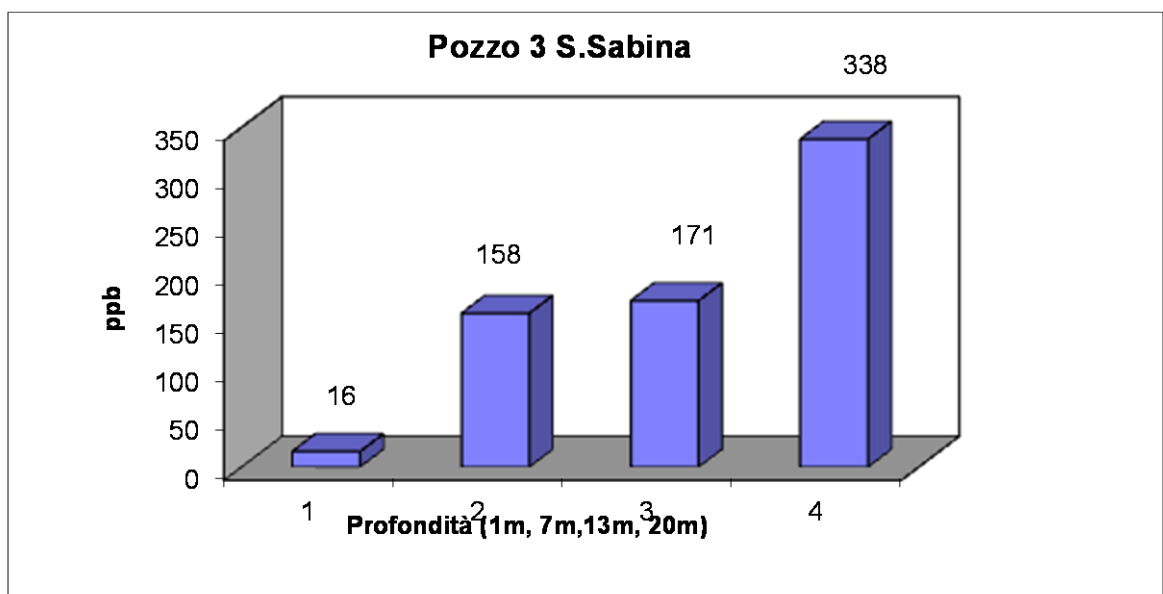


Fig. 9 – Andamento della concentrazione di AOX ( $\mu\text{g/l}$  di  $\text{Cl}^-$ ) in funzione della profondità.

- Una situazione diversa è stata evidenziata in un pozzo nuovo (Fig.10) molto profondo localizzato comunque in un'area in cui è stato recentemente individuato un massiccio in inquinamento dello stesso tipo del precedente che ha dato un andamento molto particolare.

Questo pozzo necessita probabilmente di ulteriori indagini.

I campionamenti sono stati eseguiti a 1m,15m, 30m, 45m, 60m, 75m, 90m, 105m, 120m,133m.

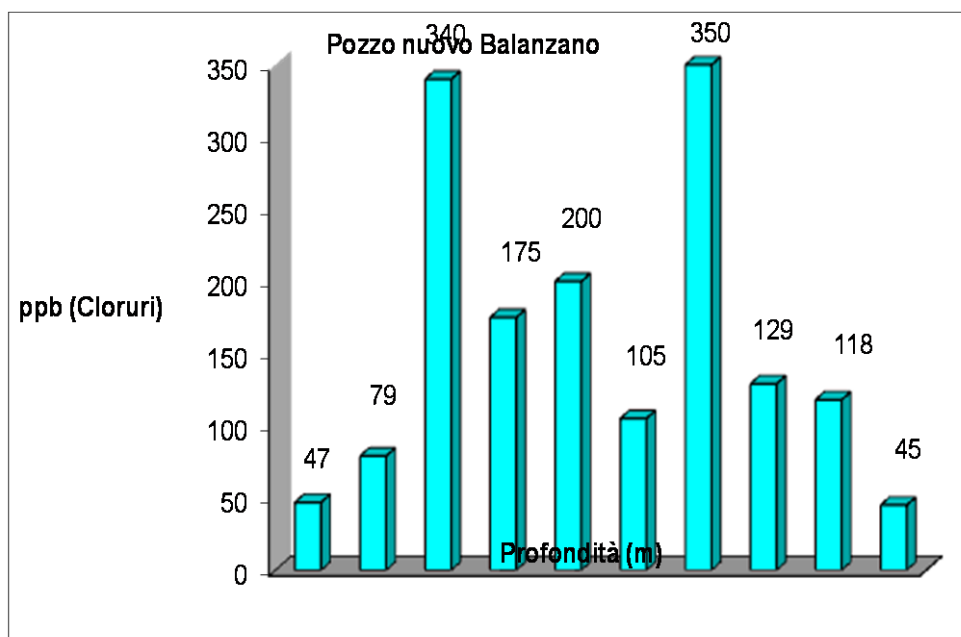


Fig. 10 - Andamento della concentrazione di AOX ( $\mu\text{g/l}$  di  $\text{Cl}^-$ ) in funzione della profondità

- I prelievi ai pozzi individuabili dai codici che vanno da P69 a P78 (Tab.2) sono stati eseguiti con pompe peristaltiche, tali pozzi sono attualmente sotto monitoraggio per l'individuazione recente di un inquinamento da tri e tetracloroetilene. In corrispondenza del prelievo per la determinazione degli AOX è stato eseguito il campionamento anche per i VOC; i risultati ottenuti sono riportati nel grafico che segue (Fig. 11).

Come si può vedere c'è una certa correlazione tra il contenuto di AOX ed il contenuto di VOC, anche se per alte concentrazioni di volatili c'è il rischio di avere una sottostima nel risultato finale.

Naturalmente per valori positivi di sostanze organoalogenati volatili ci si aspetta valori positivi di AOX, non è vero il contrario; infatti per valori positivi di AOX si possono avere valori non rilevabili di VOC (al di sotto del limite di rilevabilità del metodo che è di 1,0 ppb, che noi abbiamo contraddistinto con 0,05).

In effetti si evidenziano dei pozzi in cui anche per concentrazioni di AOX significative il valore dei VOC è al di sotto del limite di rilevabilità; in questo caso si dovrebbe ricontrollare il dato e se necessario approfondire l'indagine per individuare quali altri composti organici clorurati, possano essere presenti.

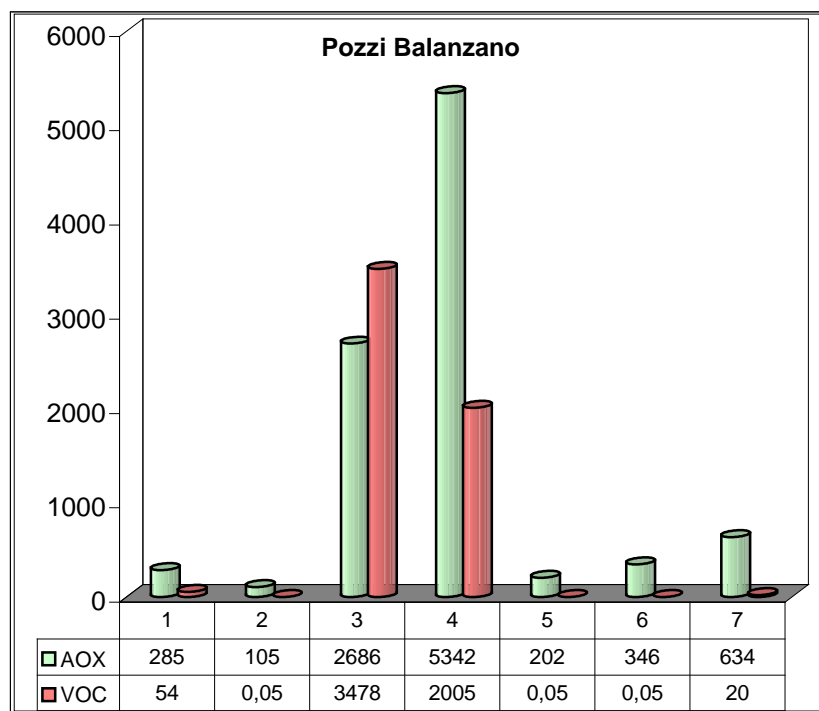


Fig. 11 – Andamento delle concentrazioni di AOX confrontate con la presenza di VOC in diversi pozzi di una zona inquinata



## CONCLUSIONI

Il test effettuato sulle due metodologie di progetto si proponeva di valutarne l'operatività e l'applicabilità quali parametri sintetici di valutazione, uno della componente biologica, non presente nella normativa vigente sulle acque sotterranee, l'altro di ridurre il numero dei parametri di osservazione del DLgs. 152/99.

La metodologia testata per l'indicatore sulla bioluminescenza ha evidenziato l'assenza di correlazione tra dato luminometrico e dato microbiologico: essa può essere spiegata tenendo conto sia dall'aspecificità che caratterizza la misura dell'ATP, sia delle caratteristiche dei metodi colturali.

Infatti il metodo bioluminometrico rileva una risposta biologica complessiva mentre i metodi colturali, anche quelli meno selettivi, come quelli utilizzati per la carica a 37° e 22°C, permettono di evidenziare non tutti i microrganismi presenti, ma solo quelli per i quali le condizioni ambientali da noi selezionate (temperatura, composizione terreno, tempi di incubazione ecc...) risultano ottimali.

Proprio per la sua aspecificità, la determinazione dell'ATP è risultata un indicatore non adeguato per discriminare il grado di contaminazione degli acquiferi o come metodo di screening per individuare situazioni di rischio microbiologico legato ad aspetti sanitari dovuti da agenti patogeni.

Sulle situazioni idrogeologiche studiate il metodo ha comunque evidenziato una buona capacità di distinguere situazioni spazialmente e temporalmente diversificate quanto a contenuto batterico nelle acque: cosa che consente di proporlo, previo test pilota specifici, come strumento di caratterizzazione dello stato ambientale delle falde per i parametri microbiologici.

La proposta dovrebbe essere quella di maggior approfondimenti rispetto a stati ambientali microbiologicamente e biochimicamente definiti: un uso generalizzato del valore dell'ATP potrebbe, infatti, aggiungere genericità a genericità.

Già di per se stesso lo stato ambientale microbiologico pone problemi di classificabilità. Il 152, infatti, lo mantiene legato più agli aspetti della contaminazione fecale che a quelli della saprobietà dell'ambiente, che permetterebbe una maggiore integrazione con il sistema dato di classificazione dello STATO AMBIENTALE.

Si può fare l'esempio del ciclo dell'azoto ed il variare delle concentrazioni di ammoniaca, nitrati, BOD al variare della concentrazione batterica relativa stante la competizione tra enterobatteri e nitrobatteri riguardo l'ossigeno.

Il fatto che appunto non sia possibile discriminare i due ambiti di attività microbica può dar luogo ad errate interpretazioni e valutazioni. Da qui la convinzione di un possibile uso del bioluminometro per discriminare situazioni temporali, cioè applicare il metodo allo stesso punto, per valutarne l'andamento nel tempo al variare delle pressioni.

La misura dell'ATP, in conclusione, è in funzione della quantità di organismi viventi presenti nel campione, quindi tale analisi si propone come metodo rapido per la valutazione della carica batterica presente nelle acque sotterranee.

La determinazione della contaminazione microbiologica delle acque tramite analisi dell'ATP fornisce in tempi rapidi una risposta biologica in funzione della carica batterica totale presente nel campione d'acqua; tale metodo non richiede personale particolarmente specializzato ed è poco costoso; inoltre ha il vantaggio di poter essere svolta in situ, grazie anche alla strumentazione utilizzata (trasportabile e maneggevole) ed ai tempi brevi di esecuzione.

L'analisi dell'ATP in bioluminescenza si utilizza da molti anni essi vengono applicati con successo in diversi contesti:

- stima dell'attività microbica in un processo biologico;
- stima del carico biologico totale.

Molti laboratori di controllo della qualità microbiologica già utilizzano la tecnologia della luminescenza dell'ATP per monitorare l'igiene generale dell'acqua, per valutare il carico biologico totale.

Esistono altri metodi per la stima dell'abbondanza microbica nelle acque: ad es. mediante la conta diretta in epifluorescenza; tale metodo si basa sulla conta diretta, al microscopio ottico ad immersione, delle cellule batteriche colorate con un marcatore fluorescente specifico per il DNA: il DAPI (4',6'-diamidino-2-phenylindole).

Tale metodo però presume l'adozione di personale specializzato e di attrezzature e materiali costosi (es. microscopio ad epifluorescenza).

E' da sottolineare che in natura la maggior parte dei batteri non è coltivabile (circa 1% dei batteri naturali sono coltivabili su piastre di crescita batterica) ed è per tale motivo che l'analisi della carica batterica totale deve essere effettuata tramite metodologie che sono indipendenti dalla coltivazione degli stessi su piastra; inoltre è per questo motivo che non sempre esiste una correlazione tra carica batterica totale e numero di colonie cresciute su piastra.

In sintesi il metodo bioluminometrico, applicato nel monitoraggio degli acquiferi, è risultato:

- rapido
- di facile esecuzione
- applicabile anche in campo
- ma aspecifico

Il bioluminometro è un apparecchio semplice da usare e, date le sue piccole dimensioni, si adatta abbastanza bene anche ad analisi sul campo; i tempi medi di campionamento ed analisi si aggirano intorno ai 25/30 minuti. I tempi medi d'analisi in laboratorio, utilizzando la cappa a flusso orizzontale che permette di evitare la contaminazione del campione da parte dell'ambiente circostante, sono approssimativamente gli stessi di quelli sul campo; lo strumento è in grado in pochi secondi di misurare direttamente la contaminazione batterica che si deposita sulla superficie delle membrane utilizzate per filtrare i campioni liquidi secondo la tecnica MF.

Il laboratorio mobile non consente di lavorare nelle condizioni di asetticità ottenibili in laboratorio (soprattutto sussiste la difficoltà di eliminare l'ATP dalle superfici). Occorre tra l'altro tenere presente che, all'interno del laboratorio mobile, si eseguono spesso altri tipi d'analisi che possono influenzare i valori bioluminometrici. Inoltre eseguire più analisi di diverso tipo (chimico-fisiche) all'interno del laboratorio mobile, può creare problemi di spazio, infatti, il solo bioluminometro, pur essendo piccolo e maneggevole, richiede una pompa portatile per la filtrazione, funnels sterili, contenitori termici, la borsa che contiene lo strumento ecc.: tutti questi elementi occupano un volume non trascurabile che deve essere previsto nella strutturazione di appositi mezzi mobili.

I reattivi utilizzati per il bioluminometro prima dell'uso possono essere conservati tra i 2° e gli 8°C per un tempo relativamente lungo (circa dodici mesi) ma, una volta ricostituiti e distribuiti in aliquote, vanno usati entro 5 giorni. Le aliquote preparate possono essere congelate a -18°C e conservate per 3 settimane, ma se scongelate, vanno consumate nelle 24 ore. Questo comporta la necessità di organizzare le indagini di ricerca in modo e tempi ben programmati.

In relazione all'utilizzo della metodica per la determinazione degli AOX si possono fare le seguenti considerazioni.

Questo sistema risulta essere abbastanza semplice da usare in laboratorio, anche se abbiamo individuato delle criticità piuttosto marcate che risultano :

- pulizia della vetreria, che deve essere molto accurata;
- inquinamento ambientale e cioè massima attenzione nell'uso di solventi clorurati negli spazi in cui si sta eseguendo l'analisi.

Per l'applicazione nel laboratorio mobile, il problema di avere un quantitativo di vetreria pulita e che si mantenga tale crea problemi notevoli per lo spazio e per il trasporto; l'uso inoltre di solventi all'interno del laboratorio mobile per altri tipi di analisi o di trattamento del campione potrebbe dare forti interferenze positive. La combustione del Carbodisk avviene nel Powerlyser posizionato all'interno del forno a microonde, quindi va individuato, nel laboratorio mobile uno spazio dedicato, e procurarsi un'alimentazione (costituita da un generatore) sufficiente a far funzionare il forno.

I tempi di analisi sono di circa 2 ore quando si analizzano 300 ml di campione e circa 50 minuti per l'analisi di 40 ml di campione. I tempi di risposta sono perciò buoni rispetto al ventaglio di classi di sostanze indagate, che se analizzate separatamente in laboratorio avrebbero tempi molto più lunghi e costi non confrontabili.

I reattivi, in particolare le cuvette per la determinazione colorimetrica dei cloruri vanno conservati ed usati ad una temperatura compresa tra +2 e +8°C.

I limiti di rilevabilità individuati sono più alti di quelli dichiarati dal Kit; a fronte di 5 µg/l di cloruri dichiarati, non abbiamo avuto risposte per i bianchi ( replicati in condizioni ottimali) più basse di 15 µg/l . Nell'ottica di una misura globale di contaminazione questo limite risulta alto poiché ad esempio il DLgs. 152/99 nella Tabella 21 – Parametri addizionali – fissa un valore limite per i Composti alifatici alogenati di 10 µg/l.

Sicuramente il metodo può essere utilizzato per la definizione di aree con contaminazioni piuttosto marcate e dare quindi indicazioni della portata dell'inquinamento, risulta però poco riproducibile per l'individuazioni di concentrazioni basse di analiti, ed in particolare non può essere significativo per il controllo di prodotti fitosanitari di tipo clorurato. La sua applicazione nel monitoraggio può essere valida a scala di rete regionale, o di reti locali, per le zone dove si hanno fenomeni contaminanti diffusi o si possono attendere nuovi eventi inquinanti da zone industriali e civili.

Lo strumento utilizzato si compone di una parte fissa o Start Set, di una bombola di ossigeno portatile e di un forno a microonde, il cui costo è piuttosto contenuto come investimento (circa 1500 €): il Kit consumabile per l'analisi di 12 campioni ha un costo di circa 200 € con un costo analitico a campioni pari a circa 10€ includendo analisi del bianco e ripetizioni su valori anomali.

## BIBLIOGRAFIA

APAT, IRSA-CNR, 2003. Metodi analitici per le acque. Manuale 29/2003

Bakker, V.; Warmer, H.; Rijs, G.B.J., 1995. Riza, The Netherland. Halogenated compounds in domestic sakage related to product use. Euroglas – Delft – meeting Sept. 95.

Beretta, G.P., Frondini, F., Giuliano, G., Marchetti, G., Martinelli, A. & Peruzzi, L., 2000. Design of a regional groundwater minitoring network: The PRISMAS project experience. Monitoring Tailor-Made III, International Workshop on information for sustainable water management. Nunspeet, the Netherlands, 25-28 September 2000.

Chiesa, G., 1998. Inquinamento delle acque sotterranee. Seconda edizione. Hoepli, Milano, Italia.

Deninger, R.A., Lee, J., 2001. Rapid determination of bacteria in drinking water using ATP assay. *Field Analytical Chemistry and Technology*, 5: 185-189.

Galassi, S., 1991. Microinquinanti organici. Distribuzione, trasporto, effetti dell'inquinamento previsioni del rischio. U. Hoepli Editore.

Giuliano, G., Marchetti, G., Martinelli, A., Frondini, F., Peruzzi, L., 1999. Nuove procedure operative e strumentali sulla rete di monitoraggio delle acque sotterranee in Umbria. Atti 3° Convegno Nazionale sulla protezione e gestione delle acque sotterranee. Parma 13-15 ottobre 1999. Pubbl. n. 1985 GNDCI-CNR. Quaderni di Geologia Applicata, Pitagora ed.

Gazzella, L., De Polis, A. e Giuliano, G., 2003. Indici globali di contaminazione per il monitoraggio degli acquiferi. *Acqua&Aria* n. 9 novembre/ dicembre.

Hines, E., 1999. Rapid Microbiology – Overcoming Fear of the “V-Word”, *Pharmaceutical Formulation & Quality* July/August, 1999, 18-22.

ISO 9562, 1989. Determination of adsorbable organic halogens.

Osak, I., Steere, B., K. Seeley, K., 2000. Characterization of Microbial Contaminants of Water via ATP Measurement with the BioProbe Luminometer. Gelma Laboratory.

Scalici, C., Small, S., Blumberg, S., English, D., Jimenez, L., 1998. Comparison of the Millipore Digital Total Count System and Standard Membrane Filtration Procedure to Enumerate Micro-organisms in Water Samples from Cosmetic/Pharmaceutical Environments. *Journal Rapid Methods and Automation Microbiology*, 6, 1998, 1999-209.

Wills, K., Woods, H., Gerdes, L., Hearn, A., Kyle, N., Meigham, P., Foote, N., Layte, K., Easter, M., 1998. Satisfying Micro-biological Concerns for Pharmaceutical Purified Water Using a Validated Rapid Test Method. *Pharmacopoeial Forum*, 24(1).



## **Attuazione programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del decreto legislativo 152/99”**

### **Sottoprogetto**

**“Lo studio della contaminazione dei sedimenti per la valutazione della qualità dei corsi d’acqua”**

**Responsabile Scientifico: Dott. Piero Rossanigo  
Dipartimento di Alessandria**

**Autori: Basso Andrea\*,Cairo Simona\*\*,Cossa Gianpaolo\*, Gozzellino Irene\*\*, Nosengo Piero\*, Rinaudo Caterina\*\*, Rizzo Daniela\*, Rossanigo Piero\*, Roz Manuela\*\*, Trova Claudio\***

**Analisi chimiche sui campioni di suolo e sedimento e acque sotterranee effettuate da:**

Alberi Fabio\*. Cossa Gianpaolo, Fumarco Barbara \*, Gaino Marilisa\*, Gandolfo Giuseppe\*, Ghioni Fabio\*, Poli Monica\*

**Analisi per la caratterizzazione mineralogica e geotecnica dei suoli e dei sedimenti effettuate da:**

Basso Andrea\*, Cairo Simona\*\*, Nosengo Piero\*, Rinaudo Caterina\*\*, Rizzo Daniela\*, Roz Manuela\*\*, Rossanigo Piero\*, Vitale Angela\*

Rilievi in sito e prelievo campioni effettuati da:

Adorno Giuseppe\*, Basso Andrea\*, Nosengo Piero\*, Rossanigo Piero\*, Vitale Angela\*

\* ARPA Piemonte – Polo Bonifiche di Alessandria

\*\* Università degli Studi del Piemonte Orientale “Amedeo Avogadro” – Dipartimento di Scienze dell’Ambiente e della Vita

## ABSTRACT

Il sottoprogetto si pone l'obiettivo di sviluppare e approfondire alcune metodologie per la valutazione dello stato chimico dei sedimenti trasportati e depositati dai corsi d'acqua, esaminando i meccanismi di accumulo, negli stessi, di sostanze inquinanti.

In particolare, sono stati considerati i depositi alluvionali del fiume Bormida di Millesimo, un corso d'acqua oggetto di studio in quanto compreso nel sito di bonifica dell'ex-ACNA di Cengio.

Nell'ambito del Progetto di Caratterizzazione del sito succitato, lungo la valle Bormida di Millesimo, ARPA Piemonte ha effettuato una serie di indagini finalizzate a determinare la concentrazione di una serie di contaminanti organici ed inorganici nella matrice suolo/sedimento al fine di definire quantitativamente l'inquinamento eventualmente presente nei depositi fluviali (in alveo e fuori alveo), nonché la sua distribuzione spaziale.

I primi risultati delle analisi effettuate hanno mostrato una variabilità della concentrazione di inquinanti non chiaramente interpretabile. Di qui è nata l'esigenza di realizzare uno studio mirato che consentisse di verificare alcune ipotesi di lavoro secondo le quali la concentrazione delle differenti sostanze potrebbe variare in funzione di alcune variabili, come la tipologia deposizionale del sedimento in corrispondenza del punto di prelievo, le caratteristiche granulometriche e le peculiarità mineralogiche del sedimento, la percentuale di sostanza organica naturale presente, ecc.

Lo studio si è sviluppato secondo fasi di indagini distinte che hanno previsto: a) prelievi ed analisi di suolo e di sedimento lungo la valle Bormida di Millesimo ed in corrispondenza dello stabilimento ex-ACNA, al fine di individuare correlazioni significative fra le concentrazioni di contaminanti e le peculiarità dei suoli e dei sedimenti; b) lo studio di alcune frazioni granulometriche di un campione medio composto di terreno inquinato, in relazione alla capacità di attrarre e di trattenere sostanze contaminanti; c) confronto di alcune metodiche di campionamento delle acque sotterranee al fine di identificare la più idonea per accertare l'effettivo trasporto di inquinanti.

Inoltre è stata testata la validità del *test* "Blu di metilene alla macchia" efficace per la caratterizzazione mineralogico-granulometrica dei sedimenti. Questa prova caratterizza i geomateriali sulla base di un valore indice (Valore di blu), il quale riflette la quantità e la qualità dei materiali argillosi presenti; più in particolare con questo test si quantifica la capacità di adsorbimento dei terreni, provocato dal "deficit" di carica elettrica delle particelle di sedimento, misurando la quantità di blu di metilene necessaria per ricoprire la superficie totale (esterna più interna) di dette particelle.



## INTRODUZIONE

“Lo stato di qualità ambientale dei corpi idrici superficiali è definito sulla base dello stato ecologico e dello stato chimico del corpo idrico.” (Punto 2.1– Allegato 1 – L.152/99).

Sia lo stato ecologico che quello chimico sono anche funzione della natura fisica e chimica dei sedimenti, nonché della presenza di sostanze chimiche pericolose eventualmente presenti. Inoltre, al Punto 2.1.2 dell’Allegato 1, si sottolinea come sia necessario, per una valutazione completa dello stato chimico, definire metodi per la rilevazione e la valutazione della qualità dei sedimenti.

Questo studio intende essere un contributo utile per la valutazione dello Stato chimico dei sedimenti, con particolare riguardo a quelli fluviali; si ritiene opportuno precisare che il concetto di sedimento non deve essere ristretto ai clasti e alle particelle di origine minerale trasportate e/o depositate nell’ambito dell’alveo di un corso d’acqua, ma occorre tener presente che tutti i depositi alluvionali, adiacenti all’incisione fluviale, potenziali sorgenti di inquinamento se contaminati, possono interferire con lo Stato Chimico del corpo idrico <sup>(1)</sup>; infatti le acque sotterranee che circolano all’interno dei suddetti depositi, normalmente in rapporto idraulico con fiumi, torrenti, laghi, ecc. possono essere veicolo di contaminazione, tenendo presente che le interazioni fra l’acquifero ed i corpi d’acqua superficiali sono spesso molto complessi, in quanto variabili in funzione della permeabilità delle rocce e delle escursioni stagionali dei livelli idrici.

Una valutazione corretta della qualità dei sedimenti, relativamente allo Stato chimico, difficilmente può prescindere dalle conoscenze circa le modalità di contaminazione degli stessi da parte di sostanze di origine naturale o antropica.

La presente ricerca quindi ha avuto l’obiettivo di approfondire le conoscenze circa i meccanismi che governano la contaminazione dei suoli e dei sedimenti attraverso:

- un’accurata ricerca bibliografica;
  - l’analisi dei dati disponibili relativi all’inquinamento presente in valle Bormida di Millesimo;
  - la realizzazione di alcune indagini mirate per verificare la correlazione fra il livello di contaminazione ed alcune caratteristiche dei suoli e dei sedimenti;
  - lo studio delle frazioni granulometriche, opportunamente separate, in merito alla capacità di attrarre e trattenere le sostanze inquinanti;
  - lo sviluppo di alcune tecniche di laboratorio utili per la valutazione della modalità e della potenzialità di suoli e di sedimenti di accumulare e di trattenere i vari tipi di contaminanti;
- la verifica della possibilità di trasferimento di sostanze inquinanti fra sedimenti e acque sotterranee;
- la definizione di strategie di monitoraggio e di campionamento in grado di fornire indicazioni per modelli concettuali di contaminazione più raffinati e aderenti la realtà.

L’esigenza di effettuare uno studio di questo tipo è emersa in fase di progettazione di una parte del Piano di Caratterizzazione inerente il sito da bonificare denominato “ACNA di Cengio”, di interesse nazionale. Detto Piano di Caratterizzazione prevedeva, fra l’altro, una serie di indagini realizzate lungo l’asta fluviale della Bormida di Millesimo, per un tratto di circa settanta chilometri, compreso fra gli abitati di Cengio (SV) e di Bistagno (AL). Nell’ambito di un’area così estesa, non era pensabile ubicare i punti di campionamento esclusivamente secondo un criterio statistico (casuale, secondo una maglia regolare, ecc) in quanto estremamente oneroso; peraltro le conoscenze per progettare un campionamento di “tipo ragionato” (*Biased sampling o Judgmental sampling*) erano limitate e non sufficienti per una caratterizzazione esaustiva. Preliminarmente erano stati prelevati campioni di suolo e di sedimento, in superficie ed in profondità, sia immediatamente a valle dello stabilimento ex-ACNA (Comune di Saliceto) sia in Comuni decisamente più distanti, nell’ambito dell’area di esondazione del fiume Bormida di Millesimo. In fase di valutazione dei primi dati analitici, semplici modelli concettuali che presumevano un decremento delle

---

<sup>(1)</sup> Con il termine sedimenti alluvionali (o fluviali) ci si riferisce sia ai sedimenti, non pedogenizzati, depositatisi nel tempo da paleocorsi d’acqua, secondo una determinata serie stratigrafica, ai lati del corso d’acqua attuale, sia ai sedimenti trasportati dalla corrente fluviale (carico di fondo, carico sospeso) e depositati all’interno dell’alveo.

concentrazioni degli inquinanti in funzione della distanza dello stabilimento ex-ACNA, in funzione della distanza del corso d'acqua e in funzione della profondità di campionamento <sup>(2)</sup>, non riuscivano a spiegare innumerevoli variazioni spaziali dei tenori della contaminazione presente nei suoli e nei sedimenti, sia in superficie che in profondità; evidentemente altre variabili, relative alle caratteristiche fisiche della matrice campionata, incidono in modo determinante sulla modalità di *sorption* e di trattenimento degli inquinanti. Inoltre una problematica altrettanto rilevante era costituita dalla comprensione dei fenomeni di rilascio dei vari contaminanti alle acque sotterranee.

Una migliore conoscenza dei fenomeni di adsorbimento, assorbimento e trattenimento degli inquinanti nel sedimento può fornire informazioni utili circa la possibilità e le modalità di rilascio degli stessi nel tempo, quindi individuare se e in che misura un volume di sedimento inquinato possa divenire una fonte secondaria di inquinamento degli acquiferi e quindi anche delle acque del corpo idrico superficiale; inoltre informazioni di questo tipo possono agevolare la progettazione di un piano di campionamento finalizzato alla caratterizzazione di aree molto estese.

Il presente lavoro è stato possibile in quanto ha seguito proceduto di pari passo il Piano di Caratterizzazione per la bonifica dell'ACNA di Cengio<sup>3</sup>, per cui sono stati utilizzati ed interpretati, secondo gli obiettivi del presente studio, una serie di dati facenti parte del Piano stesso, inoltre ci si è giovati delle indagini eseguite; ad esempio è stato possibile prelevare campioni di sedimento in profondità tramite sondaggi geognostici realizzati, testare differenti metodi di campionamento delle acque sotterranee utilizzando i pozzi di controllo, nonché confrontare le concentrazioni di numerosi inquinanti <sup>(3)</sup> con le peculiarità dei sedimenti prelevati.

In particolare sono state effettuate diverse campagne di campionamento di suoli e sedimenti, superficiali e profondi, sia lungo l'asta del fiume Bormida di Millesimo (Allegato 1 - Figura 1), sia all'interno dello stabilimento ex-ACNA di Cengio (Allegato 1 - Figura 2) al fine di caratterizzare detti sedimenti esaminando alcuni descrittori di queste matrici ambientali, significativi in relazione alle capacità di attrarre e trattenere inquinanti organici ed inorganici (cfr. Par. 1).

È stato altresì studiato un campione medio composito, costituito dal mescolamento di più campioni prelevati all'interno dello stabilimento ex-ACNA di Cengio. Tale campione medio è stato suddiviso in differenti frazioni granulometriche (sabbia, limo grossolano, limo fine, argilla), al fine di verificare il comportamento delle varie sostanze inquinanti nei confronti della matrice solida, in funzione della dimensione delle particelle costituenti il suolo o il sedimento;

Inoltre sono state effettuate analisi chimiche di acque sotterranee campionate secondo modalità differenti al fine di individuare la metodologia di prelievo più idonea ad evidenziare il trasporto di inquinanti dall'acquifero alle acque del corso d'acqua.

Un approfondimento delle conoscenze geologiche e geochemiche dell'area oggetto di studio ha consentito un'interpretazione dei dati anche alla luce delle caratteristiche naturali del bacino del fiume Bormida di Millesimo.

I dati utilizzati per il presente progetto sono stati immessi in un database, elaborato per mezzo del software "Microsoft Access", opportunamente strutturato; tutti i dati sono georeferenziati e gestibili in ambiente GIS.

Si ricorda che la versione integrale del presente lavoro, disponibile su richiesta, consente un approfondimento puntuale e circostanziato delle problematiche trattate, soprattutto per quel che concerne lo studio del campione medio composito, la procedura individuata per la separazione delle frazioni granulometriche ed il campionamento delle acque sotterranee.

---

<sup>(2)</sup> È opportuno sottolineare che la contaminazione dei depositi alluvionali del fiume Bormida di Millesimo, da parte delle sostanze prodotte dall'ex-ACNA di Cengio, è dovuta quasi esclusivamente all'esondazione delle acque fluviali inquinate durante i periodi di piena ed all'infiltrazione delle stesse all'interno dei sedimenti alluvionali che costituiscono la roccia serbatoio degli acquiferi sottostanti.

<sup>(3)</sup> Per la Caratterizzazione del sito ACNA di Cengio sono stati ricercati nei suoli e nei sedimenti 211 analiti più diossine e PCB.

## Descrittori dei suoli e dei sedimenti in relazione alla capacità di attrarre e di trattenere sostanze inquinanti

Al fine di meglio comprendere i meccanismi di contaminazione dei suoli e dei sedimenti sono stati individuati alcuni descrittori, di seguito elencati ed illustrati, utili ad individuare la propensione di queste matrici ambientali ad attrarre e a trattenere sostanze inquinanti inorganiche ed organiche: contenuto della frazione granulometrica fine (quantificabile per mezzo di analisi granulometriche); contenuto di minerali argillosi attivi (individuabile per mezzo di analisi mineralogiche); contenuto di sostanza organica; valore di blu (Vb) che indica la quantità e la qualità (in termini di presenza di minerali argillosi attivi) della frazione granulometrica fine.

### **Analisi granulometrica**

L'analisi granulometrica consente di classificare i suoli ed i sedimenti sulla base delle dimensioni delle particelle che li compongono. Esistono diversi sistemi di classificazione che fissano limiti diversi per il passaggio da una classe granulometrica all'altra. Nell'ambito di questo studio sono state utilizzate la classificazione di Wentworth e la classificazione A.G.I. (Associazione Geotecnica Italiana).

Questo *test* è stato realizzato mediante setacciatura a secco per separare le frazioni più grossolane, per via umida per separare le frazioni sabbiose dalla frazione limoso-argillosa; in quest'ultimo caso solitamente sono stati utilizzati i seguenti setacci (2 mm, 1 mm, 0,5 mm, 0,250 mm, 0,125 mm, 0,063 mm). In particolare è stata utilizzata la procedura standard proposta dal CNR (Anno V, n. 23 – 1971).

La separazione granulometrica delle frazioni più fini è stata realizzata utilizzando il principio secondo il quale la velocità di sedimentazione in una sospensione acquosa è in relazione con il diametro delle particelle (metodo del densimetro, metodo della pipetta, Gattorta); attraverso un cilindro di sedimentazione, in base alla legge di Stokes, si misura la densità della sospensione di suolo o di sedimento da caratterizzare, oppure vengono prelevate e pesate, ad intervalli predefiniti, porzioni di detta sospensione. Per questo tipo di analisi è stata utilizzata sia la procedura standard BS 1377: Part 2: 1990, sia il metodo che utilizza il levigatore alla pipetta secondo Esenwein.

### **Analisi mineralogica**

Sono state altresì individuate le caratteristiche mineralogiche dei suoli e dei sedimenti prelevati sia all'interno dello stabilimento ex-ACNA di Cengio sia lungo la valle Bormida di Millesimo; particolare attenzione è stata rivolta alla frazione limoso-argillosa, nella quale è abbondante la quantità dei minerali argillosi, gruppo di minerali rimarchevole in quanto responsabile di determinati processi di interazione con alcune specie contaminanti. La conoscenza delle peculiarità dei minerali argillosi consente inoltre di meglio comprendere i principi che stanno alla base della prova del "blu di metilene alla macchia", di seguito descritta.

Un minerale argilloso, spesso prodotto dell'alterazione di preesistenti minerali silicatici, è costituito da fillosilicati, ovvero silicati idrati, la cui struttura cristallina è costituita da un'alternanza di strati di tetraedri di silicio-ossigeno (il così detto strato T) e di strati di ottaedri di alluminio (o magnesio)-ossigeno (il così detto strato O). In questo tipo di minerali le cui particelle sono solitamente inferiori 5 µm. Gli strati T ed O sono disposti come mostrato in Figura 1

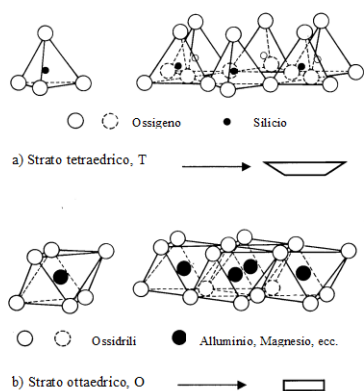


Figura 1 Struttura cristallina degli strati tetraedrici e ottaedrici (Mitchell, 1993, modificata).

Il modo in cui si ripetono gli strati T e O e lo spessore (periodo basale) dei pacchetti che ne risultano sono una caratteristica cristallografica dei minerali argillosi. Si distinguono ad esempio (Figura 2) le famiglie tipo T-O con periodo basale minimo di circa 7 Å (e.g. caolinite), le famiglie tipo T-O-T con periodo basale minimo di circa 10 Å (e.g. illite), le famiglie tipo T-O-T+O con periodo basale minimo di circa 14 Å (e.g. clorite).

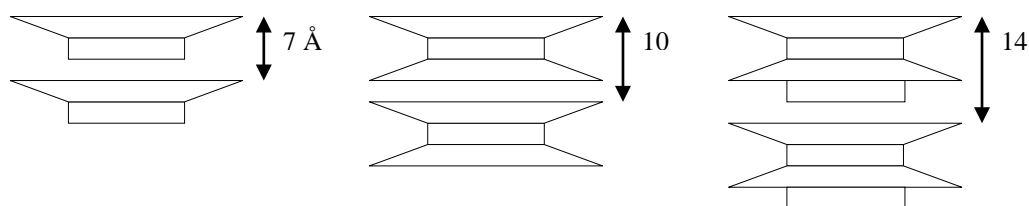


Figura 2 Schematizzazione di alcuni tipi di argille in funzione della diversa sovrapposizione degli strati T e O.

L'edificio cristallino dei fillosilicati presenta spesso irregolarità legate a sostituzioni isomorfe<sup>(4)</sup> di alcuni cationi all'interno degli strati O e T. Dette irregolarità, che implicano "deficit" di carica, ovvero cariche negative<sup>(5)</sup>, indeboliscono i legami fra pacchetti T-O e/o T-O-T e portano alla separazione gli uni dagli altri oppure permettono l'accesso di acqua e/o ioni sia negli interstrati (spazi fra i pacchetti T-O e T-O-T), sia sulle superfici, al fine di raggiungere l'equilibrio.

Un minerale argilloso è tanto più attivo (ovvero capace di adsorbire specie ioniche, molecole d'acqua, molecole di diverse sostanze) quanto più la sua struttura cristallina è disordinata e quindi presenta un numero maggiore di cariche negative libere che devono essere equilibrate. A parità di densità di cariche libere, l'attività è più elevata tanto più è grande la superficie specifica totale.

Fra i minerali argillosi la caolinite ad esempio presenta pochissime sostituzioni isomorfe; l'illite presenta sostituzioni a livello dello strato tetraedrico: meno di un  $\text{Si}^{4+}$  su quattro è rimpiazzato da un  $\text{Al}^{3+}$ ; la montmorillonite presenta sostituzioni di  $\text{Mg}^{2+}$  al posto di  $\text{Al}^{3+}$  nella misura di 1:6. La struttura della montmorillonite (che è il termine più comune del gruppo delle smectiti) appare straordinariamente complessa poiché interposti ai suoi pacchetti T-O-T sono presenti molecole d'acqua, cationi relativamente ben legati ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ) e numerosi altri cationi facilmente scambiabili ( $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ , ecc.). Il numero di molecole d'acqua non è fisso, può

<sup>(4)</sup> Viene definita sostituzione isomorfa la sostituzione di alcuni ioni nel reticolo cristallino che non comporta una modificazione della struttura.

<sup>(5)</sup> La sostituzione per mezzo di ioni a valenza positiva inferiore (e.g.  $\text{Al}^{3+}$  al posto di  $\text{Si}^{4+}$  nello strato tetraedrico,  $\text{Mg}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{2+}$  al posto  $\text{Al}^{3+}$  nello strato ottaedrico) causa un "deficit" di carica. La sostituzione isomorfa è la causa principale della presenza di cariche elettriche negative sulla superficie delle particelle.

aumentare da un minimo di 12 fino ad un massimo di 24, rigonfiando così l'interstrato, tanto da portare l'intera struttura da un periodo basale minimo di circa 10 Å (per una montmorillonite completamente disidratata) ad un periodo basale di 28 Å; nell'interstrato possono venire adsorbite anche molecole organiche.

Perciò lo studio della contaminazione dei suoli e dei sedimenti non può prescindere dalla caratterizzazione mineralogica e quindi dalla definizione delle fasi mineralogiche presenti nel sito in analisi. Un metodo sperimentale, che permette l'identificazione dei minerali e una analisi dei rapporti quantitativi tra le diverse fasi minerali, è la diffrazione a raggi X su polveri. Infatti ogni minerale, investito da un fascio di raggi X, produce uno spettro caratteristico, che risulta essere l'impronta digitale del minerale stesso. In un suolo (o sedimento) sono presenti molti minerali; analizzato ai raggi X, il suolo produrrà uno spettro somma dello spettro delle singole componenti minerali. La tecnica di preparare un campione in polvere è inoltre indispensabile per permettere a tutti i cristalli di tutte le fasi di orientarsi in modo casuale e di impedire che orientazioni preferenziali alterino lo spettro finale.

Per le diffrattometrie effettuate nell'ambito del presente lavoro è stato utilizzato un diffrattometro a polveri della THERMOARL modello X'TRA, in dotazione al laboratorio dell'Università del Piemonte Orientale di Alessandria. Come detto la diffrattometria ai raggi X consente di effettuare un'analisi qualitativa identificando i minerali presenti nei campioni analizzati. Nel presente studio è anche stata realizzata un'analisi semi-quantitativa utile per correlare la quantità di determinate specie mineralogiche, soprattutto in corrispondenza delle frazioni granulometriche più fini, con la capacità di suoli e sedimenti di attrarre e trattenere alcune specie inquinanti.

### **Frazione organica nei suoli e nei sedimenti**

I processi di *sorption* nel suolo e nei sedimenti sono influenzati oltre dal contenuto di minerali argillosi anche dalla presenza di sostanza organica. Entrambi i fattori, caratterizzanti il suolo, condizionano addirittura la vulnerabilità dell'acquifero sottostante in quanto possono ritardare o inibire il moto di infiltrazione dei contaminanti.

La frazione di carbonio organico ( $f_{oc}$ ) presente rispetto alla parte solida totale del suolo o del sedimento, viene definito come il rapporto fra il peso (in grammi) del carbonio organico solido ed il peso (in grammi) del solido totale.

Considerato che il carbonio organico è in grado di legare chimicamente alcuni contaminanti, il  $f_{oc}$  può essere utilizzato per stimare la capacità di un suolo di adsorbire o legare determinati inquinanti. Spesso in corrispondenza di suoli indisturbati si osserva una relazione inversa fra profondità e concentrazione di carbonio organico.

Se in un suolo o in un sedimento la frazione di carbonio organico è almeno dell'1%, le sostanze idrofobiche si ripartiranno fondamentalmente fra l'acqua e ed il carbonio organico; al di sotto di questa quantità o comunque di un determinato livello critico, le molecole saranno primariamente adsorbite dalla materia minerale.

La determinazione della quantità di sostanza organica nei suoli e nei sedimenti è stata effettuata mediante calcinazione in stufa a 650°C del campione secco; oppure determinando il contenuto di carbonio organico utilizzando il metodo VII.2 indicato dal Decreto del Ministero delle politiche agricole e forestali del 1999.

## Valore di blu

La prova del blu di metilene “alla macchia” <sup>(6)</sup> consente di caratterizzare suoli, sedimenti e materiali inerti da costruzione, sulla base di un valore indice, il Valore di blu, che riflette la quantità della frazione granulometrica fine (in particolare limo e argilla) e la tipologia dei minerali argillosi presenti.

Il principio su cui si basa la prova del blu di metilene alla macchia consiste nel quantificare la capacità di *sorption* dei terreni misurando la quantità di blu di metilene (elettrolita cationico organico colorante – C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S nH<sub>2</sub>O) necessaria per ricoprire la superficie totale<sup>(7)</sup> (esterna più interna) delle particelle stesse. Si tratta di un fenomeno di adsorbimento chimico *sorption* provocato da un “deficit” di carica elettrica (cariche negative) delle particelle di argilla e/o dai fenomeni di scambio ionico tra i cationi facilmente scambiabili dell’argilla stessa ed i cationi di blu di metilene, a seguito della scissione in acqua di questi ultimi dagli anioni (Cl<sup>-</sup>).

La prova, nell’ambito del seguente studio, è stata condotta secondo la norma AFNOR-NF P 94-068.

## Correlazione fra i descrittori di suoli e di sedimenti e la concentrazione di alcune sostanze inquinanti

Di seguito è sinteticamente descritta una serie di indagini effettuate al fine di elaborare modelli concettuali che spieghino alcune modalità di contaminazione di suoli e di sedimenti (in particolare fluviali), da parte di sostanze inorganiche ed organiche, nonché di proporre alcune tecniche utili per individuare la propensione della suddetta matrice ambientale ad attrarre e a trattenere differenti sostanze.

In particolare sono state realizzate più campagne di campionamento di suoli e di sedimenti nell’ambito dello stabilimento ex-ACNA di Cengio e lungo il fiume Bormida di Millesimo al fine di individuare correlazioni significative fra i descrittori della matrice suolo e sedimento (cfr. Par.1) e la concentrazione di alcuni contaminanti organici ed inorganici, determinata grazie alle analisi realizzate nell’ambito del Piano di caratterizzazione del sito ex-ACNA di Cengio. I dati sono stati trattati con il software “Statistica v. 6.1”.

## Campioni di suoli e di sedimenti superficiali prelevati nell’ambito dei depositi alluvionali del fiume Bormida di Millesimo

Sono stati prelevati, lungo l’asta del fiume Bormida di Millesimo, campioni di sedimenti nell’alveo del corso d’acqua e campioni di suoli e sedimenti superficiali (0-20 cm di profondità) presenti nella pianura alluvionale adiacente (Allegato1 - Figura 3); in questa fase di indagini non sono stati considerati i campioni prelevati a profondità maggiore.

La tipologia, il livello e la distribuzione della contaminazione presente sono stati determinati, nell’ambito del Piano di Caratterizzazione dell’ex-ACNA di Cengio - Aree esterne, effettuando analisi chimiche per l’individuazione di inquinanti organici (211 analiti, più diossine e furani) ed inorganici (nichel, cromo, rame, zinco, arsenico, cadmio, stagno, mercurio, piombo, ecc.).

---

<sup>(6)</sup> Dal francese “à la tache”.

<sup>(7)</sup> La superficie specifica totale è la superficie accessibile della particella rapportata a 1g di materiale. La superficie totale è la somma della superficie esterna (inversamente proporzionale alla dimensione delle particelle) e della superficie interna, cioè dello spazio dell’interstrato.

Per migliorare la comprensione dei meccanismi di contaminazione dei suoli e dei sedimenti, relativamente agli inquinanti inorganici <sup>(8)</sup>, sono state effettuati, nell'ambito questa indagine, i seguenti *tests*: analisi granulometriche, analisi mineralogica qualitativa e semi-quantitativa, determinazione del contenuto organico mediante calcinazione in stufa a 650°C del campione secco, test "Blu di metilene alla macchia".

Nella Tabella 1 sono riportati sinteticamente tutti i risultati ottenuti effettuando le indagini sopra elencate, relativamente a 31 campioni di suolo e di sedimento campionati. Il "data-set" esaminato è costituito da 20 variabili. E' stata effettuata un'analisi di correlazione che consente di studiare il grado di associazione, il legame, fra le coppie di variabili; è possibile quantificare l'intensità di tale legame mediante un parametro detto *coefficiente di correlazione lineare (r)*.

---

<sup>(8)</sup> Non è stato possibile effettuare una valutazione analoga relativamente alle sostanze organiche in quanto esse non sono state rilevate nella maggior parte dei campioni prelevati.

Tabella 1 *Data set* utilizzato per l'individuazione delle correlazioni fra i parametri considerati.

CAMPIONE	DIST. Scarico (m)	DIST. Alveo (m)	Sabbia (%)	Limo (%)	Argilla (%)	S.O. su passante a 63 (%)	S.O. sul tale quale (%)	Vb (gr di blu per 100 gr terreno)	Cr (ppm)	Ni (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	As (ppm)	Cd (ppm)	Sn (ppm)	Hg (ppm)	Pb (ppm)	Smectite-Vermiculite (%)	Illite-Muscovite (%)	Caolinite (%)
1 S	-2615	0.1	16,7	70,4	6,9	8,7	11,9	1,9	181,8	108,0	20,5	227,3	14,8	1,6	4,9	0,1	28,4	21	25	15
5 S	617	0.1	2	86,5	4,5	11,3	12,1	1,9	260,9	119,6	42,4	228,3	13,0	0,3	3,2	0,1	29,3	32	19	7
6 S	2089	0.1	62,9	28,5	3	9	5	1,4	170,5	108,0	25,0	90,9	16,5	0,6	5,1	0,4	39,8	7	49	14
7 S	4123	0.1	10,6	80,4	3	8,1	8,7	1,8	227,3	116,9	33,1	155,8	20,1	0,5	3,4	0,3	35,7	28	21	10
9 S	14161	0.1	67,6	28,4	2,3	6,8	5,7	1,3	291,7	154,8	55,4	119,0	23,2	2,9	10,1	0,3	77,4	27	30	10
10 S	23822	0.1	26,4	61,2	6,9	7,2	5,7	1,6	275,0	175,0	48,0	110,0	14,5	1,2	6,5	0,2	21,0	38	21	6
11 S	41041	0.1	76	19	2,8	7,3	2,5	1,6	306,1	163,3	56,1	122,4	21,9	1,6	7,1	0,2	25,0	29	28	14
12 S	67591	0.1	7,5	72,5	10	6,4	6,8	1,7	200,0	155,6	20,0	188,9	11,1	0,4	1,2	0,1	13,3	31	21	8
13 S	2745	0.1	67,3	25,2	4,5	5	4,3	1,6	154,3	86,4	27,2	98,8	30,2	0,3	3,0	0,1	50,6	14	34	16
16 S	17046	0.1	60,4	29,2	5,5	12	4,3	1,6	372,0	195,1	61,0	115,9	29,3	0,4	14,6	0,5	36,0	32	22	7
20 S	56953	0.1	32,3	52,7	8,1	8,4	8,2	1,7	170,5	113,6	30,7	204,5	9,0	0,7	1,7	0,1	17,0	37	19	4
1 AL	-2625	55	85,4	13,6	0,5	4,9	1,9	0,7	122,8	43,9	29,8	105,3	43,9	0,6	8,8	0,1	61,4	8	58	20
2 AL	-1633	20	70,2	27,8	0,3	5,2	2,3	0,8	62,5	28,1	16,1	78,1	32,8	0,3	3,5	0,1	43,2	8	48	16
7 AL	4110	48	30	57,6	5,4	7,1	6	2,7	202,0	90,9	26,3	116,2	26,3	0,5	2,6	0,8	43,4	37	15	9
9 AL	14127	59	52	36,8	6,2	7,3	5,9	2,4	313,8	143,6	44,1	133,0	35,6	0,4	10,1	0,1	33,5	27	36	6
10 AL	24689	140	57,2	32,3	6,9	5,3	4,7	1,7	211,5	115,4	24,5	57,7	28,8	0,5	9,1	1,0	20,2	30	30	10
11 AL	41753	60	77	19	2,5	4,4	3,6	1,8	250,0	142,9	26,8	50,0	19,3	0,1	6,4	0,1	15,4	30	27	9
13 AL	2622	60	6,8	84,9	3,3	7,5	11,4	0,9	235,3	58,8	43,1	112,7	58,8	0,4	11,3	0,1	58,8	0,01	24	11
15 AL	7906	22	83,6	13,4	1,5	5,5	4,2	1,7	239,6	130,2	40,1	88,5	30,7	1,1	8,3	0,2	45,3	31	22	10
16 AL	16936	32	50,9	39,1	4,6	4,8	4,2	1,6	187,5	101,0	19,7	48,1	35,1	0,4	10,6	0,2	14,9	19	28	9
17 AL	29645	70	56,7	31,2	6,4	6	5,1	1,7	138,6	79,2	22,3	217,8	16,3	0,3	1,9	0,5	28,7	27	33	4
18 AL	35335	24	31,5	51	10	5,9	6,4	2,4	202,2	151,7	29,8	84,3	20,8	0,7	3,4	0,5	32,0	28	26	11
19 AL	49772	45	61,7	29,3	5,1	7	6,4	1,5	314,7	146,6	34,9	103,4	21,6	0,4	8,2	0,1	19,8	34	24	12
20 AL	57066	32	63,2	32,5	2,5	6,8	3,6	1,5	234,7	127,6	27,6	51,0	19,9	0,4	6,6	0,1	18,4	29	24	15
21 AL	-2695	104	64,5	28,5	2,7	7,6	8,1	1,4	176,5	142,2	22,1	83,3	35,3	0,5	10,3	0,3	32,4	32	25	9
22 AL	671	81	57,8	34,4	4,6	6,6	6,8	1,7	204,1	81,6	30,6	102,0	51,0	0,4	12,2	0,4	43,9	11	37	17
24 AL	3350	248	40,7	37,8	14,7	7,3	4,9	3,5	391,5	231,1	47,2	80,2	19,3	0,5	7,1	0,1	25,5	43	18	3
26 AL	20778	24	34,9	45,5	10,3	8,8	5,8	1,7	234,7	142,9	76,5	86,7	25,5	0,9	7,1	0,4	35,2	23	39	11
28 AL	46417	38	37,4	56,1	3,5	5,7	8,3	1,6	260,2	137,8	38,8	76,5	31,6	0,4	9,2	0,1	27,6	20	37	14
29 AL	53705	58	51,9	39,6	5,1	7,1	5,9	1,8	294,4	165,3	44,4	68,5	20,2	0,4	7,3	0,1	19,0	30	24	14
30 AL	62464	53	56	34,7	5,3	4,6	2,6	1,9	290,8	132,7	22,4	50,0	22,4	0,4	7,1	0,1	14,3	33	23	14

Le osservazioni e la valutazione delle analisi effettuate sono riportate sinteticamente nel Paragrafo “5 Considerazioni conclusive”

### Campioni di suoli e di sedimenti prelevati nell'ambito dei depositi alluvionali del fiume Bormida di Millesimo

In questa fase di indagine è stata studiata una parte dei campioni prelevati nei depositi alluvionali del fiume Bormida di Millesimo, nell'ambito del Piano di Caratterizzazione delle Aree Esterne allo stabilimento ex-ACNA di Cengio. In particolare, dei 422 campioni a disposizione, prelevati in corrispondenza di 55 sondaggi a carotaggio continuo eseguiti, ne sono stati scelti 100, campionati fra 1 e 8 m di profondità, relativamente ai punti di sondaggio ubicati nell'Allegato 1 - Figura 4.

E' stata ripetuta, su detti campioni, un'indagine analoga a quella descritta nel Paragrafo 2.1 . In questo caso il contenuto organico del suolo e dei sedimenti non è stato determinato mediante



calcinazione in stufa a 650°C del campione secco, ma è stato determinato il cosiddetto TOC (*Total Organic Carbon*) utilizzando il metodo VII.2 previsto dal Decreto del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali del 1999; ciò al fine di quantificare la frazione di carbonio organico ( $f_{oc}$ ) presente in suolo e sedimenti, fattore determinante, come detto in precedenza, nei fenomeni di adsorbimento delle sostanze contaminanti. Non è stato possibile effettuare analisi mineralogiche in quanto, dato il numero elevato di campioni esaminati, questi *tests* sono estremamente onerosi dal punto di vista economico. Dal punto di vista granulometrico la frazione più fine considerata è stata quella al di sotto dei 63  $\mu\text{m}$ , cioè la sommatoria di limo più argilla.

Il livello della contaminazione connessa con le lavorazioni ex-ACNA di Cengio, presente nei campioni prelevati, è stato determinato effettuando analisi chimiche relativamente a 55 inquinanti organici e una serie di inquinanti inorganici (berillio, vanadio, nichel, cromo, cobalto, rame, zinco, arsenico, cadmio, stagno, mercurio, piombo).

Anche in questo caso sono state evidenziate le correlazioni fra la concentrazione degli inquinanti (inorganici previsti da DM 471/99 ed alcuni organici) e determinate caratteristiche di suoli e sedimenti<sup>(9)</sup>.

Nella tabella 2 sono riportati i risultati ottenuti effettuando le indagini sopra citate sui campioni di suolo e di sedimento raccolti. Il “data-set” è costituito da 26 variabili (Profondità, Distanza dallo scarico dello stabilimento ex-ACNA e Distanza dall’alveo della Bormida dei punti di campionamento, % di Sabbia, % di Limo e %Argilla, Valore di blu (Vb), Carbonio Organico Totale (TOC) sul campione passante al setaccio a 2 mm; concentrazioni di Be, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Sn, Hg, Pb e concentrazioni di 1,2,4 triclorobenzene, bifenile, antrachinone, 1,1’ binaftalene, cresoli, naftalene.

Tabella 2 *Data set* utilizzato per l’individuazione delle correlazioni fra i parametri considerati (le lettere dell’alfabeto, alla fine del codice indicano profondità differenti in corrispondenza dello stesso sondaggio; il suffisso EV indica un’evidenza di contaminazione).

ID_CAMP	Prof. (m)	DIST Scarico (m)	DIST Alveo (m)	%Sabbia	%(Limo+Argilla)	Vb	TOC	Be	V	Cr	Co	Ni	Cu	Zn	As
SAL.P.12.2.A	1	-2980	31,7	52,8	37,2	1,7	12,3	1,97	67,31	134,62	11,54	76,92	25,48	76,92	37,02
SAL.P.12.2.F EV	6	-2980	31,7	27,3	45,6	2,0	4,7	1,49	84,16	222,77	18,81	163,37	28,71	79,21	20,30
SAL.P.16.2.A	1	-3354	76,7	41,5	46,0	1,9	13,9	1,77	93,75	218,75	16,67	119,79	45,31	83,33	30,73
SAL.P.16.2.B	2	-3354	76,7	28,7	31,7	1,3	6,2	1,60	75,00	135,00	11,50	70,00	31,00	80,00	33,00
SAL.P.17.2.A	1	-3454	8,2	36,6	50,1	2,3	5,4	2,18	101,94	252,43	16,99	140,78	37,86	92,23	29,61
SAL.P.17.2.B	2	-3454	8,2	18,0	15,7	1,2	3,4	1,57	55,56	116,16	9,60	50,51	16,67	55,56	28,79
SAL.P.17.2.D	4	-3454	8,2	21,7	11,0	0,8	0,7	1,51	56,60	66,04	21,70	30,19	80,19	89,62	33,96
SAL.P.17.2.E	5	-3454	8,2	19,8	6,4	1,0	1,2	1,21	63,11	82,52	8,74	44,17	19,42	72,82	34,95
SAL.P.25.2.F	6	-5154	56,3	13,2	45,3	2,1	3,4	1,98	108,91	262,38	18,32	153,47	25,74	64,36	20,30
SAL.S.14.2.E	5	-3267	41,1	39,1	11,6	1,0	2,3	1,00	47,00	61,00	8,40	29,00	12,00	70,00	34,00
SAL.S.14.2.F	6	-3267	41,1	41,6	13,9	0,5	2,2	1,70	68,00	92,00	9,70	38,00	17,00	83,00	47,00
SAL.S.14.2.H	8	-3267	41,1	26,4	18,7	0,6	1,2	1,50	62,00	95,00	10,00	48,00	19,00	62,00	33,00
SAL.S.14.2.G	7	-3267	41,1	46,6	24,5	0,7	0,5	1,80	69,00	110,00	11,00	44,00	15,00	59,00	36,00
SAL.S.14.2.G EV	7	-3267	41,1	46,0	33,4	0,6	1,3	1,20	61,00	96,00	9,60	40,00	14,00	56,00	34,00
ID_CAMP	Prof. (m)	DIST Scarico (m)	DIST Alveo (m)	%Sabbia	%(Limo+Argilla)	Vb	TOC	Be	V	Cr	Co	Ni	Cu	Zn	As
SAL.S.18.2.A	1	-3618	20,5	68,5	26,6	2,0	6,7	1,90	85,00	150,00	14,00	75,00	26,00	70,00	32,00
SAL.S.18.2.B	2	-3618	20,5	54,6	27,2	2,1	6,3	1,70	74,00	160,00	13,00	89,00	22,00	69,00	31,00
SAL.S.18.2.B EV	2	-3618	20,5	45,2	53,1	2,0	7,2	1,90	97,00	240,00	19,00	150,00	27,00	73,00	26,00
SAL.S.18.2.C	3	-3618	20,5	57,6	40,8	1,6	1	1,70	79,00	180,00	24,00	110,00	22,00	64,00	25,00
SAL.S.18.2.D	4	-3618	20,5	31,5	16,6	0,5	2,3	1,20	53,00	66,00	7,90	31,00	31,00	66,00	26,00
SAL.S.18.2.E	5	-3618	20,5	41,3	20,1	0,5	1,4	1,20	52,00	81,00	8,10	23,00	14,00	52,00	29,00
SAL.S.18.2.F	6	-3618	20,5	21,1	8,1	0,6	1,8	0,85	47,00	61,00	11,00	33,00	13,00	57,00	33,00

<sup>(9)</sup> L’analisi dei dati è stata eseguita solo relativamente a quei campioni in cui la concentrazione delle le sostanze organiche era abbastanza elevata.

SAL.S.20.2.A	1	-4018	36,5	25,9	43,3	3,4	5,8	2,00	120,00	430,00	30,00	300,00	34,00	94,00	13,00
SAL.S.20.2.B	2	-4018	36,5	34,8	35,3	2,2	5,6	1,20	83,00	270,00	17,00	160,00	21,00	64,00	12,00
SAL.S.20.2.C	3	-4018	36,5	33,6	30,6	2,2	6,9	1,80	110,00	310,00	21,00	200,00	47,00	87,00	13,00
SAL.S.20.2.D EV	4	-4018	36,5	35,0	26,1	2,7	5,6	1,90	93,00	200,00	16,00	120,00	22,00	79,00	29,00
SAL.S.20.2.D	4	-4018	36,5	31,8	37,9	2,0	5,3	1,70	96,00	190,00	15,00	110,00	22,00	81,00	29,00
SAL.S.20.2.E	5	-4018	36,5	24,5	39,1	1,9	4,8	1,80	120,00	370,00	31,00	230,00	36,00	92,00	16,00
SAL.S.19.2.A	1	-3655	41,6	40,2	55,0	2,1	10,5	2,00	95,00	210,00	16,00	110,00	39,00	140,00	31,00
SAL.S.19.2.B	2	-3655	41,6	41,0	19,2	2,0	2,6	2,00	91,00	170,00	18,00	86,00	25,00	96,00	39,00
SAL.S.19.2.C	3	-3655	41,6	51,0	32,9	1,6	4,3	1,50	55,00	87,00	13,00	46,00	14,00	73,00	30,00
SAL.S.19.2.D	4	-3655	41,6	28,9	8,7	0,8	2,1	1,30	71,00	120,00	36,00	52,00	26,00	66,00	36,00
SAL.S.19.2.E EV	5	-3655	41,6	36,3	7,6	1,0	3,9	1,35	59,00	110,00	12,00	54,00	15,00	79,00	41,00
SAL.S.19.2.E	5	-3655	41,6	26,4	12,3	0,6	1,3	1,70	53,00	100,00	10,00	47,00	15,00	63,00	28,00
SAL.S.19.2.F	6	-3655	41,6	27,2	13,2	1,3	2,9	1,10	60,00	130,00	12,00	85,00	17,00	60,00	23,00
SAL.S.23.2.A	1	-4883	82,3	46,6	54,1	1,7	6,7	1,40	70,00	120,00	11,00	50,00	27,00	80,00	38,00
SAL.T.02.2.A	1	-1461	50,0	41,4	15,1	1,5	8,5	1,40	50,00	95,00	9,50	55,00	22,00	75,00	40,00
SAL.T.02.2.B	2	-1461	50,0	25,0	6,1	1,5	6,6	0,97	47,00	83,00	9,20	53,00	20,00	83,00	39,00
CEN.P.02.2.A	1	3102	3,4	29,5	15,1	0,9	6	1,30	53,00	87,00	10,00	58,00	20,00	82,00	15,00
CEN.P.02.2.B	2	3102	3,4	61,0	29,6	1,8	32,9	1,90	74,00	130,00	14,00	83,00	32,00	160,00	21,00
CEN.P.02.2.C	3	3102	3,4	52,4	46,0	1,3	32,8	2,20	80,00	110,00	15,00	69,00	39,00	160,00	33,00
CEN.P.02.2.D	4	3102	3,4	45,9	6,8	0,6	2,1	0,93	38,00	49,00	8,30	26,00	13,00	78,00	10,00
CEN.P.02.2.E	5	3102	3,4	40,0	10,0	0,5	0,9	1,30	53,00	53,00	18,00	31,00	19,00	100,00	16,00
SAL.S.15.2.A	1	-3232	36,9	49,4	31,1	1,5	9,4	2,80	74,00	190,00	15,00	99,00	39,00	100,00	38,00
SAL.S.15.2.B	2	-3232	36,9	29,3	18,1	1,2	4,7	1,50	62,00	120,00	11,00	62,00	20,00	86,00	31,00
SAL.S.15.2.C	3	-3232	36,9	34,3	15,2	1,2	2,8	1,20	47,00	68,00	10,00	36,00	17,00	63,00	34,00
SAL.S.15.2.D	4	-3232	36,9	41,2	17,0	0,8	1,2	1,60	66,00	160,00	14,00	86,00	48,00	170,00	21,00
SAL.S.21.2.A	1	-3991	21,0	31,7	67,5	2,2	18,9	1,50	56,00	120,00	6,60	71,00	14,00	110,00	14,00
SAL.S.21.2.B	2	-3991	21,0	53,0	35,5	1,9	10,3	2,20	78,00	140,00	14,00	78,00	18,00	87,00	31,00
SAL.S.21.2.C	3	-3991	21,0	37,0	11,0	1,2	4,3	2,00	69,00	130,00	12,00	54,00	17,00	93,00	33,00
SAL.S.21.2.D	4	-3991	21,0	26,3	14,2	0,6	2	2,20	59,00	84,00	9,40	43,00	23,00	100,00	29,00
CEN.S.01.2.C	3	2032	54,0	55,5	29,3	0,8	11,2	2,20	78,00	210,00	17,00	140,00	33,00	100,00	23,00
SAL.S.23.2.C	3	-4914	89,0	46,9	47,3	2,0	6,2	1,80	100,00	180,00	17,00	100,00	32,00	83,00	39,00
SAL.S.28.2.A	1	-5624	5,0	68,2	31,0	1,8	10,7	1,20	56,00	110,00	11,00	61,00	38,00	82,00	36,00
SAL.S.28.2.B	2	-5624	5,0	72,5	25,8	1,1	7,2	1,60	67,00	93,00	13,00	52,00	29,00	88,00	57,00
SAL.S.28.2.C	3	-5624	5,0	40,6	23,9	1,2	14,2	1,10	49,00	75,00	8,50	48,00	24,00	65,00	35,00
SAL.S.28.2.D	4	-5624	5,0	23,1	8,4	0,9	13,7	0,83	34,00	53,00	12,00	33,00	35,00	58,00	26,00
SAL.S.28.2.E	5	-5624	5,0	51,2	17,6	1,2	13	0,80	41,00	60,00	16,00	40,00	34,00	65,00	27,00
SAL.T.01.2.A	1	-1500	2,0	70,4	9,6	1,9	10,6	1,50	64,00	190,00	11,00	120,00	14,35	69,00	13,00
SAL.T.01.2.B	2	-1500	2,0	41,9	14,0	1,8	5	1,50	64,00	160,00	12,00	89,00	19,00	84,00	26,00
SAL.T.07.2.A	1	-1988	33,7	72,8	24,5	1,5	10	1,90	69,00	120,00	13,00	74,00	26,00	93,00	33,00
SAL.T.07.2.B	2	-1988	33,7	69,4	24,3	1,4	8,2	2,40	73,00	120,00	12,00	68,00	20,00	78,00	37,00
SAL.T.02.2.A EV	1	-1461	50,0	53,4	28,1	1,7	11,8	2,10	80,00	160,00	15,00	90,00	28,00	110,00	34,00
MON.S.02.2.A	1	-13862	250,0	43,7	37,8	2,3	16	0,99	38,00	89,00	8,40	60,00	19,00	110,00	13,00
MON.P.02.2.B	2	-20886	63,0	47,4	42,4	2,0	5,2	1,30	65,00	160,00	12,00	84,00	29,00	89,00	23,00
MON.S.02.2.B	2	-13862	250,0	32,9	62,4	2,3	4,8	1,60	76,00	220,00	18,00	140,00	40,00	210,00	25,00
CEN.T.03.2.B	2	-1797	39,0	58,6	21,4	1,3	2,6	1,40	59,00	100,00	12,00	49,00	17,00	110,00	39,00
MON.S.02.2.C	3	-13862	250,0	4,2	78,4	1,7	3,1	1,10	42,00	130,00	12,00	81,00	44,00	150,00	22,00
MON.P.02.2.E	5	-20886	63,0	55,4	27,8	1,1	1,9	0,82	42,00	53,00	6,20	29,00	17,00	58,00	21,00
MON.P.02.2.C	3	-20886	63,0	32,1	64,8	1,7	3,3	1,80	65,00	170,00	13,00	85,00	20,00	110,00	24,00
<b>ID_CAMP</b>	<b>Prof. (m)</b>	<b>DIST Scarico (m)</b>	<b>DIST Alveo (m)</b>	<b>%Sabbia</b>	<b>%(Limo+Argilla)</b>	<b>Vb</b>	<b>TOC</b>	<b>Be</b>	<b>V</b>	<b>Cr</b>	<b>Co</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>As</b>
MON.P.02.2.D	4	-20886	63,0	44,4	51,3	1,8	4,4	1,50	66,00	160,00	13,00	82,00	36,00	92,00	25,00
MON.P.02.2.A	1	-20886	63,0	42,7	43,9	1,6	12,8	1,30	61,00	160,00	12,00	94,00	57,00	110,00	20,00
MON.P.02.2.G	7	-20886	63,0	24,4	30,9	1,5	4,4	0,70	50,00	110,00	9,50	60,00	20,00	95,00	14,00
CEN.T.02.2.B	2	3424	89,0	70,0	20,2	1,2	2,6	1,70	55,00	60,00	10,00	29,00	18,00	130,00	49,00
MON.P.02.2.F	6	-20886	63,0	71,6	11,5	0,6	1	0,77	33,00	43,00	4,50	18,00	9,60	67,00	21,00
CEN.T.02.2.A	1	3424	89,0	68,5	16,7	1,9	4,8	1,40	62,00	88,00	14,00	47,00	18,00	93,00	39,00
CEN.T.03.2.A	1	-1797	39,0	62,4	19,2	2,0	5,3	1,80	56,00	100,00	10,00	56,00	21,00	110,00	32,00
MIL.T.03.2.A	1	5793	140,0	39,0	41,1	3,3	3,7	1,30	51,00	150,00	10,00	84,00	14,00	56,00	13,00
MON.T.03.2.A	1	-15967	34,6	57,4	42,6	1,5	6,6	1,50	58,00	150,00	14,00	87,00	29,00	73,00	35,00
GOR.T.01.2.A	1	-18618	17,0	51,7	28,0	1,4		1,00	43,00	120,00	10,00	70,00	29,00	65,00	22,00
GOR.T.02.2.A	1	-21674	42,2	28,1	20,3	2,1		1,30	54,00	130,00	12,00	79,00	19,00	64,00	16,00

LEV.T.01.2.A	1	-27074	25,7	63,5	16,3	1,6	9,46	1,10	42,00	110,00	9,30	54,00	15,00	64,00	19,00
SAL.T.12.2.A	1	-7322	121,0	27,4	39,9	2,5	8,1	1,10	71,00	270,00	19,00	180,00	25,00	76,00	13,00
SAL.T.12.2.B	2	-7322	121,0	13,3	21,0	2,3	4,2	1,10	67,00	290,00	20,00	190,00	25,00	61,00	11,00
CAM.T.02.2.A	1	-8905	17,3	45,8	40,3	1,7	13,42	1,20	61,00	180,00	15,00	120,00	28,00	81,00	27,00
BAR.T.01.2.A	1	35114	209,8	25,6	41,6	1,2	8,3	2,10	81,00	55,00	10,00	40,00	26,00	130,00	16,00
OSI.T.01.2.A	1	16766	52,1	19,1	9,4	1,1	15,9	2,40	81,00	66,00	16,00	36,00	31,00	130,00	110,00
MUR.T.02.2.A	1	21180	102,0	35,8	50,5	1,1	12,7	1,60	69,00	55,00	11,00	35,00	29,00	120,00	25,00
CAL.T.07.2.A	1	33952	105,0	35,0	26,1	1,4	7,6	2,10	50,00	39,00	9,00	19,00	14,00	170,00	31,00
BIS.S.02.2.A	1	-60200	47,8	54,8	44,3	2,3	8,6	0,73	58,00	580,00	18,00	200,00	27,00	77,00	13,00
BIS.P.04.2.B.EV	2	-60500	17,9	31,5	56,9	3,0	9,8	1,00	71,00	250,00	18,00	160,00	27,00	90,00	10,00
CEN.S.04.2.B	2	4783	79,0	28,8	19,7	1,4	9,6	1,40	49,00	89,00	10,00	50,00	44,00	84,00	41,00
CEN.S.03.2.C	3	4721	130,0	24,3	37,7	3,1		1,40	65,00	70,00	11,00	46,00	24,00	110,00	14,00
RCV.S.01.2.A	1	7011	26,0	29,8	20,4	0,9	5,6	1,80	40,00	28,00	5,50	15,00	17,00	140,00	13,00
CEN.S.03.2.FG.EV	6	4721	130,0	30,9	35,5	3,1		1,80	59,00	78,00	19,00	54,00	20,00	140,00	22,00
CEN.S.03.2.D.EV	4	4721	130,0	30,8	23,3	2,3		1,60	54,00	74,00	13,00	59,00	30,00	160,00	17,00
CEN.P.01.2.C	3	4765	99,0	34,8	52,6	2,9	1,9	1,60	84,00	220,00	18,00	150,00	27,00	84,00	17,00
CEN.S.03.2.N	11	4721	130,0	34,2	12,6	1,4		1,10	45,00	82,00	11,00	45,00	23,00	68,00	59,00
CAM.T.02.2.B	2	-8905	17,3	25,7	14,3	2,2	10,2	1,20	49,00	140,00	11,00	83,00	42,00	93,00	21,00
SAL.P.07.2.B	2	-2268	32,3	27,5	8,8	0,5	5,9	1,50	45,45	54,55	7,27	22,27	12,73	50,00	25,00
MON.S.01.2.E	5	-14200	20,0	32,2	23,6	0,9	4,2	1,20	41,00	87,00	9,10	53,00	20,00	72,00	25,00

ID_CAMP	Cd	Sn	Hg	Pb	1,2,4 Triclorobenzene	Bifenile	Antrachinone	1,1' Binaftalene	Cresoli	Naftalene
SAL.P.12.2.A	0,34	8,65	0,48	38,46	0,050	0,010	0,030	0,010	0,030	0,000
SAL.P.12.2.F.EV	0,10	5,45	0,13	14,85	0,089	0,009	0,000	0,000	0,000	0,012
SAL.P.16.2.A	0,27	8,85	1,35	34,90	0,387	0,009	0,095	0,047	0,000	0,096
SAL.P.16.2.B	0,19	6,50	0,50	20,00	0,133	0,006	0,027	0,014	0,000	0,000
SAL.P.17.2.A	0,43	6,80	1,84	37,38	0,008	0,011	0,039	0,027	0,000	0,039
SAL.P.17.2.B	0,17	6,06	0,30	26,77	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.P.17.2.D	0,05	7,55	0,00	16,51	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.P.17.2.E	0,15	5,83	0,63	22,82	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.P.25.2.F	0,15	7,43	0,20	14,36	0,009	0,009	0,000	0,000	0,000	0,011
SAL.S.14.2.E	0,12	6,10	0,00	20,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.14.2.F	0,12	7,80	0,12	25,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.14.2.H	0,17	7,10	0,11	21,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.14.2.G	0,23	8,90	0,00	64,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.14.2.G.EV	0,00	7,10	0,00	18,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.18.2.A	0,22	8,00	0,00	32,00	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.18.2.B	0,00	6,90	0,37	22,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.18.2.B.EV	0,16	7,30	0,00	22,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.18.2.C	0,12	7,40	0,00	22,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.18.2.D	0,00	7,00	0,00	14,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
ID_CAMP	Cd	Sn	Hg	Pb	1,2,4 Triclorobenzene	Bifenile	Antrachinone	1,1' Binaftalene	Cresoli	Naftalene
SAL.S.18.2.E	0,00	6,20	0,28	20,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.18.2.F	0,00	5,70	0,42	19,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.20.2.A	0,17	5,40	0,10	17,00	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.20.2.B	0,00	5,40	0,18	17,00	0,000	0,000	0,000	0,005	0,000	0,000
SAL.S.20.2.C	0,19	5,80	0,15	18,00	0,007	0,015	0,000	0,000	0,017	0,018
SAL.S.20.2.D.EV	0,21	6,00	0,00	23,00	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.20.2.D	0,14	6,60	0,42	0,36	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.20.2.E	0,16	5,10	0,00	17,00	0,000	0,006	0,000	0,000	0,023	0,000
SAL.S.19.2.A	0,18	7,00	0,48	44,00	0,014	0,009	0,000	0,000	0,000	0,024
SAL.S.19.2.B	0,21	6,60	0,00	30,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.19.2.C	0,14	5,50	0,00	22,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.19.2.D	0,00	5,20	1,00	17,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.19.2.E.EV	0,29	6,40	0,50	17,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.19.2.E	0,19	7,80	0,00	18,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.19.2.F	0,18	5,50	0,16	16,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

SAL.S.23.2.A	0,16	6,00	2,20	0,34	0,031	0,000	0,000	0,019	0,000	0,020
SAL.T.02.2.A	0,15	5,00	1,70	43,00	0,008	0,000	0,000	0,014	0,000	0,022
SAL.T.02.2.B	0,13	4,80	0,34	42,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CEN.P.02.2.A	0,32	7,20	0,25	36,00	0,000	0,000	0,058	0,000	0,000	0,000
CEN.P.02.2.B	0,26	9,30	0,33	45,00	0,000	0,007	0,085	0,000	0,025	0,016
CEN.P.02.2.C	0,64	8,50	0,00	64,00	0,000	0,007	0,180	0,000	0,130	0,018
CEN.P.02.2.D	0,39	7,40	0,00	15,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CEN.P.02.2.E	0,25	5,80	0,42	20,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.15.2.A	0,36	5,90	0,89	54,00	0,013	0,000	0,030	0,005	0,000	0,014
SAL.S.15.2.B	0,20	6,70	0,36	90,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,039	0,000
SAL.S.15.2.C	0,20	4,70	0,00	24,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.15.2.D	0,21	7,10	0,30	86,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.21.2.A	0,26	4,70	0,00	15,00	0,089	0,010	0,077	0,026	0,000	0,056
SAL.S.21.2.B	0,17	4,90	0,00	28,00	0,008	0,008	0,097	0,010	0,000	0,029
SAL.S.21.2.C	0,30	4,90	0,00	25,00	0,063	0,045	0,190	0,014	0,000	0,083
SAL.S.21.2.D	0,23	4,50	0,00	20,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CEN.S.01.2.C	0,37	6,30	0,41	34,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.23.2.C	0,36	5,80	0,00	34,00	0,130	0,022	0,084	0,110	0,000	0,480
SAL.S.28.2.A	0,19	12,00	2,00	49,00	0,110	0,012	0,092	0,120	0,013	0,110
SAL.S.28.2.B	0,42	13,00	0,25	52,00	0,000	0,007	0,031	0,000	0,000	0,014
SAL.S.28.2.C	0,00	5,00	0,16	31,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.S.28.2.D	0,18	4,40	0,30	17,00	0,000	0,000	0,045	0,000	0,000	0,000
SAL.S.28.2.E	0,21	4,60	0,70	18,00	0,000	0,000	0,027	0,000	0,012	0,000
SAL.T.01.2.A	0,23	5,90	0,16	20,00	0,015	0,000	0,000	0,022	0,000	0,017
SAL.T.01.2.B	0,20	6,40	0,00	34,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.T.07.2.A	0,00	9,80	0,16	40,00	0,040	0,006	0,046	0,059	0,000	0,034
SAL.T.07.2.B	0,00	8,30	0,00	34,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010
SAL.T.02.2.A EV	0,47	9,00	0,75	43,00	0,017	0,007	0,045	0,031	0,000	0,032
MON.S.02.2.A	0,25	6,00	1,90	28,00	0,006	0,007	0,031	0,000	0,000	0,012
MON.P.02.2.B	0,18	7,00	0,00	23,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MON.S.02.2.B	0,46	10,00	1,10	43,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CEN.T.03.2.B	0,23	5,40	1,10	31,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MON.S.02.2.C	0,47	5,60	1,60	48,00	0,000	0,000	0,048	0,008	0,000	0,000
MON.P.02.2.E	0,00	5,80	0,28	14,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MON.P.02.2.C	0,31	6,00	0,11	21,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MON.P.02.2.D	0,31	7,10	0,00	21,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MON.P.02.2.A	0,43	8,50	0,34	47,00	0,014	0,009	0,033	0,007	0,000	0,024
<b>ID_CAMP</b>	<b>Cd</b>	<b>Sn</b>	<b>Hg</b>	<b>Pb</b>	<b>1,2,4 Triclorobenzene</b>	<b>Bifenile</b>	<b>Antrachinone</b>	<b>1,1' Binaftalene</b>	<b>Cresoli</b>	<b>Naftalene</b>
MON.P.02.2.G	0,15	6,00	0,18	13,00	0,000	0,014	0,030	0,000	0,026	0,000
CEN.T.02.2.B	0,21	6,00	0,15	38,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MON.P.02.2.F	0,00	5,30	0,00	11,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CEN.T.02.2.A	0,36	5,70	0,00	38,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CEN.T.03.2.A	0,37	6,10	0,00	31,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016
MIL.T.03.2.A	0,11	6,10	0,00	12,00	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000
MON.T.03.2.A	0,24	7,30	0,00	37,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,011
GOR.T.01.2.A	0,21	7,00	0,31	50,00	0,019	0,000	0,036	0,011	0,000	0,017
GOR.T.02.2.A	0,16	4,50	0,18	19,00	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
LEV.T.01.2.A	0,17	4,10	0,00	17,00	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SAL.T.12.2.A	0,11	5,10	0,00	17,00	0,000	0,000	0,034	0,000	0,000	0,000
SAL.T.12.2.B	0,14	5,00	0,00	11,00	0,000	0,005	0,042	0,000	0,000	0,000
CAM.T.02.2.A	0,17	6,10	0,22	27,00	0,220	0,008	0,088	0,046	0,000	0,070
BAR.T.01.2.A	0,22	6,00	0,00	32,00	0,000	0,000	0,063	0,000	0,000	0,000
OSI.T.01.2.A	0,32	7,60	0,00	44,00	0,000	0,006	0,041	0,000	0,000	0,013
MUR.T.02.2.A	0,28	11,00	0,00	31,00	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,016
CAL.T.07.2.A	0,39	5,50	0,00	27,00	0,000	0,006	0,000	0,000	0,000	0,011
BIS.S.02.2.A	0,20	5,80	0,11	17,00	0,000	0,000	0,029	0,000	0,000	0,000
BIS.P.04.2.BE	0,20	8,50	0,62	17,00	0,000	0,000	0,037	0,000	0,000	0,000
CEN.S.04.2.B	0,34	6,40	0,39	89,00	0,039	0,058	0,920	0,790	0,026	0,860

CEN.S.03.2.C	0,21	4,20	0,00	41,00	0,000	0,008	0,088	0,000	0,000	0,021
RCV.S.01.2.A	0,39	6,00	0,00	50,00	0,000	0,000	0,120	0,000	0,000	0,000
CEN.S.03.2.FG.EV	0,25	4,90	0,00	46,00	0,000	0,013	0,140	0,000	0,017	0,046
CEN.S.03.2.D.EV	0,30	6,40	0,19	79,00	0,000	0,027	0,170	0,000	0,033	0,110
CEN.P.01.2.C	0,24	22,00	0,50	25,00	0,000	0,008	0,070	0,000	0,010	0,027
CEN.S.03.2.N	0,19	7,70	0,00	25,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,011	0,011
CAM.T.02.2.B	0,22	6,90	0,83	31,00	1,100	0,026	0,280	0,140	0,000	0,310
SAL.P.07.2.B	0,00	4,05	0,14	13,18	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MON.S.01.2.E	0,15	9,60	0,12	20,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Le osservazioni e la valutazione delle analisi effettuate sono riportate sinteticamente nel Paragrafo "5 Considerazioni conclusive"

### Campioni di suoli e di sedimenti prelevati all'interno del sito ex-ACNA di Cengio

Questa fase di indagine, realizzata in corrispondenza aree interne allo stabilimento dell'ex-ACNA di Cengio, (Allegato 1 - Figura 5), così come le precedenti, ha avuto come scopo la verifica dell'esistenza di una correlazione fra la concentrazione dei contaminanti e le caratteristiche fisiche e mineralogiche dei campioni esaminati.

Mentre le indagini precedenti hanno soprattutto preso in esame il comportamento degli inquinanti inorganici, in questo caso sono stati presi in considerazione anche alcuni inquinanti organici, in quanto presenti in concentrazioni abbastanza elevate tali da poter essere trattate statisticamente. In particolare oltre a nove contaminanti inorganici ( nichel, cromo, rame, zinco, arsenico, cadmio, stagno, mercurio, piombo), è stato analizzato il comportamento di alcuni contaminanti organici polari (-p-cloroanilina, 1,2,4 triclorobenzene, cresoli) ed di alcuni contaminanti organici non polari (bifenile, antrachinone, 1,1' binaftalene, naftalene).

Per verificare quanto precedentemente esposto, analogamente alla prima fase di studio descritta, oltre al set di dati inerenti le concentrazione di contaminante, sono state determinate le caratteristiche mineralogiche e granulometriche dei suoli ed è stato individuato il Valore di blu (VB). Sono stati selezionati 28 campioni di sedimento, prelevati nell'ambito del Piano di Caratterizzazione effettuato negli anni 2000-2001 (Tabella 3).

Tabella 3 Data-set utilizzato per la determinazione della correlazione di Pearson; valori 0 sono riferiti alle concentrazioni inferiori al limite di rilevabilità. (S=sabbia; L=limo; A=argilla; S-V=Smectite-Vermiculite; I-M=Il lite-Muscovite; Kao=caolinite; TCB=1,2,4 Triclorobenzene; BFN=Bifenile; Ant=Antrachinone; Bn=1,1' Binaftalene; CRE=Cresoli; NA=Naftalene; CLN=p-Cloroanilina.

Campione	S%	L%	A	Vb	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Sn	Hg	Pb	S-V	I-M	Kao%	TCB	BFN	Ant	BN	CRE	NA	CLN
65 VL	60	40	1	0.77	46	43	116	115	23	0.1	5.0	0.2	3681	5	32	12	0	0	0	0	0	0	0
80 VL	55	46	2	2.33	89	74	29	90	8	0.10	1.0	0.2	81	10	25	9	0	0	0	0	0	0	0
84 VL	61	40	1	1.54	78	62	66	87	16	0	1.2	0.3	72	11	24	11	0	0	0	0	0	0	0
87 VL	57	43	1	1.88	96	71	22	71	19	0	1.0	0.10	23	10	25	14	0	0	0	0	0	0	0
91 VL	65	35	0	0.89	73	51	125	160	23	0	2.2	3.7	2133	8	23	12	0	0	0	0	0	0	0
105 VL	53	51	4	1.99	94	72	63	82	16	0.30	1.0	0.3	22	9	23	14	0	0	0	0	0	0	0
133 VL	57	45	2	1.86	118	93	44	99	28	0.7	1.0	0.9	75	6	31	17	0	0	0	0	0	0	7.9
219 VL	78	22	0	0.98	29	26	15	64	19	0.2	2.4	0.4	28	5	43	16	0	0	0	0.17	0	0	0
254 VL	60	41	2	1.20	22	12	0	18	8	0	1.0	0	89	12	53	4	0	0	0	0	0	0	0
259 VL	70	30	1	1.08	50	21	1	22	20	0	1.0	0	63	5	40	5	0	0	0	0	0	0	0
260 VL	50	50	0	2.20	176	101	27	69	15	0	1.0	0	21	6	12	11	0	0	0	0	0	0	0
309 VL	20	85	6	3.39	248	178	40	99	11	0.2	1.0	0	26	11	18	8	0	0	0	0	0	0	0
320 VL	44	58	2	2.19	133	78	29	76	17	0	1.0	0.2	21	9	30	11	0.7	0	0	0	0	0	75.3
321 VL	40	63	3	2.33	143	82	22	71	15	0	1.0	0	30	9	32	11	0.7	0	0	0	0	0	75.3
322 VL	45	58	3	2.31	113	77	17	85	20	0	1.0	0	22	13	30	12	0.7	0	0	0	0	0	75.3
323 VL	21	85	7	2.37	147	120	43	80	6	0.3	1.0	0.9	14	7	15	11	0.7	0	0	0	0	0	75.3
425 VL	67	32	0	0.99	60	56	339	148	87	1.5	1.0	118.4	595	5	29	8	0	0	0	0	0	28	0
426 VL	74	27	1	1.32	37	19	28	42	150	0.2	1.0	6.3	289	2	38	14	0	0	0	0	0	28	0
469 VL	68	32	1	0.77	50	35	37	69	53	0.10	1.0	0.3	81	4	24	17	0	0	0	0	0	0	0
572 VL	60	40	0	1.96	87	67	57	899	63	1.2	1.0	1.1	2275	5	22	8	0	0	0	0	0	0	0
791 VL	92	7	0	0.58	28	30	17	187	21	0.2	1.0	0.2	31	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0
834 VL	23	82	5	2.63	292	218	38	262	12	0.4	1.0	0.2	16	8	22	12	0	0	0	0	0	0	0
969 VL	59	41	0	0.44	584	659	2193	659	262	3.8	1.0	262	282	0	0	0	0.4	0	0	0	0	0	0
1094 VL	74	26	1	1.44	65	54	22	271	36	0.3	1.0	0	30	7	40	12	0	0	0	0	0	0	0
1115 VL	47	54	2	1.76	79	66	40	155	25	0.2	1.0	0.2	69	6	34	15	0	0	0	0	0	0	0
1154 VL	72	28	1	1.88	22	11	97	57	69	0.2	1.0	5.7	104	8	54	4	0	0	0	0	0	0	0
1225 VL	48	55	4	3.07	157	127	27	172	14	0.2	1.0	0.9	12	8	41	9	0	0	0	0	0	0	0
1490 VL	81	19	0	1.31	65	56	132	148	31	0.5	1.0	7.4	386	5	33	15	0.8	0	0	0	0	0	0

Anche in questo caso è stata effettuata un'analisi di correlazione che consente di studiare il grado di associazione, il legame, fra le coppie di variabili. Relativamente ai contaminanti organici, a causa del numero elevato di concentrazioni al di sotto del limite di rilevabilità si è deciso di considerare le sommatorie dei composti organici polari (p-cloroanilina, 1,2,4 triclorobenzene (?), cresoli) e non polari (naftalene; 1,1 binaftalene; 1,1 bifenile e antrachinone), relativamente a 11 campioni. Le osservazioni e la valutazione delle analisi effettuate sono riportate sinteticamente nel Paragrafo "Considerazioni conclusive"

## **Studio di un campione medio composito contaminato da sostanze inorganiche ed organiche**

Nell'ambito del Piano di Caratterizzazione dello stabilimento ex-ACNA di Cengio, in previsione di approfondire le problematiche inerenti la contaminazione di suoli e di sedimenti, sono stati costituiti due campioni medi compositi di terreni contaminati prelevati all'interno del sito stesso: 1) il primo, denominato C1, costituito dai sedimenti di un'area particolarmente inquinata, con lo scopo di utilizzarlo sia per indagini ecotossicologiche utili per la realizzazione di un'analisi di rischio di tipo ecologico, sia per avere a disposizione un Materiale Certificato di Riferimento particolarmente interessante in quanto contaminato da un elevato numero di inquinanti peculiari; 2) il secondo, denominato C2, è stato realizzato per effettuare alcuni test chimico-fisici volti alla comprensione della modalità di contaminazione dei sedimenti, soprattutto relativamente alle differenti frazioni granulometriche.

In particolare, questo secondo campione medio composito <sup>(10)</sup> è stato ottenuto dall'omogeneizzazione di 66 campioni diversi, caratterizzati da concentrazioni di inquinanti particolarmente elevate, prelevati, tra settembre 2000 e gennaio 2001, durante la campagna di caratterizzazione delle aree private del sito ex-ACNA di Cengio, nei depositi alluvionali del fiume Bormida di Millesimo, in diversi punti a profondità differenti (Allegato 1 – Figura 6).

Prima di procedere con la separazione delle varie frazioni granulometriche è stata effettuata una caratterizzazione del campione C2 mediante i seguenti test: caratterizzazione mineralogica per mezzo di analisi diffrattometriche; caratterizzazione granulometrica (propedeutica alla separazione delle varie frazioni granulometriche); prova al blu di metilene alla macchia; capacità di scambio cationico.

### **Separazione delle frazioni granulometriche**

Prima di realizzare la separazione delle frazioni granulometriche del campione medio composito C2 è stato necessario effettuare uno studio *ad hoc* volto a mettere a punto un metodo di separazione, che fosse affidabile, riproducibile e del quale si avesse un'indicazione dell'incertezza del risultato. Per questa operazione sono stati utilizzati cilindri di sedimentazione fatti costruire appositamente e quindi mai testati in precedenza. Al termine della sperimentazione è stata definita una procedura che è stata utilizzata per separare frazioni granulometriche sabbia, limo grosso, limo fine, argilla, partendo dal campione composito C2.

Per testare il miglior modo di procedere sono state effettuate alcune prove in cui sono state fatte variare alcune condizioni relativamente ad alcune fasi del processo: la dispersione del campione (effettuata per allontanare le singole particelle, elettricamente cariche, che tendono a formare piccoli agglomerati), la realizzazione dell'omogeneità della sospensione (tramite l'utilizzo di agitatore ad asse verticale o agitatore orizzontale) e la sedimentazione stessa (tramite l'uso di cilindri di sedimentazione di dimensione diversa).

A seguito della complessa sperimentazione per messa a punto della procedura per la separazione delle frazioni granulometriche del campione C2 è possibile affermare che l'utilizzo dei cilindri di sedimentazione è adeguato in quanto la "purezza" delle frazioni separate è compatibile con le necessità dello studio realizzato, la minor resa nella separazione delle frazioni più grossolane (limo grosso e sabbia), potrebbe essere imputata, oltre ai problemi dei tempi di sedimentazione limitati, al

---

<sup>(10)</sup> Il peso totale è risultato essere pari ai 17.583,5 g, con pesi dei singoli campioni che variano tra 70.5 g e 607.0 g. Il materiale sciolto ottenuto, asciutto, pulverulento e di colore nerastro è stato stoccato in barattoli di vetro della capienza di due litri ciascuno, i quali sono stati conservati tutti nello stesso locale ad una temperatura di circa 20°C.

fatto che nella sedimentazione le particelle di maggior diametro creano turbolenze nel mezzo che potrebbero trascinare verso il basso anche particelle più fini.

### Caratterizzazione delle frazioni granulometriche relative al campione medio composito C2

Tutte le frazioni granulometriche separate partendo dal campione medio composito C2, sono state caratterizzate effettuando: l'analisi mineralogica, il test Blu di Metilene alla Macchia e la Capacità di Scambio Cationico (CSC).

Nelle Tabelle 4,5,6,7 sono riportati i risultati dei test effettuati.

Tabella 4

Fasi mineralogiche	2mm-63 micron	63-4 micron	4-2 micron	< 2 micron
Quarzo	46 %	45 %	28 %	13 %
Albite	23 %	22 %	9 %	9 %
Muscovite	26 %	27 %	31 %	44 %
Clorite-Clinocloro	Tracce	Tracce	17 %	22 %
Cao-Mont	0	0	5 %	9 %
Calcite	Tracce	Tracce	Tracce	Tracce
Diopside	0	0	6 %	0

Tabella 5

Intervallo	Tectosilicati	Fillosilicati
2mm-63 micron	70 %	29 %
63-4 micron	67 %	31 %
4-2 micron	38 %	53 %
< 2 micron	22 %	75 %

Tabella 6

Fillosilicati	< 2 micron
smectite	12 %
Clorite-clinocloro	20 %
Illite/muscovite	30 %
caolinite	14 %

Tabella 7 Valori medi del Valore di Blu e della Capacità di scambio Cationico (CSC) riferiti alle diverse frazioni granulometriche ottenute dal campione composito C2.

CAMPIONE		Vb medio (g blu/100 g campione)	CSC medio (cmol/kg)
Sabbia	(> 0,063 mm) da sedimentazione	0,20	4,15
Limo Grosso	(0,063-0,020 mm) da sedimentazione	0,50	10,25
Limo Fine	(0,020-0,002 mm) da sedimentazione	1,46	18,50
Argilla	(0,063-0,020 mm) da sedimentazione	3,43	44,55
Limo+Argilla	(< 0,063) da setacciatura a umido	1,15	12,3



I dati mostrano, fra l'altro, un aumento progressivo dei valori di Vb e di CSC al diminuire della granulometria; ciò è in accordo col fatto che entrambi i parametri sono indici di una caratteristica tipica delle frazioni più fini, in particolare la capacità, da parte dei minerali argillosi, di catturare e di scambiare cationi.

### **Caratterizzazione chimica delle singole frazioni granulometriche e del campione medio composito C2**

Sulle varie frazioni granulometriche sono state effettuate un'analisi chimiche determinando la concentrazione di 165 analiti di cui 53 elementi e 112 sostanze organiche. Ogni analisi è stata eseguita quattro volte al fine di verificare la variabilità del dato analitico.

Le osservazioni e le valutazioni riportate nel paragrafo "Considerazioni conclusive" hanno preso in considerazione il valor medio delle quattro misure.

Nella Tabella 8 sono riportati il valor medio ed il coefficiente di variazione relativamente a 47 sostanze organiche; nella Tabella 9, analogamente sono indicati il valor medio della concentrazione degli elementi riportati nel DM 471/99 ed il coefficiente di variazione relativo alle quattro ripetizioni analitiche.

Le osservazioni e la valutazione delle analisi effettuate sono riportate sinteticamente nel Paragrafo "5 Considerazioni conclusive"

Tabella 8 Valori medi della concentrazione (mg/kg) e coefficiente di variazione (%), relativamente a 47 sostanze organiche, riferiti alle quattro analisi ripetute, inerenti le frazioni granulometriche Sabbia, Limo grosso, Limo fine e Argilla.

PARAMETRI	SABBIA		LIMO GROSSO		LIMO FINE		ARGILLA	
	MEDIA	CV%	MEDIA	CV%	MEDIA	CV%	MEDIA	CV%
1,1-dinaftalene	1,17	8,21	2,10	4,6	4,43	4,7	7,53	13,1
1,2,3,4-tetraclorobenzene	0,83	7,52	1,20	6,8	2,40	5,9	2,40	12,0
1,2,3,5-tetraclorobenzene	0,21	0,00	0,38	6,6	0,55	6,7	0,42	20,1
1,2,4-triclorobenzene	0,17	10,92	0,49	4,4	0,55	6,5	0,34	30,7
1,2-dicloro-3-nitrobenzene	26,33	8,20	28,00	4,6	47,00	5,1	48,33	11,5
1,2-dicloro-4-nitrobenzene	31,33	9,17	32,33	5,9	56,00	5,1	57,00	11,4
1,4-dicloro-2-nitrobenzene	2,50	8,87	2,40	7,1	3,83	10,5	3,77	11,3
1,5-dinitronaftalene	1,53	22,59	1,77	5,4	3,47	9,7	4,83	11,3
1-cloro-3-nitrobenzene	1,27	11,16	1,06	9,7	1,13	7,2	1,04	19,1
1-cloro-4-nitrobenzene	4,40	12,65	4,50	9,5	4,83	13,0	4,33	12,1
1-naftilammia (alfanaftilammia)	0,23	32,63	0,57	10,2	0,76	11,0	0,99	17,1
1-naftolo (alfanaftolo)	0,21	8,45	0,15	22,2	0,32	23,2	0,28	6,8
1-nitronaftalene	10,10	6,92	13,67	7,0	27,00	5,6	33,67	11,5
2,3-dicloroanilina	0,22	6,53	0,30	7,2	0,45	3,6	0,72	16,1
2,4,5-tricloroanilina	1,17	4,95	1,83	6,9	2,90	2,8	3,17	13,6
2,4,6-trinitrotoluene	0,85	12,32	1,09	15,0	1,60	12,5	2,47	12,2
2,4-dicloroanilina	0,31	34,21	0,61	3,4	0,00	#DIV/0!	0,31	29,7
2,4-dinitrotoluene	20,00	7,50	21,00	8,1	32,33	5,3	44,00	11,6
2,5-dicloroanilina	0,28	17,46	0,54	3,2	0,88	7,4	0,97	11,5
2-cloro-4-nitrotoluene	0,91	247,16	2,47	83,1	1,63	10,5	2,67	60,2
2-cloroanilina	0,11	0,00	0,17	12,5	0,41	5,3	0,50	12,0
2-metilaniilina (o-toluidina)	0,06	10,81	0,21	11,9	0,54	9,5	0,48	13,8
2-naftilammia (betanaftilammia)	0,05	0,00	0,09	2,3	0,23	21,4	0,10	67,6
2-naftolo (betanaftolo)	14,67	134,77	1,47	48,4	2,43	10,3	2,90	28,6
3,4-dicloroanilina	0,40	39,87	0,93	8,0	1,53	5,3	2,00	17,3
4-cloro-2-nitroanilina	0,18	11,11	0,22	5,9	0,31	9,0	0,36	27,6
5-cloro-2-metilaniilina	0,17	10,53	0,50	8,1	1,23	12,9	1,37	7,0
alfa-amminoantrachinone	1,22	21,04	6,50	10,2	5,50	4,5	4,33	13,5
antracene	0,29	3,30	0,48	5,2	0,84	6,1	0,89	29,4
antrachinone	2,40	10,96	6,47	5,8	12,33	7,8	10,27	12,1
benzo [a] antracene	1,15	16,75	1,83	5,2	4,47	4,3	6,07	10,0
benzo [a] pirene	0,19	18,75	0,22	6,4	0,41	6,0	0,51	30,5
benzo [b] fluorantene	0,30	11,84	0,45	4,0	0,87	4,7	1,13	34,8
benzo [ghi] perilene	0,12	27,89	0,18	5,3	0,29	3,3	0,37	32,1
benzo [k] fluorantene	0,12	0,00	0,25	61,2	0,30	8,8	0,38	31,7
clorobenzene	0,23	0,00	0,30	19,2	0,00	#DIV/0!	0,00	#DIV/0!
crisene	0,23	7,43	0,33	13,6	4,03	5,2	3,90	64,9
dibenzo[a,h]antracene	0,03	78,20	0,06	10,9	0,10	8,3	0,13	31,4
difenile	0,36	7,91	0,60	4,1	0,90	5,9	0,84	28,2
Difeniletere	1,17	8,57	1,80	4,5	2,77	6,6	2,63	28,6
fenantrene	0,27	2,11	0,42	5,3	0,73	5,7	0,79	26,7
fluorantene	0,39	7,97	0,57	4,8	1,03	5,8	1,27	30,6
indeno[1,2,3-cd]pirene	0,14	21,43	0,17	2,9	0,31	5,6	0,40	31,7
naftalene	42,33	6,51	16,33	5,0	10,67	5,4	18,00	12,0
nitrobenzene	0,65	37,22	0,43	25,4	0,49	3,7	0,30	19,3
pentacloroanilina	0,64	5,10	1,43	8,1	3,10	3,1	3,73	11,4
pirene	0,28	6,84	0,40	4,3	0,76	4,4	0,93	32,0

Tabella 9 Valori medi della concentrazione (mg/kg) e coefficiente di variazione (%), relativamente a 14 elementi, riferiti alle quattro analisi ripetute, inerenti le frazioni granulometriche Sabbia, Limo grosso, Limo fine e Argilla.

Parametri	SABBIA		LIMO GROSSO		LIMO FINE		ARGILLA	
	MEDIA	CV%	MEDIA	CV%	MEDIA	CV%	MEDIA	CV%
antimonio	4,35	31,8	8,85	11,4	13,50	9,6	10,75	14,0
arsenico	28,50	2,0	52,00	3,1	107,00	9,5	110,00	7,4
berillio	0,83	13,4	1,18	8,1	2,85	32,0	3,38	28,9
cadmio	1,34	50,2	1,06	23,4	2,63	15,7	3,30	18,8
cobalto	13,75	20,9	24,75	2,0	46,75	9,1	49,00	6,0
cromo	117,50	4,3	220,00	0,0	390,00	12,2	410,00	9,1
mercurio	2,88	27,9	8,13	17,7	23,25	19,7	25,75	10,2
nicel	61,50	5,7	152,50	3,3	285,00	8,4	292,50	7,0
piombo	91,25	14,8	207,50	2,4	520,00	21,8	582,50	16,1
rame	89,00	6,5	187,50	2,7	420,00	8,5	435,00	5,8
stagno	15,75	14,1	26,75	1,9	41,25	16,7	32,75	25,5
tallio	0,33	12,9	0,58	20,9	1,33	29,8	1,50	19,6
vanadio	46,25	3,2	72,75	2,8	147,50	19,5	165,00	15,3
zinco	127,50	11,8	190,00	4,3	432,50	22,8	517,50	16,5

# CAMPIONAMENTO ACQUE SOTTERRANEE

## INTRODUZIONE

Suoli e sedimenti contaminati possono essere sorgenti secondarie di contaminazione della falda che spesso è in rapporto idraulico con i corpi idrici (fiumi, torrenti, laghi, ecc.); le interazioni fra l'acquifero ed i corpi d'acqua superficiali possono essere molto complessi in quanto variabili in funzione della permeabilità delle rocce e delle escursioni stagionali dei livelli idrici.

Uno studio approfondito dei rapporti terreno contaminato e acque sotterranee, nonché fra acque sotterranee e corso d'acqua, al fine di valutare travasi di sostanze contaminate fra acque sotterranee e acque superficiali, non può prescindere da un'attenta valutazione circa la modalità di campionamento della matrice acque sotterranee.

Sicuramente importante è la definizione del posizionamento dei pozzi di controllo della falda di subalveo in termini di interferenza che l'emungimento di acqua avrà sul sistema falda - corso d'acqua; parimenti importante è definire una metodica di campionamento che dia informazioni certe e circostanziate circa lo stato di salute delle acque sotterranee.

Obiettivi e metodi per la valutazione della qualità delle acque di falda hanno subito profondi mutamenti durante il corso degli anni. Alcuni anni orsono falde acquifere di grande capacità sono state identificate e monitorate in quanto utilizzate come approvvigionamento per uso potabile. Successivamente, a seguito della presa di coscienza dei problemi di inquinamento degli acquiferi, sono migliorate le tecniche per capire i complessi fenomeni idrogeologici che governano il trasporto dei contaminanti nel sottosuolo. Questo aumento di conoscenza è stato possibile anche grazie all'apporto di nuove tecniche e allo sviluppo delle apparecchiature utilizzate per il campionamento.

In particolare si è compreso quanto fosse importante tener presente due problematiche: 1) l'eterogeneità degli acquiferi sia nel senso geologico del termine, ma anche in termini dei complessi processi chimici, fisici e biologici; 2) il trasporto negli acquiferi delle sostanze colloidali.

In particolare l'importanza a livello chimico delle particelle colloidali in un sistema idrogeologico è andata via via evidenziandosi nel corso degli anni sia tramite studi in laboratorio, che studi in campo, i quali hanno dimostrato migrazioni degli inquinanti più veloci, e a distanze e concentrazioni maggiori di quanto poteva essere previsto dai modelli disponibili. I primi modelli concettuali di trasporto infatti prendevano in considerazione solo l'interazione tra la fase liquida (mobile) e quella solida (immobile), ma non consideravano una ulteriore fase solida mobile e reattiva. E' il riconoscimento di questa terza fase come possibile vettore di contaminanti che ha portato ad un'attenzione sempre crescente verso le modalità in cui i campioni vengono raccolti, conservati e trattati per le successive analisi. Se questa fase solida e mobile è presente con una massa sufficiente, ha capacità di adsorbimento, area sufficientemente estesa e rimane stabilmente in sospensione, può diventare un importante veicolo di trasporto dei contaminanti in molti tipi di sistemi sotterranei.

I problemi legati alla torbidità possono essere mitigati tramite l'utilizzo di tecniche di spurgo a bassa portata, cioè utilizzando il cosiddetto campionamento a Basso Flusso (*Low-Flow sampling*)

### **Confronto fra differenti modalità di campionamento delle acque sotterranee**

Al fine di proporre metodiche di campionamento delle acque sotterranee idonee per verificare l'effettivo trasporto di inquinanti provenienti dal corso d'acqua o che vengono trasferiti al corso d'acqua sono stati effettuati prelievi di acque sotterranee utilizzando strumentazioni e metodiche differenti; in particolare sono stati presi campioni avvalendosi delle seguenti attrezzature:

pompa con valvola di fondo; pompa *bladder* per il campionamento a basso flusso; pompa peristaltica per il campionamento a basso flusso (in corrispondenza di pozzi dove la soggiacenza non era superiore ai 3 – 5 metri); elettropompa sommersa (con associato convertitore di frequenza

per la regolazione della portata di emungimento) utilizzata per lo spurgo dei pozzi associato ad un prelievo, dopo la ristabilizzazione del livello piezometrico, effettuato con *bailer*.

In sintesi, dall'esame dei risultati analitici dei campioni prelevati con strumenti e metodologie differenti, relativamente alle concentrazioni di una serie di elementi, è stato rilevato quanto segue:

- 1) la pompa con valvola di fondo, a causa del meccanismo stesso di prelievo, può produrre una turbolenza nel pozzo nociva al campionamento stesso; inoltre è agevolmente utilizzabile in pozzi poco profondi e per limitate quantità di acqua da campionare;
- 2) sia la pompa *bladder* che la pompa peristaltica, utilizzate per il campionamento a basso flusso, mostrano buoni risultati (tenendo conto dei limiti di prevalenza della pompa peristaltica)
- 3) l'elettropompa sommersa utilizzata consente di estrarre solo portate di emungimento certamente più elevate rispetto al basso flusso; permette di effettuare uno spurgo relativamente veloce del pozzo, ma in caso di completamento e/o sviluppo dello stesso non adeguato, può produrre il richiamo di materiale fine dall'area filtrata e generare un'elevata torbidità del campione; inoltre il *bailer*, successivamente utilizzato per il prelievo di acqua può produrre una turbolenza nel pozzo non auspicabile per il campionamento.

Un'indagine più approfondita è stata effettuata per confrontare i risultati analitici (concentrazioni di 50 elementi) di campioni di acqua sotterranea prelevati utilizzando il campionamento a basso flusso ed il prelievo di acqua tramite *bailer* successivo allo spurgo effettuato eliminando 3 – 5 volte il volume del pozzo con utilizzo di elettropompa sommersa; in questo ultimo caso il campione è stato filtrato mediante una membrana da 0,45 µm e poi acidificato con acido nitrico secondo quanto previsto dal metodo di analisi utilizzato; nel primo caso il campione è stato direttamente acidificato e poi immesso nella strumentazione (ICP-MS) per la rilevazione delle concentrazioni previo passaggio attraverso una membrana da 0,45 µm; quest'ultima operazione viene comunque effettuata al fine di evitare danni alla strumentazione stessa, a causa della possibile presenza di particelle in sospensione di dimensioni troppo elevate.

Per ogni campione sono stati ricercati i seguenti elementi:

Litio, Berillio, Boro, Alluminio, Calcio, Titanio, Vanadio, Cromo, Manganese, Ferro, Cobalto, Nichel, Rame, Zinco, Gallio, Germanio, Arsenico, Selenio, Rubidio, Stronzio, Ittrio, Zirconio, Niobio, Molibdeno, Argento, Cadmio, Stagno, Antimonio, Cesio, Bario, Lantanio, Cerio, Praseodimio, Neodimio, Samario, Europio, Gadolinio, Terbio, Disprozio, Olmio, Erblio, Tulio, Itterbio, Tantalio, Tungsteno, Mercurio, Tallio, Piombo, Bismuto, Torio, Uranio.

I campioni sono stati prelevati in corrispondenza dei pozzi di controllo ubicati lungo il corso del Bormida di Millesimo, realizzati nell'ambito della caratterizzazione delle aree pubbliche contaminate dallo stabilimento ex-ACNA di Cengio.

Al fine di confrontare i dati analitici determinati, provenienti dai due campioni diversamente prelevati ed analizzati, i dati stessi sono stati esaminati come segue:

È stato effettuato il rapporto fra la concentrazione di tutti elementi determinata sul campione effettuato con le tecniche del basso flusso (BF) e la concentrazione degli elementi determinata sul campione prelevato tramite *bailer* dopo lo spurgo effettuato con pompa sommersa (SB). Nel caso in cui il rapporto sia inferiore a uno il valore della concentrazione dell'elemento riferito al campione BF è inferiore a quello SB, se il rapporto è superiore la concentrazione dell'elemento riferito al campione BF è superiore a quello SB. Occorre inoltre considerare che il risultato analitico è affetto da incertezza peraltro non indicata nei referti analitici; per cui è stato stimato un valore di incertezza media del 10% per cui di fatto la concentrazione del campione BF viene considerata più bassa per valori del rapporto inferiori a 0,90; la concentrazione del campione BF viene invece considerata più elevata per valori del rapporto maggiore di 1,10;

Prendendo in considerazione tutti gli elementi relativamente a tutti i campioni esaminati risulta che nel 46% dei casi circa, le concentrazioni dei campioni BF sono inferiori alle concentrazioni dei campioni SB, nel 32% circa dei casi le concentrazioni dei campioni BF sono invece superiori, nei rimanenti casi sono invece confrontabili. Questa comparazione è difficilmente interpretabile in

quanto comprende molti elementi con peculiarità differenti, inoltre in molti casi le concentrazioni rilevate sono inferiori ai limiti di rilevabilità dello strumento per cui l'uguaglianza del risultato è dovuta alla mancanza dell'elemento stesso.

Più significativo può essere comparare i dati di alcuni specifici elementi. Si rileva che gli elementi Hg ,Cd, Sn ,Be, Ti e Se, che in molti campioni presentano concentrazioni al di sotto del limite di rilevabilità, i risultati risultano comparabili in percentuali molto elevate; Al, Mn, Sb, Pb, mostrano in oltre il 60% dei casi, concentrazioni più elevate per i campioni BF che per i campioni SB; comunque anche in caso di Fe, Co, Ni, Cu, V, Zn, più della metà dei campioni riconferma la situazione precedentemente descritta; solo As Cr, la concentrazione dei campioni BF è inferiore a quella dei campioni SB (Tabella 10 ).

Le osservazioni e la valutazione delle analisi effettuate sono riportate sinteticamente nel Paragrafo "5 Considerazioni conclusive"

Tabella 10 Confronto dei risultati analitici relativi ai due metodi campionamento, effettuato rapportando le concentrazioni relative BF con le concentrazioni relative a SB. Il colore verde evidenzia il rapporto fra le due concentrazioni uguale ad 1 (considerando un'incertezza media del risultato del 10%); il colore azzurro evidenzia il rapporto fra le due concentrazioni maggiore ad 1; il colore giallo evidenzia il rapporto fra le due concentrazioni inferiore ad 1.

<b>Al</b>	n. Campioni	% Campioni	<b>Fe</b>	n. Campioni	% Campioni	<b>Mn</b>	n. Campioni	% Campioni
0.9-1.1	1	4,20%	0.9-1.1	2	8,30%	0.9-1.1	2	8,30%
>1.1	17	70,80%	>1.1	14	58,30%	>1.1	15	62,50%
<0.9	6	25%	<0.9	8	33,30%	<0.9	7	29,17%
<b>As</b>			<b>Hg</b>			<b>Cr</b>		
0.9-1.1	4	16,66%	0.9-1.1	22	91,66%	0.9-1.1	6	25%
>1.1	10	41,66%	>1.1	1	4,20%	>1.1	5	20,83%
<0.9	10	41,66%	<0.9	1	4,20%	<0.9	13	54,17%
<b>Cd</b>			<b>Sn</b>			<b>Sb</b>		
0.9-1.1	19	79,17%	0.9-1.1	17	70,80%	0.9-1.1	1	4,20%
>1.1	3	12,50%	>1.1	5	20,83%	>1.1	16	66,67%
<0.9	2	8,30%	<0.9	2	8,30%	<0.9	7	29,17%
<b>Be</b>			<b>Co</b>			<b>Ni</b>		
0.9-1.1	21	87,50%	0.9-1.1	4	16,66%	0.9-1.1	1	4,20%
>1.1	2	8,30%	>1.1	13	54,17%	>1.1	13	54,17%
<0.9	1	4,20%	<0.9	7	29,17%	<0.9	9	37,5
<b>Pb</b>			<b>Cu</b>			<b>Se</b>		
0.9-1.1	1	4,20%	0.9-1.1	4	16,66%	0.9-1.1	22	91,66%
>1.1	18	75%	>1.1	13	54,17%	>1.1	1	4,20%
<0.9	5	20,80%	<0.9	7	29,17%	<0.9	1	4,20%
<b>Ti</b>			<b>V</b>			<b>Zn</b>		
0.9-1.1	22	91,66%	0.9-1.1	4	16,66%	0.9-1.1	2	8,30%
<b>Al</b>	n. Campioni	% Campioni	<b>Fe</b>	n. Campioni	% Campioni	<b>Mn</b>	n. Campioni	% Campioni
>1.1	1	4,20%	>1.1	14	58,33%	>1.1	13	54,17%
<0.9	1	4,20%	<0.9	6	25	<0.9	9	37,5

## CONCLUSIONI

Con il presente studio si è tentato di dare un contributo alla valutazione dello Stato chimico dei sedimenti, nonché alla definizione di metodi per la rilevazione e la valutazione della qualità dei sedimenti, con particolare riguardo a quelli depositatisi a seguito dell'azione di corsi d'acqua: Questo ai fini dell'implementazione del Decreto Legislativo 152/99 e sue successive modifiche ed integrazioni.

Sono state effettuate indagini al fine di evidenziare eventuali correlazioni fra le concentrazioni di alcuni parametri chimici ed alcuni descrittori di suoli e sedimenti al fine elaborare modelli concettuali che spieghino alcuni meccanismi di contaminazione di queste matrici ambientali. L'analisi dei dati ottenuti ha consentito di ricavare alcune indicazioni circa la modalità di contaminazione dei sedimenti che possono essere sintetizzate come segue:

- appare evidente che le concentrazioni degli inquinanti inorganici considerati dipendono non solo dalla distanza dalla sorgente di contaminazione, dalla distanza dall'alveo del Bormida di Millesimo (le acque del fiume costituiscono il veicolo principale di contaminazione dei sedimenti alluvionali adiacenti al corso d'acqua) e dalla profondità alla quale si trova il sedimento, ma anche dalle caratteristiche granulometriche, dalle peculiarità mineralogiche e dalla quantità di sostanza organica presente nel terreno campionato;

- risulta abbastanza chiaro che le varie caratteristiche del suolo e dei sedimenti hanno affinità diverse rispetto agli inquinanti analizzati e quindi operano una selettività nel legare l'uno o l'altro degli elementi considerati.

- Rame, Zinco, Cadmio e Berillio sembrano legarsi di preferenza alla sostanza organica e quindi risultano in parte sottratti ad interazioni con le altre componenti del suolo;

- per quanto concerne i processi di interazione tra specie inquinanti inorganiche e minerali argillosi sembra emergere una stretta correlazione tra: le concentrazioni di Nichel e di Cromo e la percentuale di Smectite-Vermiculite; la concentrazione di Arsenico (in alcuni casi anche di Mercurio) con la percentuale di Illite-Muscovite e Caolinite (il comportamento di questi elementi sembra comunque variare in funzione del pH del sedimento); la concentrazione di Piombo e la percentuale di Illite-muscovite e, più in generale, alla presenza di fasi mineralogiche carbonatiche (es. calcite);

- relativamente ad alcuni elementi (Cr, Ni e V) si può notare una correlazione più stretta tra la concentrazione del contaminante e il Valore di blu di metilene, rispetto al dato granulometrico: ciò sembra indicare che la tipologia mineralogica abbia maggior peso rispetto alla quantità di frazione fine;

- per ciò che concerne le sostanze organiche polari (p-cloroanilina, cresoli, ecc.) si è osservato che mostrano correlazioni significative con limo e argilla, frazioni granulometriche in cui si concentra la fase mineralogica Smectite-Vermiculite, la quale mostra affinità con tali sostanze. I composti organici non polari (naftalene; 1,1' binaftalene; bifenile e antrachinone) non mostrano correlazioni con le fasi argillose dei campioni esaminati.

- si sottolinea come tutti i dati esaminati confermino che la prova "*Blu di metilene alla macchia*" sia un buon "test", per la caratterizzazione dei geomateriali in quanto, con oneri decisamente inferiori ad altre metodiche di indagine, in termini di costi e di tempi, consente di avere indicazioni relativamente precise circa la quantità di argilla e la quantità di minerali argillosi "attivi" (rispetto ai contaminanti) nei campioni di suolo e/o di sedimento indagati. Interessante è il modello di correlazione lineare che evidenzia la dipendenza stretta del Valore di blu dalla Capacità di scambio cationico.

Per quel che concerne l'investigazione realizzata al fine di individuare una modalità di campionamento più idonea all'identificazione di sostanze inorganiche delle acque sotterranee, il confronto fra il campionamento Basso Flusso (BF) con pompa *bladder* ed il prelievo tramite *bailer*

dopo lo spurgo effettuato con pompa sommersa (SB), ha consentito di effettuare le seguenti considerazioni:

- i campioni con metodo SB, se non filtrati tramite membrana da 0,45  $\mu\text{m}$  prima del trattamento con acido nitrico, mostrano concentrazioni totali dei vari elementi mediamente maggiori, a causa della più elevata torbidità dell'acqua, rispetto al metodo BF, sia relazione della modalità di prelievo, sia a causa del tipo di spurgo effettuato con pompa sommersa; il metodo BF, a causa della limitata sollecitazione del pozzo, riduce in modo significativo, anche se non elimina completamente, le problematiche (eg. trascinarsi di materiale in sospensione) connesse con una realizzazione non perfetta del completamento e dello sviluppo del pozzo;
- al contrario gli elementi effettivamente disciolti mostrano concentrazioni più elevate nei campioni BF in conseguenza dell'idoneità del metodo basso flusso e della pompa *bladder* di mantenere gli elementi in soluzione a seguito della mancanza di contatto con aria del campione nella pompa ed un rimescolamento molto ridotto del campione;
- in caso di elementi come Al, Fe, Mn, Pb, Co che possono formare sospensioni colloidali, anche abbondanti nelle acque sotterranee, o comunque sono suscettibili di essere trasportati da particelle colloidali che si muovono all'interno dei meati dell'acquifero, le concentrazioni relative al BF sono decisamente più elevate rispetto all'SB, in quanto dette sospensioni vengono eliminate dalla filtrazione prima dell'attacco acido.

L'articolata sperimentazione al fine di definire una metodologia efficace per separare le diverse frazioni granulometriche, nell'intervallo limo-argilla, effettuata in quanto non erano noti agli scriventi lavori scientifici che fornissero informazioni sulla relazione fra le diverse procedure di separazione e la variabilità dei risultati delle analisi granulometriche, ha consentito di attestare la validità dei cilindri di sedimentazione fatti appositamente costruire da ARPA Piemonte e di definire una procedura che ottimizza i risultati della separazione definendo i quantitativi ottimali di materiale da trattare in ogni singola separazione, le modalità di dispersione e di agitazione del sedimento più efficienti.

Lo studio della contaminazione delle frazioni granulometriche ottenute da un Campione medio composito (denominato nel testo C2) ha consentito di effettuare interessanti osservazioni e di elaborare modelli interpretativi circa le modalità di inquinamento dei sedimenti relativamente a contaminanti inorganici ed organici.

Gli elementi mostrano, tendenzialmente, un aumento della concentrazione al diminuire della granulometria delle varie frazioni separate; considerando gli elementi compresi nell'allegato 1 del D.M. 471/99, fanno eccezione a questa tendenza generale, Antimonio e Stagno, in corrispondenza dei quali si nota un aumento della concentrazione passando da sabbia a limo grosso a limo fine, per diminuire in corrispondenza della frazione argillosa; nel caso del Cadmio si nota una concentrazione più elevata in corrispondenza della frazione sabbiosa rispetto alla frazione limoso grossolana, per poi aumentare nelle frazioni Limo fine e Argilla secondo il "trend" più frequentemente osservato.

Anche tenendo conto del fatto che il globale aumento della concentrazione con il diminuire della granulometria potrebbe essere connesso con la modalità di estrazione degli elementi dalla frazione solida, tramite mineralizzazione con Acqua Regia, in quanto essa porta verosimilmente in soluzione una quantità di materiale maggiore in corrispondenza delle frazioni più fini; in ogni caso anche tenendo in considerazione le quantità, in percentuale, di matrice solida non solubilizzata, relativamente alle diverse frazioni granulometriche, la situazione non cambia ad eccezione fatta per il Berillio e, in misura minore per lo Zinco, in cui si nota una concentrazione maggiore in corrispondenza della sabbia rispetto al limo grosso.

Relativamente alle sostanze organiche, anche a causa di una maggiore difficoltà analitica nell'ottenere il risultato, la descrizione dei dati risulta essere più articolata; un'analisi dei dati stessi più attenta ha consentito di formulare le considerazioni e l'interpretazione di seguito riportate.



Alcune anomalie, rispetto all'andamento della concentrazione in funzione della granulometria sopra descritto, per alcune sostanze (crisene, difenile, difenilettere, 1-naftilammina, 2-naftilammina, 2-metilammina, l'1,4-dicloro-2-nitrobenzene, 2-cloro-4-nitrotoluene) può essere di fatto solo apparente in quando le concentrazioni discordanti con la regola generale risultano essere percentualmente inferiori alla variabilità analitica, dovuta ad errori casuali, che in alcuni casi è molto elevata. Inoltre relativamente alla 2,4-dicloroanilina è possibile che il comportamento assai anomalo di questa sostanza sia legato a problemi di determinazione analitica connessi con una cattiva separazione cromatografica della 2,5-dicloroanilina.

Eccezioni chiaramente evidenti rispetto al comportamento più diffuso sopra descritto, sono state rilevate relativamente alle sostanze o classi di sostanze riportate di seguito.

Relativamente ai *Policlorobenzene* (*tri-* ed i *tetra-clorobenzene*) si nota comunque una tendenza all'aumento delle concentrazioni nelle frazioni granulometriche più fini, a causa, verosimilmente, ad interazioni di Van der Waals del tipo dipolo-permanente/substrato, fino al limo fine; l'anomalia riscontrata nelle argille (concentrazione inferiore a quella presente nel limo fine) potrebbe essere legata alla procedura di separazione della fase granulometrica, che prevede una permanenza in sospensione acquosa di alcuni giorni (contro un massimo di 24 ore per il limo fine): minori temperature di ebollizione rispetto agli idrocarburi policondensati, ai dicloronitrobenzene ed ai nitroderivati aromatici considerati, impossibilità di protonazione in fase acquosa (possibile per le ammine aromatiche) potrebbero determinare in queste condizioni una perdita per volatilizzazione, attraverso un passaggio dal sedimento, alla fase acquosa e quindi in atmosfera.

I *monocloronitrobenzene* sembrano mostrare una vera eccezione alla regola generale: in questo caso le concentrazioni sembrano variare pochissimo da una frazione granulometrica all'altra (variazioni massime dell'11% per l'1-cloro-4-nitrobenzene e del 20% per l'1-cloro-3-nitrobenzene con valori medi del CV% rispettivamente del 12% in entrambi i casi); le cause di questo comportamento, peraltro non facile da spiegare, potrebbero essere ricercate in una minore lipofilia dei monocloroderivati rispetto ai dicloroderivati ed alla contemporanea assenza di un gruppo basico (come accade per le ammine) che possa interagire con il substrato (ad esempio con gli acidi umici dello stesso).

Nel caso di alcuni *clorobenzene* (*1,2,4-triclorobenzene* e *1,2,3,5-tetraclorobenzene*) si nota un aumento delle concentrazioni fino al limo fine ed una diminuzione in corrispondenza della fase argillosa.

Per naftalene, clorobenzene e nitrobenzene, sostanze ad alta volatilità, la manipolazione del campione potrebbe essere causa di un completo rovesciamento dei risultati per cui si hanno concentrazioni più elevate nelle frazioni più grossolane.

Esiste infine un gruppo di sostanze non idrofile (hanno solubilità in acqua da quasi nulla a "bassa") e nello stesso tempo scarsamente lipofile (si sciolgono con difficoltà anche nei solventi organici spiccatamente apolari come il n-esano): si tratta dei *chinoni* (*antrachinone* e *1-amminoantrachinone*) e dei *naftoli* (1-naftolo e 2-naftolo). Per quanto riguarda i due chinoni o antracendioni considerati, è possibile affermare che si osserva una curva a campana con un massimo sul limo grosso per l'*1-amminoantrachinone* e sul limo fine per l'*antrachinone*: l'andamento potrebbe trovare ancora una spiegazione nella modalità di preparazione del campione. La collocazione dei due massimi troverebbe infatti una spiegazione di questo tipo: supponendo di partire da una situazione iniziale in cui vale la regola generale enunciata ovvero da una situazione iniziale alternativa in cui tutte le frazioni relativamente fini (limo e argilla) contengono grosso modo la stessa quantità di analita e considerando che la solubilità in acqua dell'antrachinone è minore di quella dell'1-amminoantrachinone, si determinerebbe un'involontaria estrazione differenziata dell'analita dal campione in fase di vagliatura ad umido, con perdite maggiore di 1-amminoantrachinone nelle frazioni per le quali i tempi di permanenza in fase acquosa sono maggiori (limo fine e argilla).

Per quanto riguarda i *naftoli*, è possibile al momento affermare soltanto quanto segue:

per l'*1-naftolo* non si osserverebbe significativa dipendenza della concentrazione dalla granulometria; si tratta d'altronde di una sostanza con solubilità in acqua comunque apprezzabile (866 mg/L a 25°C) per cui non si evidenzia la tendenza ad accumularsi nei sedimenti più fini; difficile da spiegare è il comportamento del *2-naftolo*, la cui presenza enormemente più alta nella frazione più grossolana può essere solo spiegata con una disomogeneità del campione (è possibile la presenza nel campione di particelle solide con alto contenuto di *2-naftolo* proveniente da ben individuata produzione industriale).

Appare evidente che, indipendentemente dalla classe di appartenenza, le sostanze più volatili considerate nel presente studio (es. clorobenzene, naftalene e nitrobenzene) hanno mostrato, senza eccezione, un comportamento caratterizzato da un andamento completamente anomalo rispetto alla regola generale, con un'evidente diminuzione delle concentrazioni al diminuire della granulometria: la procedura di separazione e quindi la permanenza in acqua potrebbe essere la causa di una perdita di analita, che sicuramente passa dapprima in fase acquosa (fino a raggiungere un equilibrio legato alle solubilità) e da questa all'atmosfera per volatilizzazione.

Complessivamente il presente studio ha consentito:

- di individuare e di determinare alcuni parametri descrittivi del comportamento dei sedimenti relativamente alla loro capacità di attrarre e trattenere gli inquinanti (caratteristiche granulometriche, Capacità di Scambio cationico, presenza di minerali argillosi, tipologia di minerali argillosi "attivi" nei confronti degli inquinanti, contenuto di sostanza organica, valore di blu di metilene);
- di ritenere opportuno, anche in mancanza di ulteriori indicazioni, il campionamento delle frazioni più fini (meglio se inferiori a 0.063 mm), nell'ambito di un sedimento da indagare; questo perché i processi di *sorption* appaiono predominanti in questa frazione granulometrica e parimenti risultano più complessi e lenti i fenomeni di desorbimento;
- di consigliare il campionamento di terreni più ricchi in sostanza organica;
- in indicare come test propedeutici per la scelta dei campioni da sottoporre ad indagine analitica completa, solitamente molto onerosa, il contenuto in sostanza organica e ed il valore di blu di metilene che, si ricorda, fornisce informazioni attendibili relative alla granulometria ed al contenuto mineralogico dei suoli e/o sedimenti campionati;
- limitare l'uso dell'acqua nel trattamento preliminare del campione da sottoporre ad analisi, che potrebbe dilavare o favorire il passaggio in atmosfera dei composti più volatili;
- di evidenziare che l'ubicazione dei punti campionamento, sia utilizzando strategie di monitoraggio di tipo statistico (campionamento casuale, a maglie regolari, ecc.) o di tipo ragionato (distanza dalla sorgente di inquinamento, profondità di prelievo del campione, ecc.), non può prescindere dalla conoscenza dei descrittori del comportamento di suolo/sedimento rispetto alle capacità di interagire con le sostanze inquinanti;
- di evidenziare che la valutazione della contaminazione di sedimenti deve prevedere una conoscenza di alcune caratteristiche degli inquinanti (polarità, volatilità, solubilità, ecc.) al fine di progettare modalità di campionamento idonee e modalità congrue di pretrattamento del campione che precedono l'analisi vera e propria.

## BIBLIOGRAFIA

Adamo, P., Arienzo, M., Bianco, M. R., Terribile, F., Violante, P., 2002. Heavy metal contamination of the soil used for stocking raw materials in the former ILVA iron-steel industrial plant of Bagnoli (southern Italy). Elsevier, the Science of the Total Environment 295, pp. 17 – 34.

AFNOR Norme française NF P 94-068, 1993. Mesure de la quantité et de l'activité de la fraction argileuse. Association française de Normalisation, Paris La Défense.

Barcelona, M. J., Gibb, J. P., Helfrich, J. A., Garske, E. E., 1985 - Practical guide for ground-water sampling. Illinois State Water Survey, Campaign, ISWS Contract Report 374, 94 pp.

BS, 1990. British Standard Methods of test for Soil for civil engineering purposes. Part 1.- Part 2. General requirements and sample preparation. BS 1377: Part 1: 1990.; Part 2: 1990, 26 pp. e 61 pp

Cairo, S., 2004. Caratterizzazione mineralogica di suoli e sedimenti di un'area inquinata della valle Bormida. Alessandria, Tesi di Laurea in Chimica, Anno accademico 2002/2003.

Chiappane, A., Scavia, C., 1999. La prova al blu di metilene nella caratterizzazione geotecnica: un'applicazione allo studio della stabilità di versante. Rivista Italiana di Geotecnica, Anno XXXIII, n.4, Ottobre-Dicembre 1999.

Chiappane, A., Marellò, S., Scavia, C. Setti, M., 2004. Clay mineral characterization through the methylene blue test: comparison with other experimental techniques and applications of the method. Canadian Geotechnical Journal Vol. 41, pp.1168-1178, 2004.

CNR, 1971. Analisi granulometrica di una terra mediante crivelli e setacci. Bollettino Ufficiale, Norme Tecniche, Anno V, n. 23.

Decreto Ministeriale, 13 settembre 1999. Approvazione dei “Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo”.

Supplemento ordinario della G.U., n. 248 del 21 ottobre 1999 - Serie generale.

Giampaolo, C., Lo Mastro, S., 2000. Analisi quantitativa delle argille mediante Diffrazione a raggi X. AIPEA-CNR, Atti del corso di formazione “Metodi di analisi di materiali argillosi”, Tito Scalo, 28-30 settembre 1999, pp. 109 – 146.

Gozzellino, I., 2004. Modalità di contaminazione di suoli e di sedimenti (Ricerca bibliografica). Tesi di Laurea triennale in Scienze Ambientali e Gestione del Territorio, 64 pp.

Guyot, J. L., Jouanneau, J. M., Wasson, J. G., 1999. Characterisation of river bed and suspended sediments in the rio Madeira drainage basin (Bolivian Amazonia). Elsevier Science Ltd., Journal of South America Earth Sciences, 12, pp. 401 – 410.

Huang, K. M., Lin, S., 2003. *Consequences and implications of heavy metal spatial variations in sediments of Keelung River drainage basin, Taiwan*. Elsevier Science Ltd., Chemosphere, 53, pp. 1113 – 1121.

- Konhauser, K. O., Powell, M. A., Fyfe, W. S., Longstaffe, F. J., Tripathy, S., 1997. Trace element geochemistry of river sediment, Orissa state, India. Elsevier Science B. V., *Journal of Hydrology*, 193, pp. 258 – 269.
- Lee, S., Moon, J., Moon, H., 2003. Heavy metals in the bed and suspended sediments of Anyang river, Korea: implications for water quality. *Environmental Geochemistry and Health*, vol 25, pp. 433-452.
- Lin, J. Gaw, Chen, S. Y., 1998. The relationship between the adsorption of heavy metal and organic matter in river sediments. *Environmental International*, vol. 24, n. 3, pp. 345 – 351.
- Mitchell, J. K., 1993. *Fundamentals of soil behavior*. 2a Edizione, New York, John Wiley e Sons, Inc., 437 pp.
- Moore, D. M., Reynolds, R. C., 1997. *X – ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals*. Oxford University Press-Oxford, 378 pp.
- Rubio, B., Nombela, M. A., Vilas, F., 2000. Geochemistry of major and trace elements in sediments of the Ria de Vigo (NW Spain): an assessment of metal pollution. Elsevier Science Ltd., *Marine Pollution Bulletin*, vol. 40, n. 11, pp. 968 – 980.
- Sanghoon, L., Moon, J. W., Moon, H. S., 2003. Heavy metals in the bed and suspended sediments of Aniyang river, Korea: implications for water quality. Netherlands, Kluwer Academic Publisher, *Environmental Geochemistry and Health*, 25, pp. 433 – 452.
- Santos, A., Alonso, E., Callejon, M., Jiménez, J. C., 2002. Heavy metal content and speciation in groundwater or the Guadiamer river basin. Elsevier Science Ltd., *Chemosphere*, 48, pp. 279 – 285.
- Soares, H. M. V. M., Bonaventura, R. A. R., Machado, A. A. S. C., Esteves da Silva, J. C. G., 1999. Sediments and monitors of heavy metal contamination in the Ave river basin (Portugal): multivariate analysis of data. Elsevier Science Ltd., *Environmental Pollution*, 105, pp. 311 – 323.
- Tessier, A., Campbell, P. G. C., and Bisson, M., 1980. Trace metal speciation in the Yamaoka and St. Francois Rivers (Quebec). *Can. J. Earth Sci.*, vol. 17, pp. 90-105.
- Tsai, L. J., Yu, K. C., Chang, J. S., Ho S. T., 1998. Fractionation of heavy metals in sediments cores from the Ell-Ren river, Taiwan. Elsevier Science Ltd., *Water Science Tachnology*, vol. 37, n. 6-7, pp. 217 – 224.
- Woitke, P., Wellnitz, J., Helm, D., Kube, P., Lepom, P., Litheraty, P., 2003. Analysis and assessment of heavy metal pollution in suspended solids and sediments of the river Danube. Elsevier Science Ltd., *Chemospere*, 51, pp. 633 –642.





## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs.152/99”.**

### **Sottoprogetto**

**“Biomonitoraggio delle acque correnti mediante l’impiego di indicatori algali”.**

**Responsabile scientifico: Dott. ssa Bona Griselli  
Dipartimento Sub provinciale di Ivrea**

**Autori: Bona Griselli, Maura Ghione, Pierluigi Fogliati, Arianna Nicola,  
Carla Stivaletti, Patrizia Zambelli**



## ABSTRACT

L'esigenza di adottare nuove metodologie, per implementare lo studio dei corpi idrici, nasce dalla presa di coscienza comune, che le sole analisi chimico-fisiche e microbiologiche, eseguite sull'acqua di scorrimento, non sono più sufficienti a fornire un quadro completo ed esaustivo dello stato di salute dei corpi idrici, che vanno considerati nella loro complessità ecosistemica.

Per questo vengono sempre più frequentemente affiancate alle indagini tradizionali, tecniche di biomonitoraggio, che consentono di acquisire informazioni sulla struttura e funzionalità della componente biotica animale e vegetale degli ecosistemi.

La valutazione dell'Indice Biotico Esteso è entrata nella legislazione italiana nel 1999 con il Decreto Legislativo n° 152. Lo stesso Decreto prevede che debbano essere elaborati anche altri metodi di biomonitoraggio, che prendano in esame i vari comparti dell'ecosistema fluviale; la *Direttiva Europea 2000/60/CE* precisa inoltre quali comparti biologici debbano essere approfonditi e tra questi è incluso il fitobenthos.

Tra i numerosi taxa, che compongono il fitobenthos, quello più studiato e sperimentato è sicuramente rappresentato dalle Diatomee o Bacillariofite (Prygel et al., Kelly et al., 1995).

Nel presente studio sono stati analizzati i popolamenti diatOMICI su un importante corpo idrico piemontese: la Dora Baltea.

Dall'analisi eseguita su dieci stazioni, distribuite lungo il corpo idrico con cadenza stagionale, è stato possibile sperimentare la metodologia in ambiente prealpino e padano. Sono stati elaborati e messi a confronto vari indici diatOMICI, sia di qualità generale, che integrano la saprobia, la trofia e l'alofilia, sia indici mirati ad individuare il carico organico oppure i nutrienti. Si è evidenziato che l'adozione congiunta di un indice generico e di indici trofici e saprobici consente una miglior definizione delle condizioni del corpo idrico.

Dall'applicazione di opportune tecniche di elaborazione statistica, che si basano sull'analisi multivariata, è stato possibile acquisire ulteriori informazioni sull'influenza di parametri chimico-fisici sulla struttura delle comunità diatOMICHE, evidenziando dei gradienti ambientali, che ne condizionano maggiormente la composizione. L'individuazione inoltre di specie indicatrici ha consentito di comprendere maggiormente le caratteristiche ecologiche e trofiche delle stazioni studiate.

All'elaborazione degli indici diatOMICI è quindi utile affiancare tali metodologie di analisi delle popolazioni, per poter acquisire informazioni aggiuntive e complementari.

Nel caso studio, la Dora Baltea ad eccezione della campagna autunnale, eseguita nel 2003, è risultata nella maggior parte delle stazioni monitorate di buona qualità; sicuramente l'elevata portata del fiume ha un ruolo molto importante nel mitigare gli impatti ai cui è sottoposto lungo il percorso.

Un fattore di pressione, che dall'analisi statistica di ordinamento, ha evidenziato una notevole influenza sulla composizione delle comunità diatOMICHE è risultato uno sbarramento trasversale di particolare rilevanza, inoltre si è evidenziato che alcuni gradienti ambientali relativi ai nutrienti (N e P totali), alla durezza e ai solfati sono risultati significativi nel condizionare la struttura delle comunità.

## **INTRODUZIONE**

Il monitoraggio dei corpi idrici superficiali, data l'importanza della salvaguardia e conoscenza dello stato di salute del comparto "acqua", tende sempre più ad avvalersi di nuovi strumenti di approfondimento.

La valutazione della "qualità delle acque" è regolata soprattutto da due norme: il Decreto legislativo 152/99 e s.m.i. e la Direttiva comunitaria 2000/60/CE (quadro per l'azione comunitaria in materia di acque).

Il Dlgs 152/99, nell'allegato 1, punto 2.1.1, scrive: "Al fine di una valutazione completa dello stato ecologico dovranno essere utilizzati opportuni indicatori biologici; oltre all'utilizzo dell'indice biotico esteso (I.B.E.) per i corsi d'acqua superficiali, sarà necessario utilizzare i metodi per la rilevazione e la valutazione della qualità degli elementi biologici e di quelli morfologici dei corpi idrici che dovranno essere definiti con apposito decreto ministeriale su proposta dell'ANPA...".

La Direttiva comunitaria 2000/60/CE, nell'allegato V punto 1.1.1, prevede di analizzare i vari comparti dell'ecosistema fluviale e di definire lo stato ecologico dei fiumi tramite la valutazione di vari elementi (Allegato V 1.2.1) tra cui il fitoplancton. Essa non specifica le metodologie di dettaglio per l'analisi delle varie componenti e demanda la loro definizione agli stati membri.

E' quindi previsto che debbano essere sperimentate nuove metodologie di analisi dei corpi idrici.

L'impiego delle diatomee nel monitoraggio dei corpi idrici superficiali rappresenta per molti paesi europei una realtà consolidata, con metodiche standardizzate a livello nazionale; in particolare la Direttiva Urban Waste Water Treatment (UWWTD; 91/271/EEC) promuove negli stati dell'Unione Europea lo sviluppo di metodiche di biomonitoraggio atte a valutare l'eutrofizzazione delle acque superficiali.

Le diatomee presentano caratteristiche che le rendono degli ottimi bioindicatori quali: la diffusione cosmopolita in tutti gli ambienti umidi, l'elevata sensibilità all'eutrofizzazione e all'inquinamento, la possibilità di una rapida separazione dagli altri componenti del fitobenthos.

In Italia l'impiego degli indicatori algali non è ancora entrato a far parte di indagini di routine presso le varie Agenzie Regionali di Protezione dell'Ambiente; la maggior parte degli studi sono stati effettuati dal Prof. Dell'Uomo dell'Università di Camerino prevalentemente sui corpi idrici dell'Italia centrale (Dell'Uomo, 1991,1996,1999; Dell'Uomo et al., 1996; Dell'Uomo et al., 1997; Dell'Uomo et al., 1999; Grandoni et al., 1996). A partire dal 1999, anno in cui ANPA, APPA Trento e l'Istituto di S. Michele all'Adige hanno organizzato il 1° Corso Nazionale di formazione sui bioindicatori diatomici, sono iniziate sperimentazioni al di fuori dell'ambiente accademico, con l'applicazione degli indicatori diatomici anche ad altre realtà italiane, quali ad esempio l'ambiente alpino, prealpino e padano (Battezzatore et al, 2004a; Fassina, 2001; Pastoris, 2003; Griselli et al 2003; Griselli et al, 2005) e dell'Italia meridionale (Battezzatore et al., 2004b; Battezzatore et al., 2005).

## **OBIETTIVI**

Nel presente studio è stata sperimentata una metodologia di biomonitoraggio al fine di implementare le conoscenze dei vari comparti dei corpi idrici, nel caso specifico il fitobenthos.

Si è proceduto alla:

- verifica dell'applicabilità dell'analisi delle diatomee reofile in relazione alle finalità delle Agenzie Regionali;
- sperimentazione della metodologia sul tratto piemontese della Dora Baltea, importante affluente del Po;
- elaborazione e confronto fra i principali indici diatomici utilizzati in Europa, con particolare riferimento all'indice diatomico di eutrofizzazione inquinazione EPI-D, messo a punto per la realtà italiana;
- analisi dei risultati ottenuti dal biomonitoraggio;
- discussione e confronto delle informazioni derivanti dallo studio degli indici diatomici con alcuni parametri chimico- fisici, biologici e tossicologici, avvalendosi inoltre di elaborazioni statistiche, che mediante l'analisi multivariata consentono di approfondire e meglio comprendere le dinamiche di popolazione, in funzione dei fattori ambientali e di pressione osservati.

## **MATERIALI E METODI**

### Scelta del corpo idrico e individuazione delle stazioni

Si è ritenuto di effettuare la sperimentazione sulla Dora Baltea, importante affluente di sinistra del fiume Po, in quanto questo corpo idrico è stato oggetto di un approfondito studio di funzionalità fluviale, Griselli et al. 2002; questa esperienza ha consentito di individuare siti caratterizzati da maggior criticità ed impatti e contemporaneamente di rilevare lungo l'asta fluviale differenti caratteristiche geomorfologiche e idrodinamiche, che contraddistinguono il corpo idrico. La scelta dei siti di monitoraggio, avendo a disposizione uno studio ecosistemico sulla Dora Baltea, ha potuto quindi essere effettuata in modo estremamente mirato.

La Dora Baltea è un importante fiume di pianura e allo stato attuale sono ancora piuttosto scarse le applicazioni di tale metodologia a corpi idrici di portata elevata; la Dora Baltea inoltre, nel tratto più a monte, al confine con la Valle d'Aosta, è rappresentativa di un ambiente prealpino.

La Dora scorre su un livello di sedimenti fluviali olocenici, costituiti da ghiaie sabbiose con locali lenti argillose. Nel tratto fra Carema e Borgofranco d'Ivrea il fiume scorre spesso a ridosso del substrato cristallino. Nell'abitato di Ivrea la Dora Baltea attraversa una forra stretta scavata nello stesso substrato cristallino. Fra Vische e Mazzè attraversa una cerchia delle colline moreniche, costituita da depositi glaciali pleistocenici. Nel tratto tra Mazzè e la confluenza con il Po il fiume scorre in un'area molto ristretta, compresa fra due terrazzi più antichi costituiti da depositi fluviali e fluvio-glaciali pleistocenici di età variabile.

Nel tratto più a monte la Dora Baltea assume caratteristiche di tipo torrentizio e la corrente è piuttosto elevata, il fiume sbocca quindi in pianura, attraversa un importante centro urbano, la città di Ivrea e successivamente risente di un forte impatto, determinato dalla diga di Mazzè, la quale causa un notevole rallentamento del flusso, che diventa laminare per circa 11 km. Nel tratto immediatamente adiacente alla diga, per circa 2 km a monte, il corpo idrico acquisisce addirittura caratteristiche di tipo lacustre con spiccati segni di eutrofizzazione ed anossia sul fondo dell'alveo.

Sono state individuate dieci stazioni, numerate da 1 a 10 partendo da monte e localizzate lungo il tratto piemontese, per una lunghezza di circa 64 km (Tab. 1, Fig. 1).

La scelta dei siti ha seguito i seguenti criteri: i siti, distribuiti lungo tutto il tratto del corpo idrico, sono rappresentativi di differenti situazioni idrodinamiche e geomorfologiche e sono stati opportunamente selezionati in modo da poter indagare impatti determinati da inquinamento diffuso, puntiforme e da interventi idraulici.

L'inquinamento diffuso è essenzialmente imputabile alle pratiche agricole pertanto sono stati selezionati alcuni siti dove il fiume scorre in ampi tratti di territorio caratterizzati da agricoltura intensiva (punti 4-5-6). E' inoltre stata valutata l'influenza sui popolamenti diatomici, e conseguentemente sui valori dell'indice di Eutrofizzazione/Polluzione:

- 1) di un centro abitato di rilevanza: la città di Ivrea (punti 2 e 3 localizzati rispettivamente a monte e a valle);
- 2) dell'immissione di un affluente, rappresentato dal Torrente Chiusella (punti 4 e 5 localizzati rispettivamente a monte e a valle);
- 3) di un'opera trasversale particolarmente impattante sulla funzionalità fluviale della Dora Baltea, rappresentata dalla diga di Mazzè (punti 6, 7, 8 localizzati a monte).
- 4) dell'immissione degli scarichi di un depuratore misto urbano-industriale, di notevole portata (punti 8 e 9 localizzati rispettivamente a monte e a valle);

I siti 1 e 10 sono rispettivamente rappresentativi del tratto più a monte e del tratto immediatamente prima dell'immissione nel fiume Po.

Tab. 1 – Stazioni di monitoraggio delle diatomee individuate sulla Dora Baltea

ID stazione	Comune	Località	UTM_E ED50	UTM_N ED50
1*	Settimo Vittone (TO)	Cesnola	408473	5045565
2	Banchette (TO)	Banchette	410563	5035909
3*	Ivrea (TO)	Ivrea	413392	5034385
4	Vestignè (TO)	Tina	415619	5029608
5*	Strambino (TO)	Strambino	415707	5027053
6	Vische (TO)	C.na Luisina	418258	5023955
7	Moncrivello (VC)	Vische	418848	5020457
8	Mazzè (TO)	Mazzè	419115	5016977
9	Mazzè (TO)	Rocca	419339	5014636
10*	Verolengo (VC)	Saluggia	424001	5006255

*\*siti di campionamento coincidenti con le stazioni di monitoraggio della rete regionale*

#### Programmazione campagne di monitoraggio

La scelta adeguata della frequenza e del periodo in cui effettuare i campionamenti è un elemento delicato ed importante nella programmazione di campagne di monitoraggio.

Nel presente studio si è monitorato lo stato qualitativo del corpo idrico con cadenza stagionale.

Sono state effettuate 4 campagne tra 2003-2004 nei seguenti periodi:

*27 maggio 2003 (campagna primaverile)*

*26 agosto -1 settembre 2003 (campagna estiva)*

*11-12 novembre 2003 (campagna autunnale)*

*17 febbraio 2004 (campagna invernale).*

#### Campionamento e allestimento dei preparati

Per il campionamento e la tecnica di preparazione dei vetrini, mediante incenerimento per l'eliminazione della sostanza organica, sono state seguite le indicazioni fornite nelle Linee Guida APAT, 2003.

Non esistono metodi ufficiali per la conta delle diatomee a livello nazionale, europeo e internazionale. Esistono solo metodi emanati dai singoli Stati e normati a vari livelli. Tuttavia il Centro europeo di certificazione (CEN) ha attualmente in corso di approvazione una norma

apposita denominata prEN 14407, 2002 “Qualità dell’acqua – Linee guida per l’identificazione e il conteggio dei campioni di diatomee bentoniche fluviali e loro interpretazione”.

Nel presente lavoro ci si è allineati a quanto indicato dal CEN, che indica di espletare la conta su un numero di unità diatomiche comprese tra 300 e 500.

In precedenti sperimentazioni è stata confermata la maggior affidabilità di un conteggio eseguito su 400 individui, con inserimento diretto delle percentuali di abbondanza nel calcolo dell’indice, rispetto all’eventuale utilizzo di classi di abbondanza (Griselli et. al , 2005).

Sui preparati sono state individuate tutte le specie presenti ed i conteggi sono stati effettuati su almeno 400 individui in campi scelti a caso.

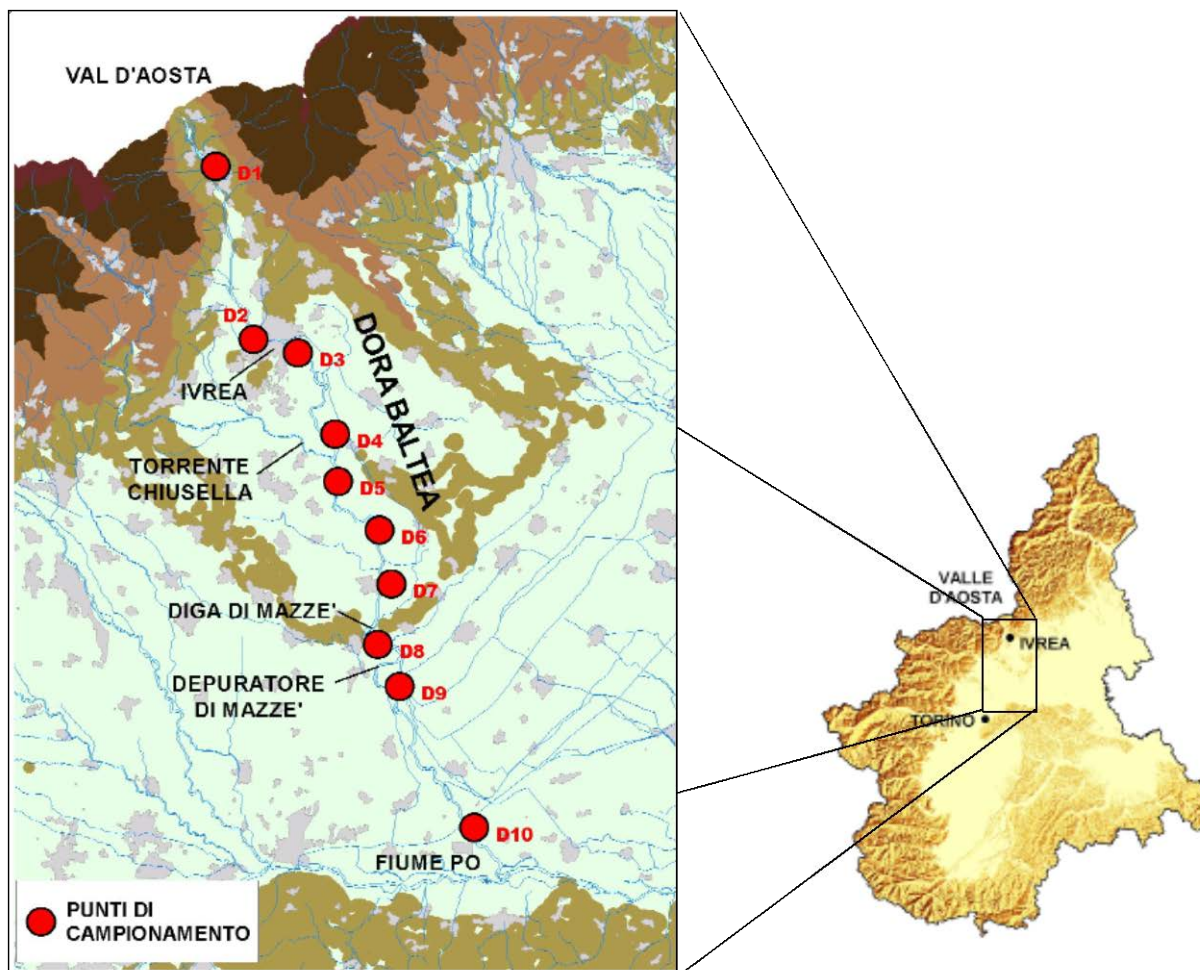


Fig. 1 - Stazioni di monitoraggio, georeferenziate sulla sponda dx del fiume (\*siti di campionamento previsti per l’espletamento delle indagini previste dal Dlgs. 152/99).

#### Calcolo indici diatomici ed elaborazioni statistiche

L’elaborazione degli indici diatomici è stata effettuata mediante il software “OMNIDIA” versione 3.2, realizzato dal CLCI (Chaterine Leconte Conseil Informatique).

La correlazione fra i vari indici diatomici è stata valutata stimando il coefficiente di correlazione di Spearman (correlazione non parametrica), mediante il programma STATISTICA 5.1.

L’analisi multivariata (CCA) e l’Indicator Species Analysis (Dufrene and Legendre, 1997) sono state eseguite utilizzando il programma PCORD 4. La significatività statistica dei tests è stata valutata con il metodo Monte Carlo.

### Indagini accessorie

Sono state inoltre eseguite indagini chimico fisiche e biologiche al fine di avere un quadro sufficientemente esaustivo dei siti individuati per il monitoraggio diatamico.

Dei dieci siti di biomonitoraggio quattro (stazioni 1, 3, 5, 10) coincidevano con i campionamenti che l'Agenzia esegue istituzionalmente per il monitoraggio dei corpi idrici superficiali, previsto dal Dlgs. 152/99.

Durante alcune campagne, su tutti i dieci punti di monitoraggio, sono state eseguite le seguenti indagini:

- valutazione dell'Indice Biotico Esteso (IBE) e *Escherichia coli* (campagne estiva 2003 e invernale 2004)
- indagini *chimico-fisiche* sull'acqua di scorrimento, rappresentate da azoto totale, azoto ammoniacale, nitriti, nitrati, fosforo totale, cloruri, solfati, conducibilità, durezza (campagne estiva 2003 e invernale 2004);
- indagini *ecotossicologiche* eseguite sui sedimenti, utilizzando il crostaceo *Heterocypris incongruens* (campagna estiva 2003).

### Gli indici diatomici

Dall'analisi delle popolazioni diatomiche, che generalmente viene effettuata sino a livello di specie o varietà, si passa all'elaborazione di indici diatomici.

Sono stati elaborati diversi indici diatomici, che differiscono fra loro essenzialmente per il tipo di inquinamento/alterazione che evidenziano.

Alcuni indici sono generici e forniscono una valutazione complessiva che tiene in considerazione il livello saprobico, alobico e trofico, altri sono mirati a descrivere l'inquinamento organico o in nutrienti.

Si possono schematicamente individuare tre gruppi di indici diatomici:

1) Indici di qualità generale, integrano la materia organica (saprobica), i nutrienti (trofia) unitamente ad altri parametri quali il pH e la salinità (alofilia). Appartengono a questo gruppo l'Indice Diatomico di Eutrofizzazione Polluzione di Dell'Uomo (EPI-D) utilizzato in Italia, l'Indice di Steinberg e Schiefele (SHE), l'Indice Biologique Diatomeès (IBD).

2) Indici di tipo saprobico, sono i più numerosi, descrivono l'arricchimento in materiale organico biodegradabile: Taxa Pollution Tolerant (%PT), Indice de Polluosensibilité Spécifique (IPS), Sladeczek (SLAD), Leclercq & Maquet (L & M), Watanabe (WAT), Descy (DESCY).

3) Indici di tipo trofico, descrivono l'arricchimento in nutrienti, essenzialmente rappresentati da N e P: il Trophic Diatom Index (TDI).

Ogni indice ha una sua scala interpretativa del grado di compromissione. Tale scala può variare ad esempio per livelli crescenti di qualità del corpo idrico da 4 a 0 (EPI-D), da 0 a 7 (IBD), da 100 a 0 (%PT e TDI), da 1 a 5 (IPS) ecc..

E' stata prevista la possibilità di mettere a confronto alcuni indici fra loro, uniformando i risultati ad una scala comune che va da 1 a 20, dove 20 corrisponde al miglior livello di qualità del corpo idrico.

### Indici di qualità generale

La maggior parte degli indici diatomici utilizzati in Europa si basa sulla formula di Zelinka e Marvan, 1961. Il risultato dell'indice si ottiene estendendo la sommatoria a tutte le specie presenti nella stazione considerata.

$$\text{Index} = \frac{\sum_{j=1}^n a_j \cdot r_j \cdot i_j}{\sum_{j=1}^n a_j \cdot r_j}$$

dove

$a_j$  rappresenta l'abbondanza;

$r_j$  indica l'affidabilità, dall'inglese (*reliability*); questo indice è inversamente proporzionale al range ecologico della specie, maggiore è il range ecologico e minore risulta il valore di questo indice. Può assumere valori differenti a seconda dello specifico indice considerato es. per l'EPI-D  $r = 5$  (ottimo indicatore),  $r = 3$  (buono),  $r = 1$  (sufficiente);

$i_j$  rappresenta l'indice integrato ponderato di sensibilità ed assume valori diversi in funzione dello specifico indice considerato e della qualità ambientale, es. può variare da 0 (specie indicativa di ambiente di ottima qualità) a 4 (specie indicativa di ambiente completamente degradato) nel caso dell'EPI-D o da 1 a 5 nel caso dell'IPS.

L'*Indice di Eutrofizzazione/Polluzione (EPI-D)* si basa sulla formula di Zelinka e Marvan.

Per cogliere anche minime variazioni dell'indice, viene consigliato di effettuare il calcolo dell'EPI-D considerando la seconda cifra decimale.

L'attribuzione degli indici di affidabilità e sensibilità si basa sia su numerosi studi presenti in bibliografia, sia su sperimentazioni effettuate su corpi idrici italiani in particolare quelli relativi all'Appennino centrale.

I valori dell'EPI-D sono compresi tra 4 e 0. I valori prossimi allo 0 sono indicativi di acque pulite; aumentando l'indice cresce la compromissione della qualità del corpo idrico, fino all'individuazione di situazioni di degrado totale.

Per l'interpretazione del risultato sono state proposte due scale interpretative. Una scala a 8 classi che dettaglia notevolmente nei giudizi la qualità ambientale del corpo idrico ed una scala a 5 classi che consente di mettere a confronto i risultati forniti dall'EPI-D con altri indici diatomici, biologici come l'IBE (Indice Biotico Esteso), chimici LIM (Livello di Inquinamento da Macrodescrittori).

### *Indice Biologique Diatomées (IBD)*

L'Agenzia francese dell'acqua ed il Cemagref, hanno messo a punto a partire dal 1994 un indice di qualità generale dell'acqua (IBD) basato sulle diatomee.

L'Indice Biologique Diatomées (IBD), normato (AFNOR, 2000), si basa sulla valutazione della probabilità di presenza di taxa in 7 differenti classi di qualità dell'acqua, valutate sulla base dell'integrazione di 14 parametri chimico-fisici. Questi parametri riguardano la materia organica ossidabile e la salinità. Ai taxa vengono attribuiti 5 differenti profili ecologici.

Questo indice prende in considerazione più di 600 taxa. I valori dell'Indice variano da 0 a 7.

### Indici di tipo saprobico

*Indice de polluo-sensibilité (IPS)* è stato sviluppato dal Cemagref (1982-91) sulla base di più di 1000 taxa, è viene calcolato con la formula di Zelinka-Marvan.

Il valore ecologico della specie ( $i$ ) varia da 1 a 5; l'indice di affidabilità ( $r$ ) varia da 1 a 3.

I valori di questo indice sono compresi tra 1 e 5 al crescere della sensibilità alla polluzione organica.

L' *Indice di Descy (DES)*, è stato sviluppato nel 1979 e considera soltanto 106 taxa.

L'indice è calcolato con la consueta formula di Zelinka-Marvan, con valore ecologico della specie (*i*) variabile da 1 a 5 e indice di affidabilità (*r*) variabile da 1 a 3.

I valori ecologici associati alle specie possono differire a seconda dell'Indice considerato (es. *Achnantes minutissima* Kutzing var. *minutissima* Kutzing ha valore ecologico 4 per l'indice di Descy e 5 per L'Indice de Pollosensibilité Spécifique).

I valori di questo indice variano da 1 a 5 al crescere della sensibilità alla polluzione organica.

Il *Taxa Pollution Tolerant (% PT)* è un indice basato sul conteggio percentuale dei taxa tolleranti all' inquinamento organico ed il suo valore varia da 0 a 100.

La scala di inquinamento è così formulata:

< 20% dei taxa totali sono tolleranti al carico organico: carico organico assente

21 ≤ %PT < 40 dei taxa totali sono tolleranti al carico organico: presenza di carico organico

41 ≤ %PT < 60 dei taxa totali sono tolleranti al carico organico: carico organico contribuisce in modo importante alla contaminazione

61 ≤ %PT < 100 dei taxa totali sono tolleranti al carico organico: forte contaminazione da carico organico

L'indice va preso in considerazione associato all' indice trofico TDI di Kelly

#### Indici di tipo trofico

Il *Trophic Diatom Index (TDI)* è stato sviluppato in Inghilterra da Kelly, e viene calcolato con la seguente formula:

$$TDI = \frac{\sum_{j=1}^n a_j \cdot i_j \cdot r_j}{\sum_{j=1}^n i_j \cdot r_j}$$

dove

$a_j$  rappresenta l'abbondanza percentuale della specie  $j$ ;

$i_j$  rappresenta il valore ecologico della specie  $j$  (variabile da 1 a 5 al crescere della tolleranza ai nutrienti);

$r_j$  rappresenta l'affidabilità della specie  $j$  (variabile da 1 a 3).

L'Indice varia da 0 (assenza di nutrienti, ambiente ipotrofico) a 100 (ambiente ipertrofico); corrisponde teoricamente all'abbondanza equivalente di una specie fittizia rappresentativa delle specie analizzate.

Questo indice deve essere usato congiuntamente al %PT

Rispetto alla formula di Zelinka-Marvan al denominatore abbiamo l'indice di sensibilità anziché l'abbondanza. Questo fa sì che l'informazione fornita dall'Indice riguarda maggiormente l'abbondanza più che il valore ecologico.



## RISULTATI E DISCUSSIONE

### Valutazione portata della Dora Baltea

La Dora Baltea è un corpo idrico caratterizzato da un buona portata; il valore medio annuo calcolato per il periodo 1925-1991 è di 95,9 m<sup>3</sup>/s. La Dora Baltea presenta un massimo estivo di portata, con un picco in giugno e livelli minimi nel periodo invernale.

Il grafico in Fig. 2 descrive i livelli idrometrici giornalieri medi del periodo relativo ai monitoraggi effettuati, misurati presso la stazione di Tavagnasco, localizzata a monte al confine con la Valle d'Aosta..

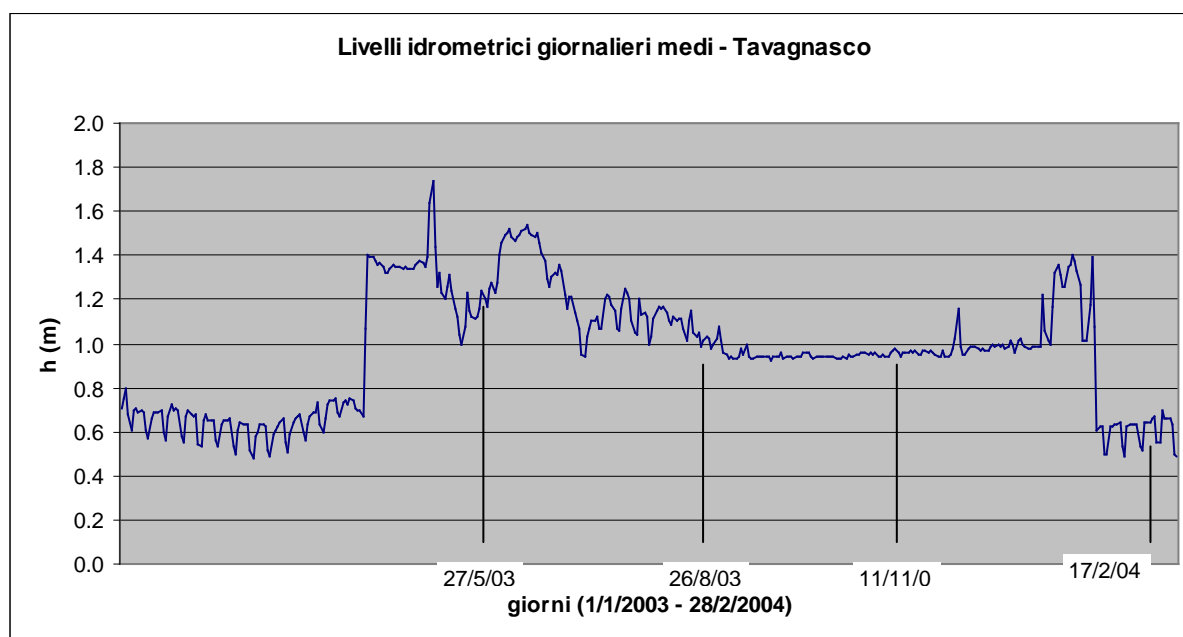


Fig. 2 – Livelli idrometrici medi giornalieri ella Dora Baltea, relativi al periodo di studio.

### Campionamenti diatomee: criticità

Relativamente alle stazioni di monitoraggio previste sono emerse alcune criticità riguardanti due stazioni localizzate a monte della diga di Mazzè.

Il campionamento delle diatomee infatti non è stato realizzabile durante la campagna estiva nella stazione 6 di Cascina Luisina a causa dell'elevata altezza della colonna d'acqua e lo studio dei macroinvertebrati bentonici non è stato effettuato sulle stazioni 6 (Cascina Luisina) e 7 (Vische) sempre a causa delle condizioni idrodinamiche e per la presenza di sedimenti limosi. Nella stazione 7, localizzata immediatamente a monte della diga, è stata effettuata la valutazione dell'EPI-D nonostante il flusso fosse quasi assente; la metodologia prevede lo studio delle diatomee reofile, caratteristiche quindi di acque correnti; i risultati relativi quindi a tale stazione vanno interpretati con estrema cautela.

### Analisi popolamenti diatomici

Complessivamente sono stati individuati 154 taxa diatomici tra specie e/o varietà (Allegato 1); non si sono evidenziate grosse differenze tra il numero complessivo di taxa individuati nelle differenti stagioni, che è variato da un minimo di 73 nella campagna estiva 2003 a un massimo di 87 in quella invernale del 2004.

### Valutazione Indice di Eutrofizzazione/Polluzione (EPI)

E' stato elaborato l'indice EPI-D relativo alle stazioni monitorate nei differenti periodi stagionali e sono state definite le classi di qualità corrispondenti, considerando sia la

suddivisione inizialmente proposta da Dell'Uomo in 8 classi, sia quella relativa a 5 classi di qualità, più idonea per l'effettuazione di confronti con altri indici biologici ad es. con l'IBE. Nelle Tabelle 2 e 3 sono rispettivamente rappresentate le classificazioni a 8 e 5 classi di qualità con i relativi giudizi associati.

Di seguito vengono riportati i risultati dell'EPI-D elaborati dall'analisi dei popolamenti diatomici dei 4 campionamenti stagionali (Tab. 4 e 5).

Tab. 2 – Classificazione a 8 classi di qualità e giudizi associati

EPI-D	CLASSE	GIUDIZIO DI QUALITA'	colore
3.0 < EPI-D ≤ 4.0	VIII	Ambiente completamente degradato	
2.5 < EPI-D ≤ 3.0	VII	Ambiente pesantemente inquinato	
2.2 < EPI-D ≤ 2.5	VI	Ambiente fortemente inquinato	
2.0 < EPI-D ≤ 2.2	V	Ambiente moderatamente inquinato	
1.8 < EPI-D ≤ 2.0	IV	Ambiente leggermente alterato	
1.5 < EPI-D ≤ 1.8	III	Ambiente di qualità sufficiente	
1.0 < EPI-D ≤ 1.5	II	Ambiente di buona qualità	
0.0 ≤ EPI-D ≤ 1.0	I	Ambiente di qualità eccellente	

Tab. 3 – Classificazione a 5 classi di qualità e giudizi associati

EPI-D	CLASSE QUALITA'	GIUDIZIO DI QUALITA'	colore
3.0 < EPI-D ≤ 4.0	V	Ambiente completamente degradato	
2.3 < EPI-D ≤ 3.0	IV	Ambiente fortemente inquinato	
1.7 < EPI-D ≤ 2.3	III	Ambiente moderatamente inquinato	
1.0 < EPI-D ≤ 1.7	II	Ambiente di buona qualità	
0.0 < EPI-D ≤ 1.0	I	Ambiente di ottima qualità	

Tab. 4 – Valori EPI-D e Classi di qualità, secondo classificazione in 8 classi, rinvenuti nei 4 campionamenti stagionali.

8 CLASSI DI QUALITA'		Campagna primaverile (27/5/2003)		Campagna estiva (26/8/2003 - 1/9/2003)		Campagna autunnale (11- 12/11/2003)		Campagna invernale (17/02/2004)	
ID stazione	Località	EPI-D	Classi di qualità	EPI-D	Classi di qualità	EPI-D	Classi di qualità	EPI-D	Classi di qualità
1	Cesnola	1.05	II	1.07	II	0.69	I	0.86	I
2	Banchette	0.95	I	1.14	II	1.33	II	1.49	II
3	Ivrea	1.07	II	1.05	II	1.75	III	1.12	II
4	Tina	1.09	II	1.12	II	1.71	III	1.39	II
5	Strambino	1.31	II	1.24	II	1.03	II	1.43	II
6	C.na Luisina	1.56	III	*	/	2.02	V	1.26	II
7	Vische	1.92	IV	1.45	II	2.40	VI	2.02	V
8	Mazzé	1.58	III	1.39	II	1.33	II	1.64	III
9	Rocca	0.99	I	1.54	III	0.82	I	1.60	III
10	Saluggia	1.35	II	1.49	II	1.33	II	1.18	II

\* campionamento non effettuato

I valori dell'Indice EPI-D, considerati sull'intero periodo di studio, variano da un minimo di 0,69 rinvenuto in autunno nella stazione di Cesnola (staz. 1), localizzata più a monte e corrispondente ad un ambiente di qualità eccellente, ad un valore massimo di 2,40 corrispondente ad un ambiente fortemente inquinato, riscontrato a Vische (staz. 7), a monte di uno sbarramento rappresentato dalla diga di Mazzé.

Tab. 5 – Valori EPI-D e Classi di qualità, secondo classificazione in 5 classi, rinvenuti nei 4

5 CLASSI DI QUALITA'		Campagna primaverile (27/5/2003)		Campagna estiva (26/8/2003 - 1/9/2003)		Campagna autunnale (11-12/11/2003)		Campagna invernale (17/02/2004)	
ID stazione	Località	EPI-D	Classi di qualità	EPI-D	Classi di qualità	EPI-D	Classi di qualità	EPI-D	Classi di qualità
1	Cesnola	1.05	II	1.07	II	0.69	I	0.86	I
2	Banchette	0.95	I	1.14	II	1.33	II	1.49	II
3	Ivrea	1.07	II	1.05	II	1.75	III	1.12	II
4	Tina	1.09	II	1.12	II	1.71	III	1.39	II
5	Strambino	1.31	II	1.24	II	1.03	II	1.43	II
6	C.na Luisina	1.56	II	*	/	2.02	III	1.26	II
7	Vische	1.92	III	1.45	II	2.40	IV	2.02	III
8	Mazzé	1.58	II	1.39	II	1.33	II	1.64	II
9	Rocca	0.99	I	1.54	II	0.82	I	1.60	II
10	Saluggia	1.35	II	1.49	II	1.33	II	1.18	II

campionamenti stagionali.

\* campionamento non effettuato

In autunno si è osservata la maggior variabilità nei valori dell'Indice e conseguentemente anche nelle classi di qualità riscontrate rispetto alle altre stagioni, mentre la situazione più omogenea tra i punti di monitoraggio, si è avuta in estate, Fig. 3. In Fig. 4 sono rappresentati gli andamenti stagionali dell'EPI-D nelle varie stazioni monitorate.

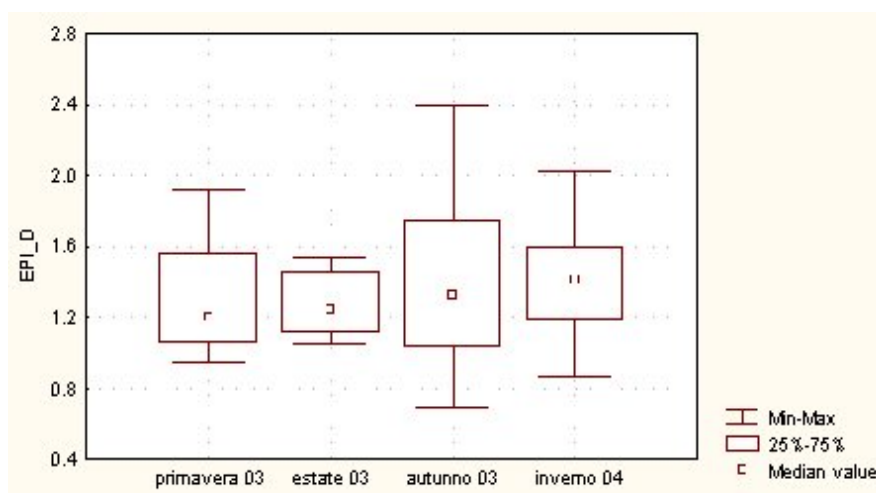


Fig. 3 – Distribuzione dei valori EPI-D rinvenuti nelle differenti stagioni monitorate

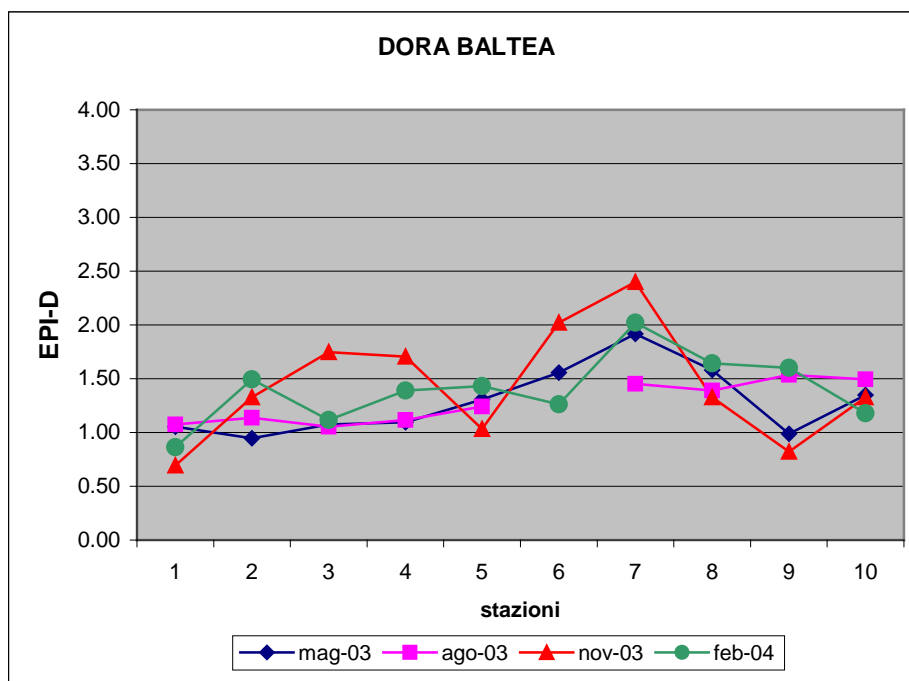


Fig.4 – Andamenti stagionali EPI-D.

Le due stazioni a monte Cesnola (1) e Banchette (2) unitamente a quella situata più a valle del fiume Saluggia (10) si mantengono costantemente in una condizione di qualità eccellente e/o buona. Questo significa che il corpo idrico durante il suo percorso, nonostante i numerosi impatti a cui è sottoposto, quali l'attraversamento della città di Ivrea, di zone ad intenso utilizzo agricolo, l'immissione del torrente Chiusella, riesce a recuperare e si immette nel Po apportando acque che ne favoriscono un miglioramento della qualità. Tale situazione è stata evidenziata anche nel corso dei programmi di monitoraggio dei corpi idrici superficiali a scala regionale.

Nelle due stazioni localizzate a monte della diga di Mazzè (6 e 7) la qualità del corpo idrico è risultata talora più compromessa (ambiente da moderatamente o fortemente inquinato).

Le stazioni intermedie (3, 4) risultano di qualità inferiore solo nella campagna autunnale (ambiente moderatamente inquinato).

L'immissione del torrente Chiusella, che dai monitoraggi effettuati nel corso del censimento regionale dei corpi idrici, previsto dal D. Lgs. 152/99 risulta di qualità inferiore al corpo idrico recettore, non sembra compromettere la qualità della Dora; la stazione 5 risulta infatti in tutti e quattro i campionamenti in Classe II.

### Risultati analisi chimico-fisiche e biologiche

#### *Indice Biotico Esteso (IBE)*

Nelle Tab. 6 e 7 sono riportati i risultati dell'Indice Biotico Esteso, valutati rispettivamente nella campagna estiva 2003 ed invernale 2004.

Le due stazioni immediatamente a monte della diga di Mazzè (6 e 7) non sono state monitorate per l'elevato livello dell'acqua e per la presenza di sedimenti limosi.

In entrambe le campagne la maggior parte delle stazioni rientra in Classe III, indicativa di ambiente inquinato e solo la stazione di Ivrea (3), in entrambe le campagne, risulta in Classe II, indicativa di ambiente in cui sono evidenti alcuni effetti dell'inquinamento. Alcune stazioni sono risultate in classe intermedia II-III.

I giudizi di qualità ottenuti dall'analisi dei popolamenti diatomici sono risultati meno severi, rispetto a quelli ottenuti dal monitoraggio dei macroinvertebrati. Se si considera la classificazione secondo 5 classi dei valori di EPI-D, la situazione appare estremamente

omogenea e caratterizzata da ambienti di qualità buona (Classe II), ad eccezione della stazione 7 nel campionamento invernale, che risulta di qualità sufficiente (Classe III).

Mediante la classificazione in 8 classi è stato invece possibile discriminare maggiormente la qualità ambientale delle stazioni relative al campionamento invernale; la stazione localizzata più a monte risulta di qualità eccellente (Classe I), le stazioni successive 2, 3, 4, 5, 6 unitamente alla stazione più a valle (10), sono risultate di buona qualità (Classe II). La stazione a monte della diga (7) e le due stazioni immediatamente a valle dello sbarramento (8, 9) sono risultate rispettivamente indicative di ambiente moderatamente inquinato (Classe V) la prima e di qualità sufficiente (Classe III) le seconde.

In questa campagna la valutazione dell'EPI-D ha consentito una maggior discriminazione fra stazioni rispetto a quanto emerso dallo studio dei popolamenti di macroinvertebrati bentonici.

Tab. 6 – Valutazione dell’Indice Biotico Esteso nella Campagna estiva 2003

<b>Punti di campionamento</b>	<b>Data Prelievo</b>	<b>IBE</b>	<b>Classe</b>	<b>U.S. Valide</b>	<b>U.S. Totali</b>
1 Cesnola	27/08/2003	7	III	6	9
2 Banchette	12/08/2003	7	III	6	10
3 Ivrea	27/08/2003	8	II	10	13
4 Tina	29/08/2003	7	III	8	11
5 Strambino	27/08/2003	7	III	6	9
6 C.na Luisina	*	*	*	*	*
7 Vische	*	*	*	*	*
8 Mazzè	10/09/2003	6	III	6	10
9 Rocca	01/09/2003	7.6	II-III	10	12
10 Saluggia	27/08/2003	6	III	6	6

\* campionamento non effettuato

Tab 7 – Valutazione dell’Indice Biotico Esteso nella Campagna invernale 2004.

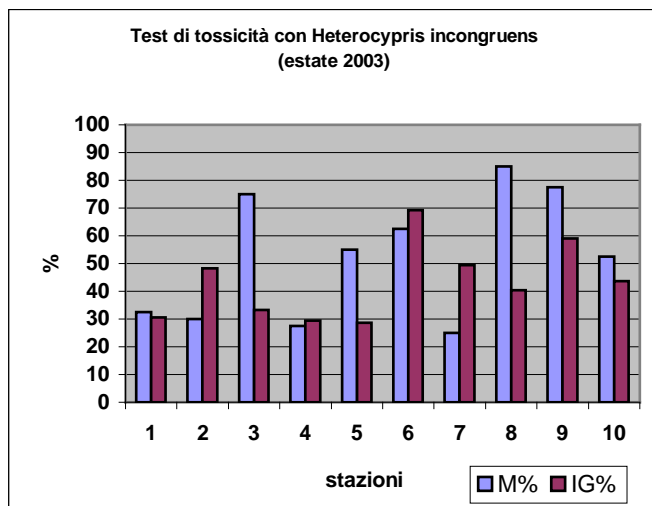
<b>Punti di campionamento</b>	<b>Data Prelievo</b>	<b>IBE</b>	<b>Classe</b>	<b>U.S. Valide</b>	<b>U.S. Totali</b>
1 Cesnola	12/03/2004	7.4	III-II	10	10
2 Banchette	25/02/2004	7.0	III	8	12
3 Ivrea	26/02/2004	8.6	II	11	11
4 Tina	25/02/2004	7.0	III	7	9
5 Strambino	12/03/2004	7.6	II-III	11	13
6 C.na Luisina	*	*	*	*	*
7 Vische	*	*	*	*	*
8 Mazzè	24/02/2004	7.0	III	8	8
9 Rocca	24/02/2004	7.0	III	8	10
10 Saluggia	26/02/2004	7.0	III	8	8

\* campionamento non effettuato

Per lo studio della tossicità dei sedimenti si è ritenuto di selezionare il test con *Heterocypris incongruens* in quanto questo ostracode, per alimentarsi, tende a venire in stretto contatto con il substrato, risultando quindi più suscettibile all’azione dei composti adsorbiti sul sedimento, rispetto ad altri organismi quali ad esempio *Daphnia magna*.

Vengono riportati i risultati dei due parametri stimati: mortalità (M%) e inibizione della crescita (IG%), Fig. 5.

In tutti i campioni si sono evidenziati effetti tossici. Nelle stazioni 1, 2, 4, 7 per entrambi i parametri la tossicità è risultata debole (< 50%). Gli effetti più evidenti si sono osservati nella stazione 3 (a valle della città di Ivrea), nella stazione 6, localizzata in un ambiente a vocazione agricola e dove il flusso inizia a subire dei rallentamenti e nelle due stazioni a valle della diga. Effetti di minor entità nella stazione 7, potrebbero essere spiegati con il fatto che periodiche aperture degli sbarramenti della diga favoriscono il deflusso dei sedimenti fini e quindi il loro turnover.



Cod. Staz.	Località	M%	IG%
1	Cesnola	33	30.7
2	Banchette	30	48.2
3	Ivrea	75	33.2
4	Tina	28	29.4
5	Strambino	55	28.6
6	C.na Luisina	63	69.2
7	Vische	25	49.3
8	Mazzè	85	40.4
9	Rocca	78	59.0
10	Saluggia	53	43.6

Fig. 5 – effetti acuti (Mortalità %) e cronici (Inibizione della crescita %) rilevati con *Heterocypris incongruens* dall’analisi dei sedimenti

Nelle Tab. 8-9 vengono riportati i risultati delle analisi chimico-fisiche e biologiche eseguite sull’acqua di scorrimento rispettivamente delle campagne estiva 2003 ed invernale 2004.

Tab.8- Analisi eseguite durante la campagna estiva 2003

	Campagna estate 2003									
	Codice stazioni									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
N ammoniacale (mg/l)	0.02	0.05	0.08	0.12	0.09	0.19	0.19	0.18	0.16	0.09
N totale (mg/l)	1.06	0.95	1.05	1.50	1.07	1.49	1.27	1.53	1.44	1.39
Cloruri (mg/l)	5.05	6.62	6.72	7.61	6.96	7.13	7.59	6.07	5.23	5.78
Conducibilità (µS/cm 20°C)	281	324	339	329	332	324	329	284	271	283
Durezza totale(mg/l CaCO <sub>3</sub> )	150.7	173.0	178.9	169.7	177.5	168.6	169.8	143.8	139.2	144.4
P totale (µg/l)	18	12	23	45	22	47	34	39	40	26
Nitrati (mg/l)	3.25	3.24	3.34	3.74	3.38	3.72	3.83	3.13	4.02	4.29
Nitriti (mg/l)	0.038	0.043	0.046	0.078	0.102	0.079	0.083	0.061	0.109	0.072
Solfati (mg/l)	57.58	68.07	68.94	61.20	66.95	58.47	60.28	48.13	46.93	46.73
Escherichia coli (ufc/100ml)	490	1140	8000	9400	12000	10200	11100	3100	3800	1720



Tab.9 – Analisi eseguite durante la campagna invernale 2004

	Campagna inverno 2004									
	Codice stazioni									
N ammoniacale (mg/l)	0.06	0.09	0.09	0.13	0.16	0.14	0.14	0.15	0.16	0.14
N totale (mg/l)	1.09	0.97	1.00	1.17	1.18	1.15	1.17	1.37	1.90	1.84
Cloruri (mg/l)	4.44	5.55	6.53	8.01	7.54	7.32	7.18	7.28	9.54	8.78
Conducibilità (µS/cm 20°C)	216	223	243	280	277	282	278	289	319	319
Durezza totale(mg/l CaCO <sub>3</sub> )	124.0	124.0	137.4	161.8	153.3	159.4	156.1	165.0	183.3	179.8
P totale (µg/l)	37	25	28	29	34	30	31	33	35	31
Nitrati (mg/l)	3.40	3.16	3.36	4.42	3.49	3.72	3.90	3.87	6.09	5.93
Nitriti (mg/l)	0.023	0.028	0.034	0.045	0.038	0.048	0.046	0.048	0.070	0.063
Solfati (mg/l)	39.69	41.09	45.65	50.04	50.19	52.88	52.33	55.79	57.67	59.63
Escherichia coli (ufc/100ml)	1430	3500	3600	1200	4800	4400	5200	5200	410	2900

#### Confronto fra indici diatomici

Nello studio effettuato sono stati elaborati i seguenti indici diatomici: EPI-D, IPS, IBD, DESCY, TDI e %PT, Tab. 9 a-b.

I risultati degli indici EPI-D, IBD, IPS e DESCY, potendo essere uniformati secondo una scala comune che va da 1 a 20, dove 20 corrisponde al miglior livello di qualità del corpo idrico, sono stati messi a confronto, Fig. 6, 7, 8.

Tab.9 a - Indici diatomici relativi alle campagne primaverile e estiva(elaborati mediante Software OMNIDIA).

	Staz.	Località	IPS	DESCY	TDI	%PT	EPI-D	IBD
<b>Primavera 2003</b>	1	Cesnola	17.6	15.1	39.4	8.4	15	18.8
	2	Banchette	18	15.3	46.9	3.7	15.5	16.9
	3	Ivrea	15.3	15.3	51.1	1.7	14.9	14.2
	4	Tina	17.3	15.4	44.4	5.2	14.8	16.8
	5	Strambino	15.4	15	52.7	9	13.8	15.3
	6	C.na Luisina	12.8	11.8	59.3	29.9	12.6	16.6
	7	Vische	11.1	11.4	72	38.4	10.9	14.4
	8	Mazzé	13.5	13.6	58	18.2	12.5	14.6
	9	Rocca	15.8	15	54.1	4.3	15.3	14.5
	10	Saluggia	11.5	10.6	50.5	27.2	13.6	16.1
<b>Estate 2003</b>	1	Cesnola	15.4	16	49.5	2.2	14.9	14.5
	2	Banchette	14	14.5	51.6	4	14.6	13.5
	3	Ivrea	15.2	15.4	53.8	2.3	15	14.1
	4	Tina	14.1	14.4	50.3	1.7	14.7	13.7
	5	Strambino	13.5	14.9	54.7	2.7	14.1	12.6
	6	C.na Luisina	/	/	/	/	/	/
	7	Vische	12.5	10.9	56.3	20.8	13.1	15.9
	8	Mazzé	14.7	15.6	57.4	9.9	13.4	14.5
	9	Rocca	13.8	14.8	60.5	8.4	12.7	12.9
	10	Saluggia	14.9	14.6	55.2	12.7	12.9	14.8

Tab.9 b - Indici diatomici relativi alle campagne autunnale e invernale

	Staz.	Località	IPS	DESCY	TDI	%PT	EPI-D	IBD
<b>Autunno 2003</b>	1	Cesnola	18.1	14.8	35.9	3.4	16.7	19.8
	2	Banchette	15.8	16	56.7	13	13.7	14.8
	3	Ivrea	14.4	16.6	74.8	27.9	11.7	13.6
	4	Tina	12.9	13.8	74	28.2	11.9	13.3
	5	Strambino	16.6	15.2	42.6	7.2	15.1	16.9
	6	C.na Luisina	10.2	11.6	67.3	37.7	10.4	13.8
	7	Vische	7.6	6.6	72.6	33.6	8.6	11.5
	8	Mazzé	15.5	16.1	62.4	5.8	13.7	13.8
	9	Rocca	17.6	14.8	35	5.3	16.1	20
	10	Saluggia	14.9	14.7	56	12.1	13.7	15.5
<b>Inverno 2003</b>	1	Cesnola	17.2	14.5	40.8	7.4	15.9	18.6
	2	Banchette	15.1	15.5	62.3	15.1	12.9	13.3
	3	Ivrea	16.8	16.2	51.6	10.9	14.7	16.5
	4	Tina	16.5	16.2	59.3	16.1	13.4	15
	5	Strambino	15.7	15.4	54.2	20.3	13.2	15.7
	6	C.na Luisina	15.5	16.3	59.8	7.9	14	13.8
	7	Vische	14.3	16	72.2	26.5	10.4	14.2
	8	Mazzé	14.7	15.9	65.5	12.7	12.2	11.7
	9	Rocca	14.3	15.2	60.6	12.5	12.4	13.2
	10	Saluggia	16.7	15.3	42	10	14.4	16.8

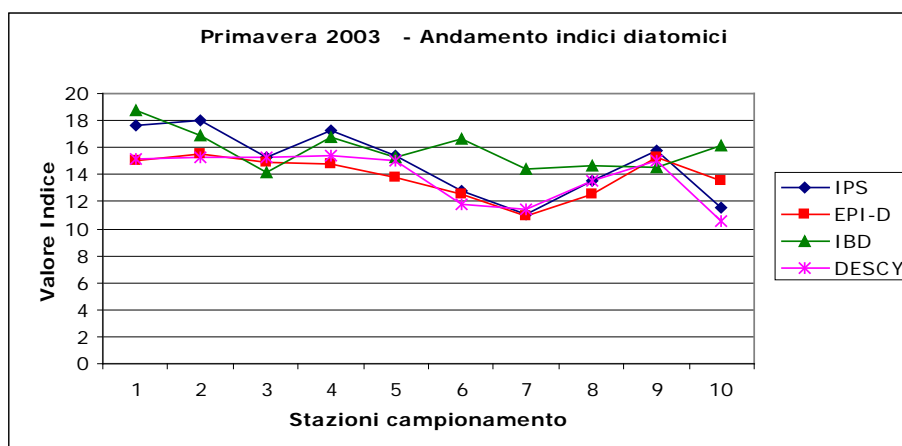


Fig. 6 - Confronto fra indici diatomici ottenuti nella campagna primaverile (2003)

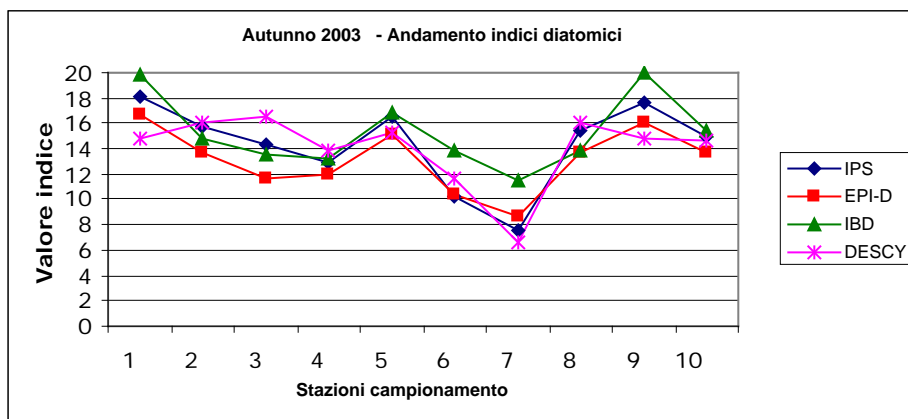


Fig.7 - Confronto fra indici diatomici ottenuti nella campagna autunnale (2003)

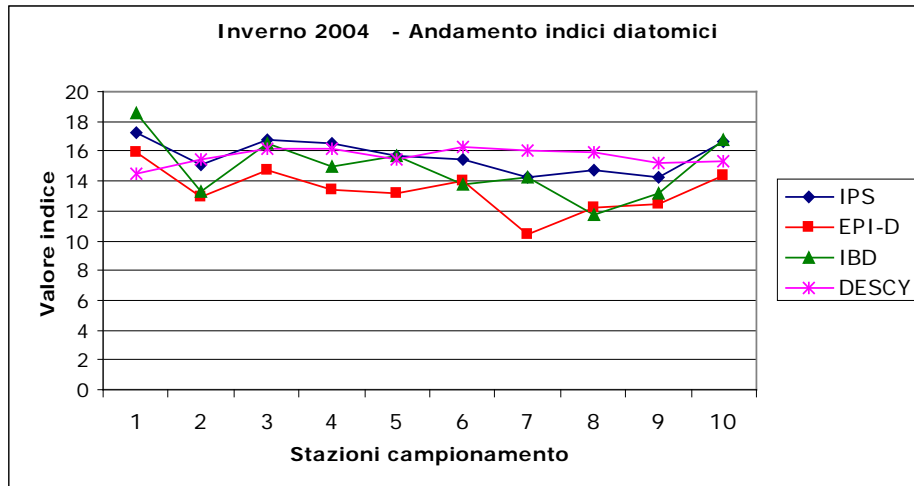


Fig. 8 – Confronto fra indici diatomici ottenuti nella campagna invernale (2004)

In linea generale gli andamenti degli indici sono risultati simili e si evidenzia che l'EPI-D tende a formulare giudizi più severi, in particolar modo se confrontato con l'indice generico IBD, Indice Biologique Diatomeès.

Alcuni scostamenti si sono osservati in corrispondenza delle due stazioni localizzate a monte della diga; è stato precedentemente discusso l'aspetto idrodinamico che caratterizza tali stazioni e l'opportunità di valutare con cautela i risultati ad essi associati.

Gli Indici di diatomici di Kelly: Trophic Diatom Index (TDI) e Taxa Pollution Tolerant (%PT) stimano rispettivamente la trofia ed il grado saprobico del corpo idrico.

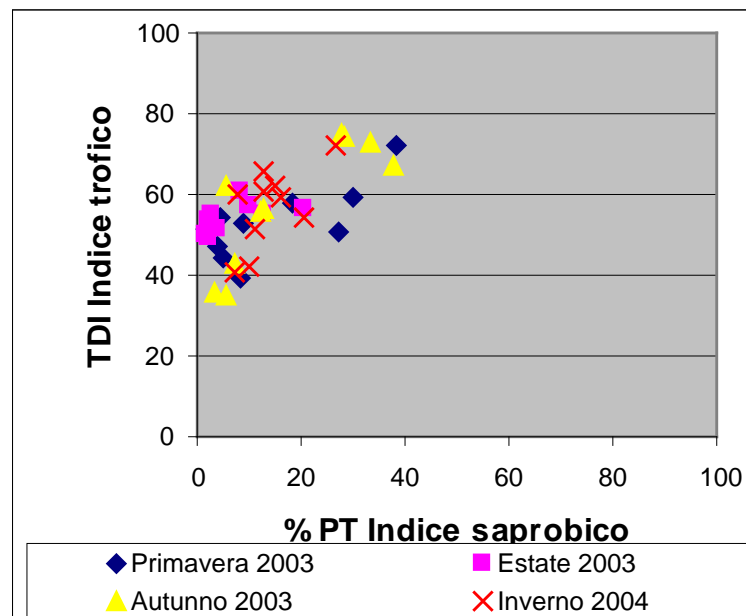


Fig. 9– Rappresentazione congiunta degli indici TDI e %PT rinvenuti nelle 4 campagne.

Dal grafico della Fig. 9, in cui sono rappresentati congiuntamente per ogni stazione i valori dei due indici e dai grafici delle Fig. 10 e 11, in cui vengono rappresentate le percentuali delle stazioni che ricadono nelle differenti classi di qualità, si evidenzia come il carico organico interessante la Dora Baltea sia estremamente basso. Nel 74% dei monitoraggi effettuati nell'arco di tutto il periodo l'Indice Taxa Pollution Tolerant (%PT) rientra infatti in Classe I;

il livello di nutrienti è invece più elevato e nel 64% dei monitoraggi effettuati l'Indice TDI è ricaduto in una classe intermedia compreso tra il 40% e 60%.

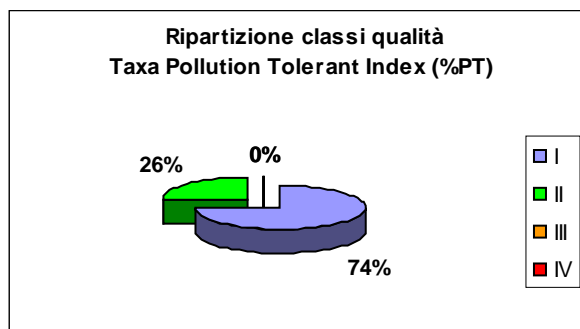
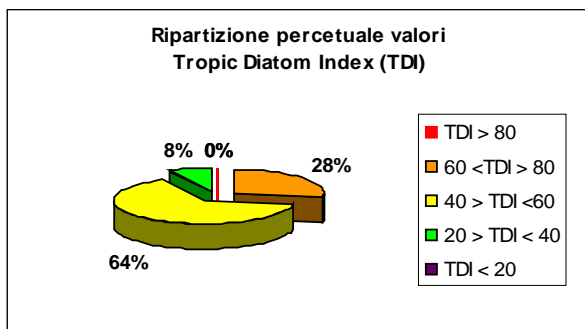


Fig. 10 - Ripartizione in classi dei valori del TDI rinvenuti complessivamente nelle 4 campagne

Fig. 11 - Ripartizione in classi dei valori del %PT rinvenuti complessivamente nelle 4 campagne.

I valori degli indici calcolati nelle varie stazioni sono stati sottoposti ad un'analisi di correlazione non parametrica. In Tab. 10 sono riportati i coefficienti di correlazione di Spearman ( $p < 0,05$ ) ottenuti confrontando i vari indici fra loro.

Tab. 10 – Coefficienti di correlazione di Spearman ( $p < 0,05$ )

	IPS	DES	TDI	%PT	EPI-D	IBD
IPS		0.539	-0.662	-0.543	0.764	0.637
DES	0.539					
TDI	-0.662			0.674	-0.894	-0.726
%PT	-0.543		0.674		-0.838	
EPI-D	0.764		-0.894	-0.838		0.581
IBD	0.637		-0.726		0.581	

L'Indice di Descy è risultato il meno correlato con gli altri indici. Si ritiene di poter spiegare tale comportamento con il fatto che tale indice è meno robusto, poiché per la sua definizione considera un numero notevolmente inferiore di taxa (106), rispetto ad altri indici come ad es. l'IPS che ne considera più di 1000.

Gli scostamenti fra gli Indici possono essere inoltre dovuti a differenti valori del coefficiente di sensibilità e del coefficiente affidabilità attribuiti ai vari taxa, es *Nitzschia Dissipata* (Kutzing) Grunow  $i = 4.5$  per l'IPS e  $i = 5$  per Descy.

### Analisi multivariata

Un'area della Statistica Ecologica che ha avuto un grande sviluppo negli ultimi anni è quella relativa all'ordinamento delle comunità biologiche.

Con *Ordinamento* s'intende descrivere un insieme di tecniche mediante le quali le stazioni di campionamento sono disposte rispetto ad uno o più assi, coordinati in modo tale che la loro posizione relativa sia tra assi, sia tra le stazioni stesse, possa fornire informazioni sulla loro similitudine ecologica.

Queste analisi consentono di individuare stazioni simili sia come composizione delle comunità diatomiche, sia come caratteristiche chimico-fisiche dell'acqua, mettendo in evidenza i gradienti ambientali, che maggiormente influenzano la struttura delle comunità.

All'elaborazione degli indici diatomici è quindi utile affiancare tali metodologie di analisi delle popolazioni per poter acquisire informazioni aggiuntive e complementari.

Al fine di mettere in relazione la composizione dei popolamenti diatomici con le variabili ambientali è stata eseguita la Canonical Component Analysis (CCA).

Essa è stata condotta per la campagna estiva (2003) considerando:

- 1) la matrice delle abbondanze assolute delle diatomee
- 2) i dati ambientali (N totale, N nitrico, N ammoniacale, Cloruri, Durezza, Conducibilità, E. coli, P totale, Ortofosfato, Nitrati, Nitriti, Solfati).

I valori di EPI-D ottenuti nella campagna estiva ricadevano tutti in classe II, indicativa di qualità buona del corpo idrico, considerando la classificazione in 5 classi e tutte in classe II, ad eccezione della stazione 9, che ricadeva in classe III, se si considera la classificazione in 8 classi. I siti indagati, da un punto di vista della qualità del corpo idrico, risultavano quindi estremamente omogenei. Dall'applicazione della CCA si sono potute acquisire ulteriori informazioni e individuare stazioni con caratteristiche comuni, sia dal punto di vista della struttura delle comunità diatomiche, sia di alcune caratteristiche chimico-fisiche dell'acqua di scorrimento.

Mediante l'adozione di tecniche di ordinamento le stazioni sono risultate separate in due raggruppamenti, Fig. 12.

Tutte le stazioni, eccetto quella immediatamente a monte della diga (stazione 7), si trovano nel semipiano a destra individuato dall'asse canonico 1.

Nel IV quadrante sono risultate incluse le stazioni 1- 2 - 3 - 4 - 5, corrispondenti ai siti localizzati più a monte del tratto fluviale monitorato.

Nel I quadrante sono localizzate le stazioni situate a valle della diga 8 - 9 - 10.

La stazione 7 risulta nettamente separata dalle restanti stazioni; sono state precedentemente discusse le peculiarità di tale stazione situata a monte della diga. In Tab. 11, sono riportati i coefficienti di correlazione fra le variabili ambientali considerate e gli assi di ordinamento.

L'asse 2 è risultato fortemente correlato, negativamente, con solfati e la durezza, inoltre è fortemente correlato positivamente con N totale, N ammoniacale e P totale.

Le stazioni più a monte evidenziano una situazione di maggior mineralizzazione.

L'azoto ammoniacale è più levato nelle stazioni localizzate a valle della diga, che probabilmente risentono di una riduzione della portata conseguente alle captazioni che vengono effettuate nel periodo estivo.

Tab. 11 – Coefficienti di correlazione tra assi di ordinamento e variabili ambientali, campagna estiva 2003, ( $p < 0,05$ ).

<b>Variabili ambientali</b>	<b>asse 1</b>	<b>asse 2</b>	<b>asse 3</b>
N ammoniacale	-0.467	0.654	0.228
N totale	-0.283	0.772	0.021
Cloruri	-0.386	-0.301	0.268
Durezza	-0.26	-0.728	0.174
P totale	-0.438	0.507	0.111
Nitrati	0.052	0.398	-0.848
Nitriti	0.095	0.32	-0.309
Solfati	-0.106	-0.857	0.231

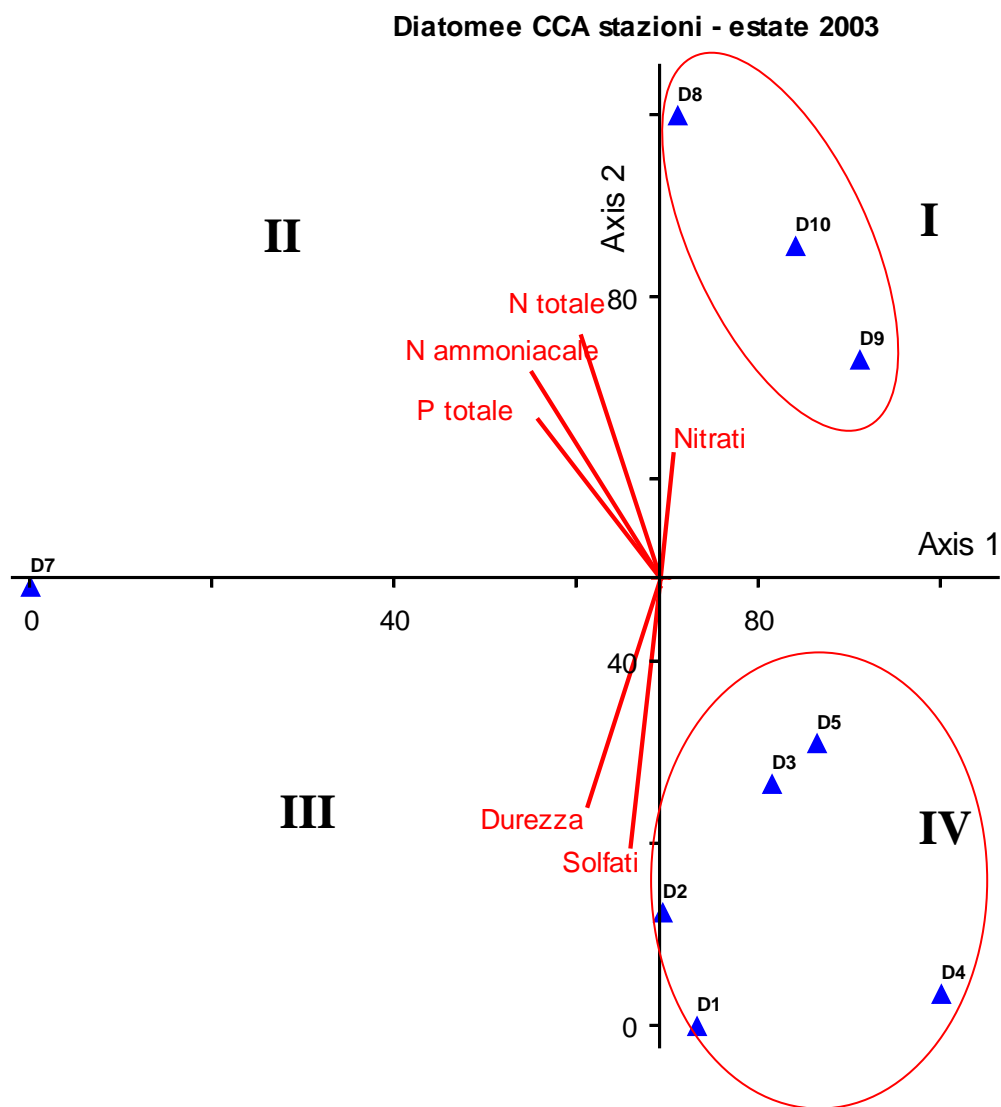


Fig. 12 - Analisi multivariata (CCA) sui dati relativi ai popolamenti diatomici e chimico-fisici relativi alla campagna estiva 2003, distribuzione delle stazioni.

Su gruppi di stazioni individuati dalla CCA è stata eseguita l'*Indicator Species Analysis* (ISA), che consente di individuare taxa particolarmente rilevanti all'interno dei gruppi considerati. I valori indicatori (Indicator Values, IV) derivanti da tale analisi variano da 0 a 100, dove 100 rappresenta una condizione di "indicazione perfetta".

Nelle Tab. 12 e 13 sono riportate le specie indicatrici rispettivamente per il raggruppamento delle stazioni localizzate a monte e a valle della diga.

Tab. 12 – Specie indicatrice derivante dalla Indicator Species Analysis relativa al raggruppamento di stazioni localizzate a monte della diga.

Raggruppamento stazioni: 1 - 2 - 3 - 4 - 5	Sigla Omnidia	Indice IV	sensibilità (De'll'Uomo) (i)	affidabilità (De'll'Uomo) (r)	Van Dam saprobic	Van Dam trophic
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg var. <i>euglypta</i> (Ehrenberg) Grunow	CPLE	65.7	1	1	2	5

Tab. 13 – Specie indicatrici derivanti dalla Indicator Species Analysis relativa al raggruppamento di stazioni localizzate a monte della diga

Raggruppamento stazioni: 8 - 9 - 10	Sigla Omnidia	Indice I/V	sensibilità (Dell'Uomo) (i)	affidabilità (Dell'Uomo) (r)	Van Dam saprobic	Van Dam trophic
<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow	APED	95,2	1,2	1	2	5
<i>Navicula gregaria</i> Donkin	NGRE	91,2	3	5	3	5
<i>Navicula salinarum</i> Grunow	NSAL	93	3	5	2	5
<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (C. Agardh) Lange-Bertalot	RABB	95,5	1,5	3	2	5

Le specie indicatrici sono  $\beta$  e  $\alpha$  mesosaprobiche ed eutrofiche secondo la classificazione di Van Dam, indicatrici rispettivamente di carico organico moderato e forte; quelle relative al semipiano caratterizzato da gradienti crescenti di N ammoniacale e N totale presentano valori di sensibilità, secondo la classificazione di dell'Uomo, indicativi di maggior tolleranza alla eutrofizzazione/polluzione.

In Fig. 13 - è rappresentata la localizzazione delle specie nel piano che corrisponde alle condizioni ambientali ottimali per il loro sviluppo.

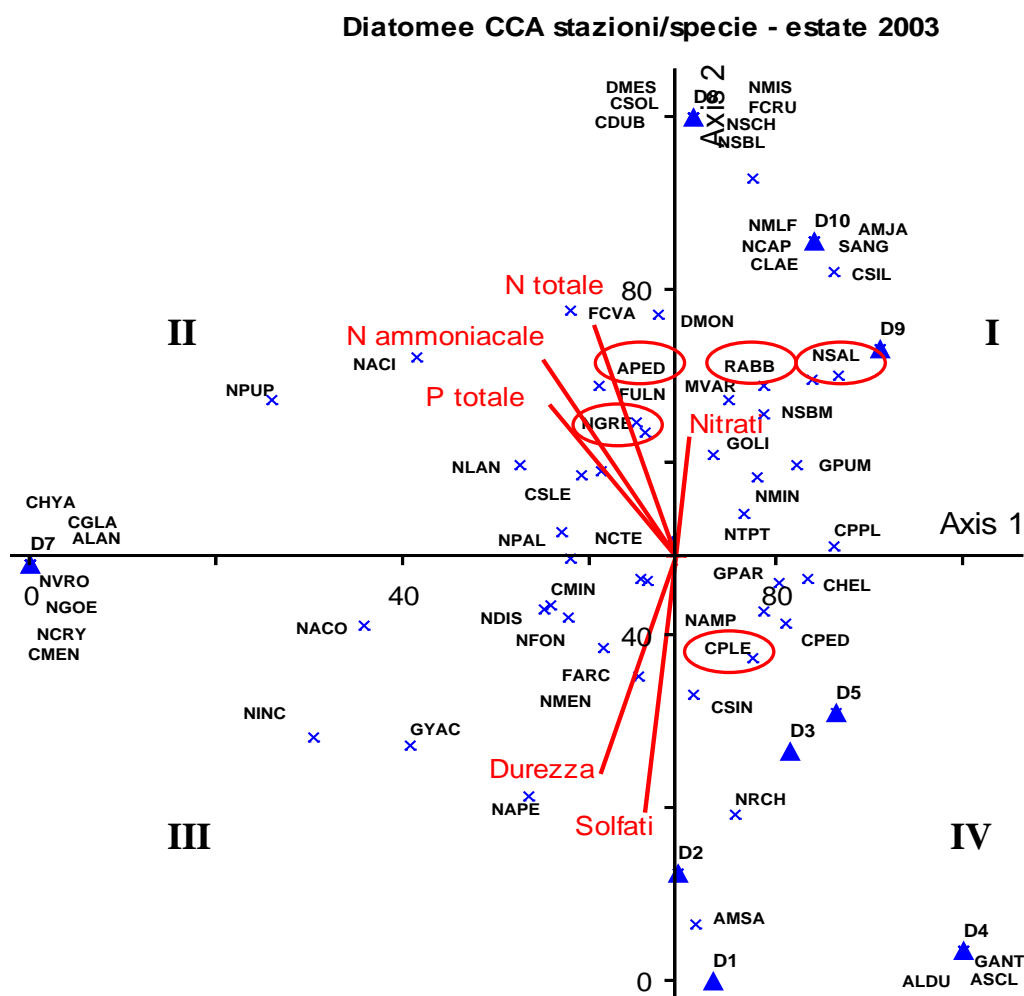


Fig.13 – Analisi multivariata (CCA) sui dati relativi ai popolamenti diatomici e chimico-fisici della campagna estiva 2003, distribuzione delle stazioni e delle specie.

Nel semipiano individuato dalle stazioni localizzate a valle della diga si segnalano due specie indicatrici ad elevata affidabilità rappresentate dalla *Navicula gregaria* Donkin e *Navicula Salinarum* Grunow; queste specie sono indicatrici di buona tolleranza all'inquinamento ( $i = 3$ ).

Relativamente al gruppo di stazioni localizzate nel IV quadrante è stata evidenziata una specie indicatrice: *Cocconeis placentula* Ehrenberg var. *euglypta* (Ehrenberg) Grunow (CPLE), che ha indice di sensibilità 1 e affidabilità 1 (Dell'Uomo). Secondo la classificazione trofica e saprobica di Van Dam (Software OMNIDIA) è una specie  $\beta$ -mesosaprobica indicatrice di moderato organico carico e, relativamente alla trofia, di condizioni eutrofiche.

## CONCLUSIONI

L'analisi delle diatomee reofile rappresenta un valido strumento per monitorare lo stato ecologico dei corpi idrici. In varie nazioni europee sono stati elaborati numerosi indici diatomici; è molto importante, nell'interpretazione delle informazioni da essi fornite, considerare se l'indice è mirato all'individuazione di particolari categorie di inquinanti (sostanza organica oppure nutrienti), o se si tratta di un indice generico (es. EPI-D), che integra più parametri indicativi di compromissione. Si ritiene opportuno, quando viene analizzata la composizione dei popolamenti di diatomee, ricorrere all'utilizzo combinato di differenti tipologie di indici, al fine di poter caratterizzare in modo più approfondito il tipo e l'entità di degrado del corpo idrico; è inoltre molto importante tenere in considerazione la robustezza degli indici considerati.

L'uso "di routine" degli indicatori diatomici è scarsamente realizzabile con la frequenza e densità di punti con cui vengono monitorati i macroinvertebrati bentonici. La classificazione delle diatomee richiede personale specializzato ed esperto ed i tempi necessari per le letture al microscopio dei preparati, con il conteggio di un numero sufficiente di individui sono piuttosto elevati. L'impiego delle diatomee nelle reti di monitoraggio, previste dalla normativa vigente, presuppone una selezione accurata e mirata dei siti.

Dalla sperimentazione presentata, è emersa l'utilità di affiancare all'elaborazione degli indici diatomici, metodologie di analisi delle popolazioni, che consentono l'acquisizione di informazioni aggiuntive e complementari sulle stazioni monitorate. Nello studio condotto sulla Dora Baltea è emerso che in generale la qualità ambientale del corpo idrico è buona; si siano riscontrate alcune cadute di qualità nel tratto intermedio, tuttavia si è evidenziato un recupero prima dell'immissione nel Po. Un fattore di pressione, che dall'analisi statistica di ordinamento, ha evidenziato una notevole influenza sulla composizione delle comunità diatomica è risultato lo sbarramento trasversale rappresentato dalla diga; inoltre si è evidenziato che, alcuni gradienti ambientali associabili ai nutrienti (N e P totali), alla durezza e ai solfati, sono risultati significativi nel condizionare la struttura delle comunità.

## BIBLIOGRAFIA

- AFNOR, 2000. Norme française NF T90-354: Qualité de l'eau - Détermination de l'Indice Biologique Diatomées (IBD). Paris: Association Française de Normalisation, 63 p.
- APAT, 2003. Linee Guida – L'Indice Diatomico di Eutrofizzazione/Polluzione (EPI-D) nel monitoraggio delle acque correnti, 93 p.
- Battegazzore, M., Morisi, A., Gallino, B. e Fenoglio, S., 2004a. Environmental quality of Alpine springs in NW Italy using benthic Diatoms. *Diatom Research*, 19(2), 149-165.



Battegazzore, M., Gallo, L., Lucadamo, L. e Morisi, A., 2004. Quality of the main watercourses in the Pollino National Park (Apennine Mts, S.Italy) on the basis of the Diatom benthic communities. Atti XVI Convegno del Gruppo per l'Ecologia di Base "G. Gadio" Il fiume e il suo bacino Pavia, 10 - 12 maggio 2003. Studi Trentini di Scienze Naturali - Acta Biologica, 80, 89-93.

Battegazzore, M., Fenoglio, S., Gallo, L., Lucadamo, L. e Morisi, A., 2005. Esperienze di studio della qualità biologica di corsi d'acqua italiani mediante l'uso delle diatomee. *Biologia Ambientale*, 19 (1), 1-8

CEN, 2002. prEN 14407:2002 (E) Water quality - Guidance standard for the identification and enumeration of benthic diatom samples from rivers, and their interpretation. (Under Approval). CEN/TC 230-Work programme.

Dell'Uomo, A., 1991. Use of benthic macroalgae for monitoring rivers in Italy. In: B.A. Whitton, E. Rott and G. Friedrich (Editors), Use of algae for monitoring rivers. Innsbruck: Universität, Institut für Botanik, 129-137.

Dell'Uomo, A., 1996. Assessment of water quality of an Apennine river as a pilot study for diatom-based monitoring of italian watercourses. In: B.A. Whitton, E. and Rott E. (Editors) Use of algae for monitoring rivers II. Institut für Botanik, Universität Innsbruck, 65-73.

Dell'Uomo, A., 1999. Use of algae for monitoring rivers in Italy: current situation and perspectives. In: J. Prygiel, B.A: Whitton and J. Bukowska (Editors), Use of algae for monitoring rivers III. Proceedings of an International Symposium held at the Agence de l'Eau Artois-Picardie: Douai, France, 29 September - 1 October 1997. Douai Cedex: Agence de l'Eau Artois-Picardie, 17-25.

Dell'Uomo, A. e Tanucci, C., 1996. Impiego delle Diatomee nel monitoraggio biologico del Fiume Musone (Marche). S.It.E. Atti, 17, 499-502.

Dell'Uomo, A. e Grandoni, P., 1997. Diatomee e qualità dell'acqua: biomonitoraggio del Fiume Sentino (bacino del Fiume Esino, Marche). S.It.E. Atti, 18, 445-448.

Dell'Uomo, A., Pensieri A. e Corradetti D., 1999. Diatomeés épilithiques du fleuve Esino (Italie centrale) et leur utilisation pour l'évaluation de la qualité biologique de l'eau. *Cryptogamie, Algol.*, 20 (3), 253-269.

Dufrêne, M. e Legendre P., 1997. Species assemblages and indicators species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs* 67:345-366.

Grandoni, P. and Dell'Uomo, A., 1996. Biomonitoraggio dell'alto corso del Fiume Potenza (Marche) mediante impiego di Diatomee. *Riv. Idrobiol.*, 35 (1/2/3), 71-85.

Fassina, S., 2001. Applicazione e comparazione di tre Indici Diatomici e dell'Indice Biotico Esteso per la valutazione della qualità ambientale in ecosistemi fluviali. Tesi di laurea, Università di Torino, 84 p.

Griselli, B., Fogliati, PL. e Ponsetti D., 2002. Studio ecosistemico del tratto piemontese della Dora Baltea mediante l'impiego dell'Indice di Funzionalità Fluviale. Pubblicazione ARPA Piemonte, 1-109.

Griselli, B., Fogliati, P.L., Ghione, M., Stivaletti, C. e Zambelli, P., 2003. Biomonitoraggio delle acque correnti mediante l'impiego di indicatori algali, studio pilota sul Malone e suoi affluenti, Pubblicazione Arpa Piemonte, 56 p.

Griselli, B., Fogliati, P.L., Ghione, M., Pastoris, F., Stivaletti, C., Bona F. e Badino, G., 2005. Applicazione dell'Indice Diatomico EPI-D nella valutazione della qualità di corpi idrici piemontesi. Atti del Seminario: Classificazione ecologica delle acque interne. Applicabilità della Direttiva 2000/60/CE. Trento, 12-13 febbraio 2004. *Biologia Ambientale*, 19, (1): 1-8.

Kelly, M.G., Whitton, B.A., 1995. The Trofic Diatom Index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *J. Appl. Phycol* 7, 433-444.

Pastoris, F., 2003. Applicazione dell'indice diatomico E.P.I. (eutrophication and pollution index) per la valutazione della qualità ambientale dei corsi d'acqua canavesani. Tesi di Laurea, Università di Torino, 108 p.

Prygiel, J., Coste, M. e Bukowska, J., 1999. Review of the major diatom-based techniques for the quality assessment of rivers - State of the art in Europe. In: J. Prygiel, B.A. Whitton and Bukowska J. (Editors). *Use of algae for monitoring rivers III. Proceedings of an International Symposium held at the Agence de l'Eau Artois-Picardie: Douai, France, 29 September - 1 October 1997. Douai Cedex: Agence de l'Eau Artois-Picardie. pp 224-238.*

Zelinka, M. e Marvan, P., 1961. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Arch. Hydrobiol*, 57, 389-407.





## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D. Lgs. 152/99”**

### **Sottoprogetto**

**“Indagini sulle acque e sui sedimenti del lago Sirio di Ivrea”**

**Responsabile scientifico: Dott. Albino Defilippi  
Dipartimento Sub provinciale di Ivrea**

**Autori: Paola Camoletto, Albino Defilippi**

## ABSTRACT

Il Lago Sirio è situato allo sbocco della Valle d'Aosta in provincia di Torino, ad una quota di 271 m s.l.m., in una zona caratterizzata dalla presenza di altri quattro specchi d'acqua minori e denominata "Area dei cinque laghi della zona morenica di Ivrea".

Il lago è classificato e controllato per utilizzi balneari ex DPR 470/82 e, con l'entrata in vigore della legge 152/99 è stato classificato per la prima volta relativamente al biennio 2001-2002 in 4 stato ecologico ed in stato ambientale scadente.

Il presente lavoro, avviato praticamente con il febbraio 2004 si è protratto per 12 mesi con campionamenti per lo più a cadenza mensile cercando di concentrare l'attenzione sulle comunità fito e zooplanctoniche e sulla valutazione di alcuni aspetti chimici dei sedimenti., insieme alla caratterizzazione chimica e chimico fisica delle acque.

I risultati hanno portato a riconoscere nei sedimenti superficiali livelli molto elevati di fosforo (valor medio di 1522 mg/Kg ) ed azoto totale (4010 mg/Kg) che ciclicamente vengono rilasciati e supportano i cicli di crescita delle comunità fitoplanctoniche.

Le comunità fito e zooplanctoniche sono risultate essere costituite rispettivamente da 44 e da 23 specie però evidenziando bassi valori degli indici di diversità di Shannon e Weaver (valori medi annuali di 1,33 e di 1,20 rispettivamente per fito e zooplancton).

L'applicazione delle tecniche di trattamento statistico dei dati (CCA e d ISA), hanno permesso di individuare alcune relazioni tra fitoplancton e le matrici ambientali di cui i più significativi sono rappresentati dall'evidenza che i cianobatteri siano correlati ad alte temperature e valori di pH elevati, mentre non risentono delle concentrazioni di azoto e fosforo, contrariamente alle cianoficee, collegabili ai nutrienti, ma poco influenzate dalla temperatura. Basse temperature sono viceversa importanti per le crisoficee.

Gli indici di Shannon e Weaver confermano la condizioni di 4 livello di stato ecologico e stato ambientale scadente.

## INTRODUZIONE

Il Lago Sirio è situato allo sbocco della Valle d'Aosta alla periferia della pianura piemontese, in provincia di Torino, in una zona caratterizzata dalla presenza di altri quattro specchi d'acqua minori e denominata "Area dei cinque laghi della zona morenica di Ivrea".

Il lago, di origine glaciale, è inserito in una conca naturale circondata da modesti rilievi collinari ad una quota di 271 metri sul livello del mare, occupa una superficie di 0,315 chilometri quadrati, con una profondità massima di 45 metri ed una profondità media di 24 metri. La capacità dell'invaso è di circa  $5,4 \cdot 10^6$  metri cubi.

La superficie del bacino idrografico risulta essere di circa 1,8 chilometri quadrati con un rapporto tra superficie e bacino idrografico di 0,17.

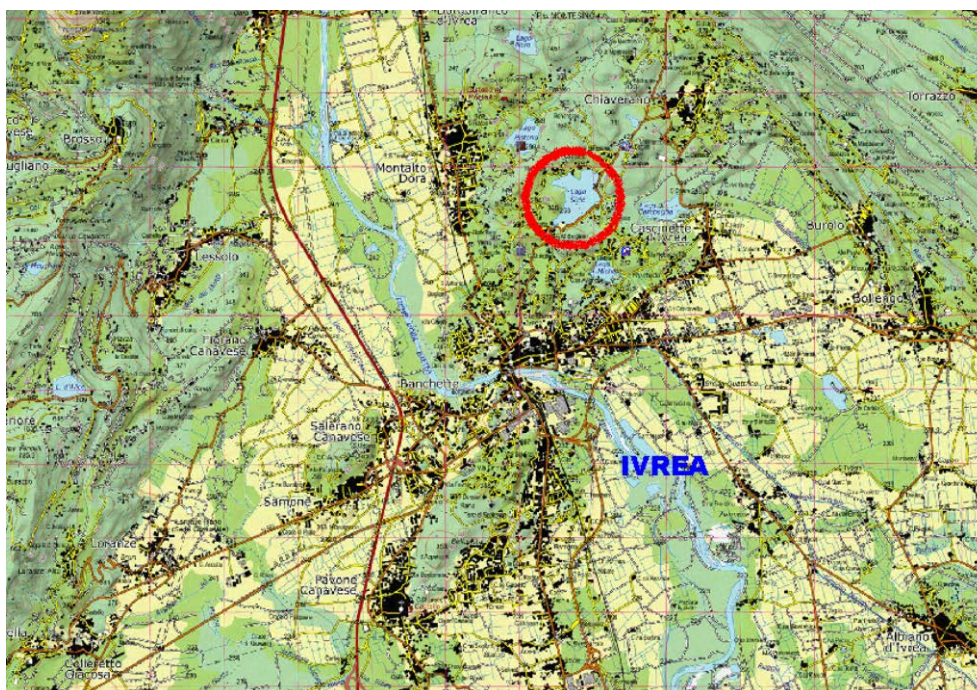


Figura 1: collocazione geografica del Lago Sirio

Il lago non presenta immissari veri e propri, ma unicamente "polle" sotterranee di alimentazione, mentre l'emissario, ubicato nella parte Sud-Est del bacino, consiste in un unico canale sfioratore le cui acque confluiscono nel limitrofo lago di Campagna e da questo verso la Dora Baltea.

Considerando una piovosità media della zona di circa 1050 mm/anno, il tempo di ricambio è stimato in 5,7 anni.

Il territorio circostante il lago è caratterizzato da una serie di colline che racchiudono la conca lacustre, contraddistinte da una forte pendenza e da una tipica rocciosità. Dal punto di vista geologico, l'area in cui è inserito il Lago Sirio è caratterizzata dalla presenza di due grandi linee tettoniche, sub parallele all'arco alpino occidentale denominate "Linea del Canavese interna", (caratterizzata da un basamento cristallino metamorfico paleozoico ed intruso di graniti e dioriti sul quale poggia una copertura più recente costituita da carbonati, argilliti, arenarie e vulcaniti) e "linea del Canavese esterna" (caratterizzata da micascisti, gneiss minuti, gneiss occhiadini e gneiss eclogitici). A seguito del definitivo ritiro del corpo glaciale all'imbocco della valle (inizio Olocene), le innumerevoli depressioni presenti nella zona vengono occupate da bacini lacustri di cui si sono conservati solo i più consistenti che hanno dato vita agli attuali "cinque laghi": Nero, Campagna, S. Michele, Pistono e Sirio.

Le sponde del lago sono principalmente caratterizzate da rive boschive, per lo più scoscese e da brevi tratti pianeggianti sulla sponda NE e tratti di prato sulla sponda NW; non sono presenti coltivazioni di tipo intensivo e/o allevamenti di animali.

La vegetazione acquatica del lago è molto poco sviluppata a causa della forte inclinazione e della tipica rocciosità delle sponde che non permettono l'affermazione di una vegetazione tipicamente palustre. Lungo le sponde, nei tratti menoscossi, è comunque presente una fascia continua di vegetazione acquatica sommersa rappresentata da un popolamento monofitico di ranocchia maggiore (*Najas marina*), che si sviluppa ad una profondità massima di 4-5 metri. Sono poi presenti popolamenti di ninfea bianca (*Nymphaea alba*), di falasco (*Cladium mariscus*), di millefoglio d'acqua comune (*Myriophyllum spicatum*), di canna di palude (*Phragmites australis*), di lisca maggiore (*Typha latifolia*) e di lisca lacustre (*Schoenoplectus lacustris*); non è mai stata segnalata la presenza di castagna d'acqua (*Trapa natans*) (Tisi 2004)

Gli insediamenti abitativi sono per lo più concentrati lungo la sponda Nord (Canton Marchetto) e risultano di modesta consistenza, 15-20 fabbricati ed un complesso di 29 villette unifamigliari nelle quali risiedono stabilmente un centinaio di persone; sono poi presenti due stabilimenti balneari, con annesso bar-ristorante, una trattoria ed alcuni bar.

Dalla seconda metà degli anni novanta, tutta la zona è servita da pubblica fognatura in cui recapitano tutti gli insediamenti civili.

Fin dall'entrata in vigore del D.P.R. 470/82, si sono delimitate cinque zone idonee alla balneazione, sono stati effettuati i controlli previsti dalla normativa ed il lago è stato classificato per la prima volta idoneo alla balneazione con deliberazione G.R. del Piemonte n. 91-19363 dell'8.3.'88 (Tartaglino et al. 1999, Defilippi et al. 2000)

Con l'entrata in vigore del D. L.gvo 152/99, è stato individuato dalla Regione Piemonte come lago significativo ed inserito nel programma di classificazione e controllo, con la prima classificazione effettuata con DGR 14-11519 del 14 gennaio 2004 relativa al biennio 2001-2002 evidenziando il lago in 4 classe di stato ecologico ed in stato ambientale scadente.

## **OBIETTIVI**

La classificazione degli ambienti lacustri introdotta dal D. Lgvo 152/99 è piuttosto semplice (due campionamenti nei periodi di massimo rimescolamento e massima stratificazione), ma piuttosto semplice, ma piuttosto lacunoso per quanto riguarda sedimenti e biota (punti 3.3.1.2 e 3.3.1.3), per cui rimanda alle considerazioni effettuate per i corpi idrici superficiali, che probabilmente non sono immediatamente applicabili agli ambienti lacustri. Le stesse determinazioni di clorofilla "a" e trasparenza sono poi enormemente influenzate da situazioni contingenti, legate a "bloom" algali che non sono minimamente considerate. In ogni caso la classificazione effettuata nell'anno 2004, ha individuato il lago Sirio in 4 classe di stato ecologico, con conseguente stato ambientale scadente (ARPA-Piemonte 2005). Questa classificazione porta, ovviamente ad una situazione importante per la Regione Piemonte, in quanto devono essere individuate le azioni da mettere in atto per il risanamento. La situazione del lago Sirio è piuttosto simile a quelle che si rilevano in altri laghi minori, dove già la situazione ipolimnica dell'ossigeno alla massima stratificazione basta da sola alla classificazione di uno stato ambientale "scadente".

Con queste premesse, il presente lavoro intende approfondire le conoscenze sui sedimenti e sulla prima parte della catena trofica (fitoplancton e zooplancton), cercando di evidenziare, attraverso il trattamento statistico dei dati, le relazioni esistenti tra chimica delle acque-biota e sedimenti.



## MATERIALI E METODI

### La campagna di campionamento

La campagna di campionamenti è stata avviata a partire dal 2 febbraio 2004 ed è proseguita, con cadenza circa mensile, fino al marzo 2005 con complessivi 13 campionamenti effettuati nei giorni: 2 febbraio, 1 marzo, 31 marzo, 10 maggio, 31 maggio, 5 luglio, 3 agosto, 6 settembre, 18 ottobre, 4 novembre, 1 dicembre 2004, 12 gennaio e 7 marzo 2005, in corrispondenza del punto di massima profondità (denominato “Centro lago”, circa 45 m di profondità) ed in altri due, denominati “Roccione” e “Scaricatore”, alla profondità di circa 20 metri.



Figura 2. Collocazione dei tre punti di campionamento: “Centro lago” (rosso), “Roccione” (giallo), “Scaricatore” (verde).

Come già indicato nella relazione conclusiva della fase I, le coordinate sono rispettivamente  $x = 412795 - y = 5037495$ ;  $x = 412650 - y = 5037752$ ;  $x = 412846 - y = 5037389$  ed i punti sono evidenziati sulla figura 2.



Figura 3: Attrezzature utilizzate per campionamenti e misure in campo (bottiglia di Ruttner; retino da zooplancton; disco di Secchi, Sonda multiparametrica, Benna)

In particolare nel punto di massima profondità si è provveduto ad effettuare le determinazioni chimico-fisiche sulla colonna d'acqua, direttamente in campo, i campionamenti per le determinazioni chimiche sulla colonna, i campionamenti per le determinazioni di fitoplancton e zooplancton oltre a due campioni di sedimento e campioni all'interfaccia acqua-sedimento. Nei punti indicati come "Roccione" e "Scaricatore" si sono eseguiti campionamenti all'interfaccia acqua-sedimento, per cercare di valutare le dinamiche di rilascio del fosforo dai sedimenti oltre a due campioni di sedimento.

I campioni di acqua alle diverse profondità, ed all'interfaccia, sono stati prelevati per mezzo di una bottiglia di Ruttner, e sono stati analizzati singolarmente. Aliquote dei campioni prelevati nei primi 10 metri sono state quindi miscelate (dando origine ad un "campione integrato") utilizzato per il conteggio delle famiglie algali e per la determinazione della clorofilla "a".

I campioni di zooplancton sono stati effettuati attraverso due retini a maglie rispettivamente di 125 e 70 micrometri, calati alla profondità di 10 metri nella colonna e quindi recuperati in modo da filtrare la colonna d'acqua sovrastante.

Il prelievo dei sedimenti è stato eseguito con una benna effettuando tre "pescate" di sedimento per ogni punto.

I campioni di sedimento sono stati setacciati con setacci da 4 mm, 2 mm, 1 mm e 212  $\mu\text{m}$ , omogeneizzati in un mortaio, anidrificati a temperatura ambiente, pesati e quindi conservati in freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ . Il campione con granulometria inferiore a 212  $\mu\text{m}$  è stato utilizzato per l'analisi.

I campioni di alghe sono stati fissati in liquido di Lugol (soluzione contenente iodio e potassio ioduro, che permette di fissare e colorare le cellule algali) e conservati a temperatura ambiente.

I due campioni di zooplancton sono stati separatamente filtrati in laboratorio attraverso un filtro con maglie del diametro di 80 micrometri.

Ciascun filtrato è stato fissato con una soluzione di formalina al 4%. Si è alternata la fissazione in formalina con la fissazione in alcool al 70%, che garantisce un tempo di conservazione minore (e comunque sufficiente per le determinazioni), ma che assicura migliori condizioni di sicurezza per l'operatore.

## Metodi di analisi

Le determinazioni in campo sono effettuate misurando alcuni parametri chimico - fisici, (temperatura, ossigeno disciolto, concentrazione idrogenionica, potenziale di ossido riduzione) per mezzo di una sonda multiparametrica (mod.IPO18D – Hydromar, Ge) e la trasparenza attraverso il “disco di Secchi”.

I metodi di analisi utilizzati in laboratorio sono per lo più metodi proposti nel manuale APAT IRSA-CNR n.29 del 2003. In particolare:

- anioni e cationi sono stati determinati in cromatografia ionica (metodi 4020 e 3030)
- pH con metodo potenziometrico (metodo 2060)
- conducibilità elettrica (metodo 2030)
- alcalinità attraverso una titolazione acido-base e lettura potenziometrica (metodo 2010)
- clorofilla *a*, mediante metodo spettrofotometrico (metodo 9020)
- I metalli vengono determinati attraverso “lettura diretta” sull’acqua acidificata con 1% di acido nitrico, per mezzo dell’ICP/MS (metodo EPA 200.8)
- La misura dell’azoto e del fosforo totali viene effettuata previa ossidazione con persolfato
- determinando la concentrazione di questi elementi attraverso una lettura ad una determinata

lunghezza d’onda in cuvette di quarzo, rispettivamente da 1 cm e da 5 cm, mediante spettrofotometro HP (modello 8453). Per la determinazione del fosforo totale si è seguito il metodo CNR IRSA quaderno 100, 4090:1994, mentre per l’azoto totale si è applicato il metodo APAT IRSA-CNR, 4060 manuale 29 - 2003.

- Le determinazioni dell’azoto e del fosforo sui sedimenti sono effettuate attraverso un metodo sviluppato nel nostro laboratorio che prevede un attacco ossidante con persolfato e lettura in modo analogo a quanto effettuato sulle acque.
- I metalli nei sedimenti sono determinati in ICP/MS previo attacco del sedimento con acido nitrico e acqua ossigenata in forno a microonde. L’utilizzo dell’acqua ossigenata ha indubbi vantaggi per la successiva “lettura” in ICP/MS in quanto evita la presenza dei cloruri che sono fonti di notevoli interferenze spettrali. La qualità dell’attacco e della successiva determinazione è stata verificata con la partecipazione ai due circuiti organizzati da APAT negli anni 2003 e 2004 (APAT IC001 ed APAT IC002) con risultati assolutamente soddisfacenti.
- L’analisi del popolamento fitoplanctonico viene eseguita su aliquote di 10 ml, prelevati dal

campione integrato fissato attraverso la soluzione di Lugol e posti in apposite cuvette in vetro. L’identificazione ed il conteggio delle diverse specie fitoplanctoniche sono stati effettuati seguendo il classico metodo di Utermöhl o “metodo del microscopio rovesciato”, utilizzando un microscopio invertito (Zeiss Axiovert 10), con un ingrandimento pari a 400x . Per il riconoscimento delle diverse specie fitoplanctoniche si utilizzano i trattati specifici: Tiffany e Britton (1951), Bourrelly (1966, 1968,1970) e Streble e Krauter (1992). La densità (numero di cellule per litro) è calcolata a partire dal numero di individui in 44 campi immaginari, si conta il numero presente in una cuvetta e quindi si risale al numero di unità in un litro d’acqua.

La stima del biovolume cellulare ( $\text{mm}^3/\text{m}^3$ ) è ottenuta moltiplicando il valore del volume delle singole cellule algali per il valore di densità delle stesse. Il calcolo viene effettuato a partire dalla misura al microscopio ottico, delle loro dimensioni lineari approssimandone la forma a solidi geometrici semplici, così come riportato in letteratura (Trevisan, 1978)

L’analisi delle diverse specie zooplanctoniche è stata eseguita con un microscopio ottico ad un ingrandimento di 100x, identificando i diversi individui attraverso l’uso di appositi

manuali e guide con chiavi dicotomiche: Dussart (1969), Harding e Smith (1974), Stella (1982), Braioni e Gelmini (1983) e Margaritora (1984)

Il conteggio è effettuato, previa miscelazione, su circa 1 ml di subcampione posto su di un particolare vetrino portaoggetti ed è stato ripetuto per un minimo di cinque volte, prelevando ogni volta diversi subcampioni. Si considera la media di tutti i conteggi eseguiti per ogni categoria, espresso in "n° medio individui/ml" e da questo si risale alla densità degli organismi, "n° individui/m<sup>3</sup>", mediante una semplice formula matematica.

I risultati sono poi trasformati in valori per metro cubo di acqua filtrata per evitare di perdere informazioni sulle specie meno frequenti.

Poiché la componente zooplanctonica è costituita da una grande varietà di organismi di dimensioni notevolmente diverse, per rendere confrontabile la consistenza delle diverse categorie è necessario prendere in considerazione le biomasse o i biovolumi.

A partire dalla densità di ogni singola specie si calcolano i valori di biovolume attraverso i coefficienti di trasformazione indicati nei lavori di Nauwerk (1963) e de Bernardi et al. (1974).

I valori di biovolume, espressi come  $\mu\text{m}^3/\text{m}^3$ , sono ottenuti moltiplicando i coefficienti di biovolume di ogni specie per le densità delle stesse nel lago. Per rendere tali dati confrontabili con quelli relativi al biovolume fitoplanctonico vengono poi espressi in  $\text{mm}^3/\text{m}^3$ .

### **Analisi statistiche**

Le analisi statistiche saranno effettuate utilizzando il software Microsoft EXCEL<sup>®</sup> per il calcolo dell'Indice di Shannon - Weaver (1949) ed il software PC-ORD<sup>®</sup> per l'Indicator Species Analysis (ISA) e per la Canonical Correspondance Analysis (CCA) (Dufrene et al., 1997)

L' **Indice di diversità di Shannon e Weaver, (H)**, è un parametro frequentemente utilizzato per descrivere il livello di organizzazione delle comunità planctoniche e la loro dinamica stagionale (Odum, 1998), attraverso l'applicazione della seguente equazione:  $H = -\sum p_i \times \ln p_i$   
Dove  $p_i$  (numero di specie) è dato dal rapporto  $n_i / N$  in cui  $n_i$  è il numero di individui che appartengono alla i-ma specie ed  $N$  è il numero totale di individui di tutte le specie presenti.

Questa espressione rappresenta la quantità media di informazione per individuo, secondo un criterio per cui ogni individuo di una specie ha un contenuto di informazione tanto più rilevante quanto più la specie è rara. Il massimo valore di H si ottiene quando tutte le specie hanno la medesima frequenza, mentre il minimo si osserva quando tutte le specie sono rappresentate da un solo individuo, tranne una a cui appartengono tutti i rimanenti individui.

L'Indice può assumere un valore teorico da zero a infinito e spesso viene assunto come indicatore di livello trofico. Per le comunità fitoplanctoniche, i valori di tale indice, sono in genere compresi tra 1 (laghi eutrofici) e 4,5 (bacini oligotrofici), ma più spesso ricadono dell'intervallo compreso tra 2,4 e 2,6 (Streble, 1992)

L'**Indicator Species Analysis (ISA)** è un'analisi di comunità finalizzata a scoprire e a descrivere il valore di specie differenti in relazione alle condizioni ambientali.

Questo metodo combina informazioni sull'abbondanza relativa di una specie in un particolare gruppo di condizioni ambientali, con la ricorrenza di quella stessa specie in quel gruppo.

L'interpretazione dell'analisi viene eseguita considerando l'*indicator value* relativo a ciascuna specie. Questo "valore di indicazione" è espresso in percentuale e varia da 0% a 100%, più è alto più è alta l' indicazione della specie nei confronti della variabile categorica indicata nella prima colonna della matrice. Infine, la verifica della sua attendibilità statistica, viene eseguita previa applicazione di mille permutazioni, con la verifica dell'ipotesi nulla effettuata tramite il "Monte Carlo test" (p) che viene sempre ritenuto valido per valori di  $p \leq 0.05$ . Ovviamente, maggiore è il numero di zeri dopo la virgola maggiore è la significatività della specie nei confronti della variabile categorica che le raggruppa.

Si utilizzerà costruendo diverse matrici di densità fitoplanctonica differenti ciascuna dal parametro ambientale raggruppante la specie. Tali matrici portano sulle colonne le specie censite e, sulle righe, i mesi di campionamento, oltre ad una colonna con un parametro qualitativo, di tipo chimico o fisico in base al quale vengono raggruppate le specie.

Per l'analisi dello zooplancton, si è tenterà di costruire una serie di matrici interamente biologiche nelle quali, nella prima colonna, anziché inserire un parametro chimico – fisico si inserisce il *phylum* fitoplanctonico che ha registrato il valore massimo di densità nel dato mese di campionamento. Si utilizzerà questa forma pensando una maggiore relazione tra fito e zooplancton piuttosto che tra zooplancton e parametri chimico – fisici.

La **Canonical Correspondance Analysis (CCA)** è un ordinamento basato sull' assunto che le abbondanze delle diverse specie siano distribuite in modo proprio e caratteristico lungo un certo gradiente ambientale, assumendo che le singole specie siano direttamente relazionate alle variabili ambientali. La CCA fornisce rappresentazioni grafiche dell'ordinamento eseguito, in base ai dati inseriti nella tabella di contingenza. Il grafico rappresenta, rispetto a tre assi, la distribuzione nello spazio delle specie o dei gruppi planctonici (indicati da punti) in relazione ai parametri chimico – fisici (indicati da vettori) assumendo che:

1. l'ordinamento delle specie è fornito dalla loro posizione relativa lungo gli assi;
2. la sistemazione delle specie nello spazio indica la similarità tra di esse;
3. la lunghezza dei vettori ambientali è proporzionata alla propria importanza;
4. la direzione dei vettori ambientali indica la loro correlazione con ciascun asse (ad es. un vettore parallelo ad un dato asse è molto correlato con questo);
5. la posizione delle specie vicino ai vettori ambientali ne suggerisce l'affinità (Ter Braak, 1986)

L' accettabilità dell'analisi è sostenuta, oltre che dalla verifica del “Monte Carlo test” (p), dai valori della varianza esplicata dall'asse (*eigenvalue*), dalla varianza esplicata dalla matrice biologica e dalla percentuale cumulativa di varianza spiegata. In generale, per le applicazioni svolte, sono ritenute accettabili rielaborazioni in cui vi sia almeno un asse sui tre indicati, con “p”  $\leq 0.05$

Per ogni analisi, vengono messe in relazione due matrici (contenenti nelle colonne rispettivamente le specie o i gruppi planctonici censiti ed i parametri chimico fisici) con in comune il numero delle righe indicanti i mesi di campionamento. In generale, la prima matrice racchiude i dati relativi alle comunità planctoniche dei vari campionamenti, la seconda, invece, è costruita sulla base dei parametri chimico - fisici rilevati durante le stesse campagne di prelievo; per quanto riguarda l'elaborazione statistica dei campioni di zooplancton la seconda matrice è costituita dai gruppi fitoplanctonici.

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

L'insieme dei risultati ricavati da misure in campo e dalle analisi di laboratorio espressamente effettuate per il presente studio, insieme alle misure effettuate per il controllo di III livello sulle acque ai fini dell'utilizzo balneare delle stesse, hanno permesso di recuperare una notevole mole di dati e di esplorare in modo particolare alcuni aspetti della biologia del lago assolutamente innovativi

### **CHIMICA – FISICA DELLE ACQUE**

I dati chimico fisici misurati durante l'esecuzione del presente lavoro, hanno confermato la situazione nota e caratteristica per il lago Sirio. In particolare, a titolo di completezza descrittiva, si riportano i commenti sintetici dei parametri principali.

#### **Temperatura**

L'evoluzione termica delle acque ha confermato le caratteristiche già note: forte gradiente

termico tra gli strati superficiali e quelli profondi nel periodo estivo (con il valore massimo di temperatura di 28,3 °C registrato il 3 agosto) e sostanziale costanza termica in profondità (3,5-4,9 °C).

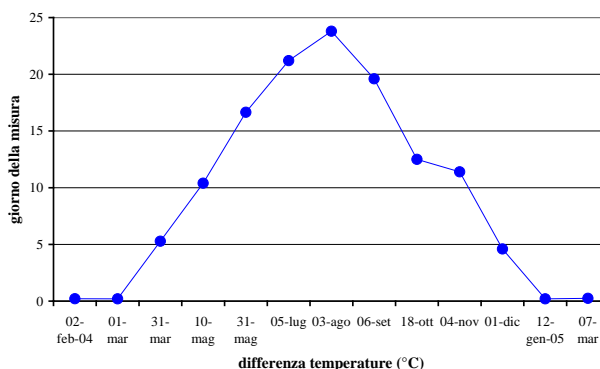


Figura 4: gradiente termico tra superficie ed ipolimnio

Per quanto riguarda l'evoluzione termica stagionale il lago è passato da un completo rimescolamento nel campionamento del 2 febbraio 2004, ad una forte stratificazione termica, per ritornare ad essere parzialmente rimescolato nel campionamento del 12 gennaio 2005. Il completo rimescolamento si è avuto solo nel mese di febbraio, mese oltre tutto caratterizzato da condizioni atmosferiche avverse e dalla presenza di uno strato di ghiaccio superficiale.

### Ossigeno disciolto

L'ossigeno disciolto (in termini di percento di saturazione), ha presentato valori caratteristici a seconda del periodo considerato e del livello di stratificazione termica. In effetti, durante il rimescolamento invernale si sono registrati valori uniformemente costanti sull'intera colonna d'acqua (con valori massimi intorno al 90-95% di saturazione in marzo). Con l'instaurarsi della stratificazione, che è iniziata a partire dal mese di aprile si sono registrati valori di ossigeno superiori al 100% (con un massimo pari a 172 % registrato in superficie il 31 marzo 2004) nell'epilimnio, mentre nell'ipolimnio si sono registrati valori di anossia totale a livello del fondo a partire dal prelievo del 31 maggio che sono perdurati fino al rimescolamento invernale.

### pH

I valori del pH hanno raggiunto il valore massimo in superficie (pH di 8.8) il 6 settembre 2004. Negli strati profondi esso è abbastanza costante in tutto il periodo dell'anno con valori compresi tra 6,85 e 8.14. Il pH medio del lago nel periodo di rimescolamento (febbraio-marzo 2004) è di 7,7

### Potenziale Redox

Il potenziale Redox, purtroppo è stato misurato solo saltuariamente nella colonna d'acqua a causa di problemi all'unica sonda disponibile.

In ogni caso i valori di potenziale nella colonna d'acqua seguono fedelmente la concentrazione dell'ossigeno disciolto, passando da valori positivi sull'intera colonna nel periodo invernale a valori decisamente negativi sul fondo durante tutto il periodo della stratificazione termica.

## **Trasparenza**

La trasparenza presenta il valore minimo il 1 marzo (m 1,75) in concomitanza con la prima fioritura algale importante di fine del rimescolamento invernale legato all'aumento delle temperature e dell'irraggiamento solare.

Il valore più elevato (m 7,00) si è registrato il 31 maggio, mentre la maggior parte dei valori sono compresi tra 4 e 6 metri.

## **CHIMICA DELLE ACQUE**

### **Parametri di base**

Il lago Sirio presenta un modesto contenuto salino, in cui i due ioni a maggior concentrazione sono rappresentati dal calcio e dalla coppia carbonato/bicarbonato (rispettivamente 1,34 ed 1,54 mEq/l), seguiti dal magnesio e dal solfato (in concentrazioni di 0,56 e 0,43 mEq/l)

Sull'intera colonna, il valore medio medio annuale per anioni e cationi sono risultati essere rispettivamente di 2,20 e 2,21 mEq/l.

### **Azoto, fosforo e silice**

Azoto, fosforo e, per certi versi la silice, rappresentano gli elementi più significativi nello studio di un ambiente lacustre, in quanto sono direttamente responsabili delle evoluzioni dei livelli di crescita e di sviluppo del fitoplancton unicellulare e delle macrofite acquatiche e, quindi, in ultima analisi influenzano direttamente l'evoluzione della vita nel bacino acquatico.

In particolare, le concentrazioni medie annuali (ricavate a 0,10,20,30,40 m di profondità nella colonna d'acqua dai dati rilevati nel presente lavoro) di fosforo totale, azoto inorganico, azoto totale e silice sono risultate essere rispettivamente di 113.57, 500.74, 925.08 e di 926,42 µg/l.

Le distribuzioni all'interno della colonna d'acqua risentono, ovviamente, del periodo e dello stato del lago (se rimescolato o stratificato) e della profondità nella colonna d'acqua. In particolare, il periodo di rimescolamento evidenzia una sostanziale uniformità nella distribuzione spaziale dei vari elementi, mentre nel periodo di stratificazione con la netta "divisione" dei vari strati della colonna d'acqua si ha una ripartizione assolutamente disomogenea tra gli strati superficiali e quelli profondi con aumento di concentrazione sul fondo.

Un cenno particolare meritano gli stati di ossidazione dell'azoto inorganico all'interno della colonna d'acqua e nei vari periodi dell'anno. Essi seguono la concentrazione dell'ossigeno disciolto e quindi del potenziale redox, nel senso che negli strati profondi durante il periodo delle stratificazioni estive, la forma predominante è lo stato ridotto dell'ammoniaca (con il massimo di concentrazione misurato il con 2,19 mg/l N). Negli strati superficiali, sia la forma nitrica che ammoniacale sono piuttosto scarse a causa del consumo da parte del fitoplancton.

Nel metalimnio, invece, le forme predominanti nel periodo di stratificazione, sono quelle ossidate con la forma nitrica nettamente predominante intorno ai 20 metri della colonna d'acqua e presenze misurabili di azoto nitroso alla profondità di 30 metri.

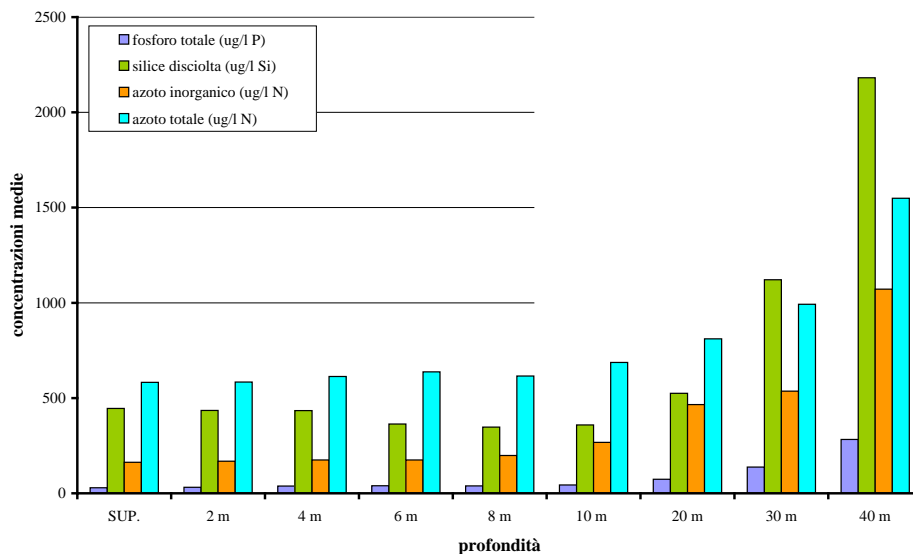


Figura 5: valori medi delle concentrazioni di azoto, fosforo e silice

## Metalli

La determinazione dei metalli nella colonna d'acqua è stata effettuata ricercando e determinando quantitativamente gli elementi riportati nella tabella 1 allegato 1 al D. Lg.vo 152/99 oltre ferro e manganese.

In particolare non si è mai avuta evidenza di presenze significative dei metalli tossici di cui alla già citata tabella 1, mentre le concentrazioni di ferro e manganese sono risultate essere molto variabili a seconda dello stato del bacino e della profondità nella colonna d'acqua.

Parallelamente alla determinazione dei principi attivi disciolti, si è anche effettuata una ricerca sulla loro presenza nel particolato. L'evidenza emersa è quella di una presenza rilevabile nella colonna d'acqua di manganese e ferro disciolti, ma non altrettanto significativa è la loro presenza nel particolato. I valori medi rilevati sono rispettivamente di 17 e 134 µg/l e 13 e 112 µg/l per ferro e manganese totali e disciolti.

Significativa ed importante è l'osservazione del rilascio, specialmente del manganese, da parte dei sedimenti nel periodo di stratificazione del lago e della conseguente anossia dei sedimenti con la massima concentrazione di 1391 µg/l rilevati a 40 m il 18 ottobre.

## BIOLOGIA

### Fitoplancton

Nei 13 campionamenti effettuati nel periodo febbraio 2004 - marzo 2005 sono state identificate 44 specie fitoplanctoniche, distribuite in 17 generi appartenenti a 5 phyla.

Le entità fitoplanctoniche riscontrate nei campioni di acqua analizzati appartengono ai seguenti Phyla: *Cyanophyta*, *Cryptophyta*, *Pyrrophyta*, *Chrysophyta* e *Chlorophyta*. All'interno del gruppo delle *Chrysophyta* sono state evidenziate due classi *Chrysophyceae* e *Bacillariophyceae* (Diatomee) in quanto presentano caratteristiche differenti e peculiari.



Tab.1. – Elenco sistematico delle entità fitoplanctoniche riscontrate

<p><b>CYANOPHYTA</b> (alge verdi azzurre)</p> <p><i>Anabaena affinis</i> (Anaffin)  <i>Anabaena constricta</i> (Anaconst)  <i>Anabaena flos-acqae</i> (Anaflos)  <i>Anabaena spiroides</i> (Anaspiro)  <i>Coelosphaerium kuetzingianum</i> (Coelokue)  <i>Gomphosphaeria lacustris</i> (Gomphlac)  <i>Microcystis aeruginosa</i> (Microaer)  <i>Microcystis spp</i> (Microspp)  <i>Oscillatoria limnetica</i> (Oscilac)</p> <p><b>CRYPTOPHYTA</b> (criptomonadi)</p> <p><i>Cryptomonas erosa</i> (Cryptero)  <i>Cryptomonas ovata</i> (Cryptova)  <i>Rhodomonas minuta</i> (Rhodomin)</p> <p><b>PYRROPHYTA</b> (dinofita)</p> <p><i>Ceratium hirundinella</i> (Cerahir)  <i>Gymnodinium fuscum</i> (Gymnfus)  <i>Peridinium incospium</i> (Peridinc)</p> <p><b>CHRYSOPHYTA - CHRYSOPHYCEAE</b> (alge dorate)</p> <p><i>Chrysochromulina parva</i> (Chryspa)  <i>Dinobryon divergens</i> (Dinodive)  <i>Mallomonas sp</i> (Mallonsp)</p>	<p><b>CHRYSOPHYTA - BACILLARIOPHYCEAE</b> (diatomee)</p> <p><i>Achnantes clevei</i> (Achncl)  <i>Asterionella formosa</i> (Asterfor)  <i>Fragilaria crotonensis</i> (Fragcrot)  <i>Navicula sp</i> (Navicusp)  <i>Stephanodiscus hantzschii</i> (Stephhan)  <i>Synedra acus</i> (Synulna)</p> <p><b>CHLOROPHYTA</b> (alge verdi)</p> <p><i>Ankistrodeus sp</i> (Ankisp)  <i>Ankira ancora</i> (Ankyanc)  <i>Chlamydomonas reinhardi</i> (Chlamrei)  <i>Chlorangium stentorinum</i> (Chlorste)  <i>Chlorella vulgaris</i> (Chlorvul)  <i>Chodatella citrififormis</i> (Chidcitr)  <i>Closterium aciculare</i> (Clostaci)  <i>Cosmarium biculatum</i> (Cosmbioc)  <i>Crucigenia quadrata</i> (Crucquad)  <i>Elakatothrix sp</i> (Elakatsp)  <i>Gemellicystis sp</i> (Gemelsp)  <i>Oocystis lacustris</i> (Oocystla)  <i>Pandorina morum</i> (Pandmor)  <i>Scenedesmus acutiformis</i> (Scenacut)  <i>Scenedesmus armatus</i> (Scenarm)  <i>Scenedesmus securiformis</i> (scensec)  <i>Schroederia setigera</i> (Schroset)  <i>Schroederia sp</i> (Schrosp)  <i>Sphaerocystis schroeteri</i> (Sphaerse)  <i>Tetraedron incus</i> (Tetrain)</p>
---	---

Dai conteggi effettuati sui diversi campioni sono state ricavate le densità in numero di cellule per litro, le frequenze percentuali delle diverse specie ed i dati relativi al biovolume. Nei campioni esaminati sono risultati presenti, in epoche diverse, tutti i gruppi algali riscontrati in studi precedenti (de Bernardi, 1984, Calderaio, 1998). In particolare, i taxa più ricchi di specie sono risultati le clorofita e le cianofita con rispettivamente 20 e 9 specie censite.

Nel periodo primaverile si è registrato un aumento del numero totale delle specie che compongono il popolamento fitoplanctonico, registrando nel campionamento di marzo il picco massimo di densità totale, dovuto principalmente alla massiccia presenza di una specie di alga verde (*Chlorella vulgaris*) che ha rappresentato l'87%. Il valore di clorofilla a, in quel campionamento, ha registrato il massimo valore in assoluto, pari a 14.90 µg/l (fig.6).

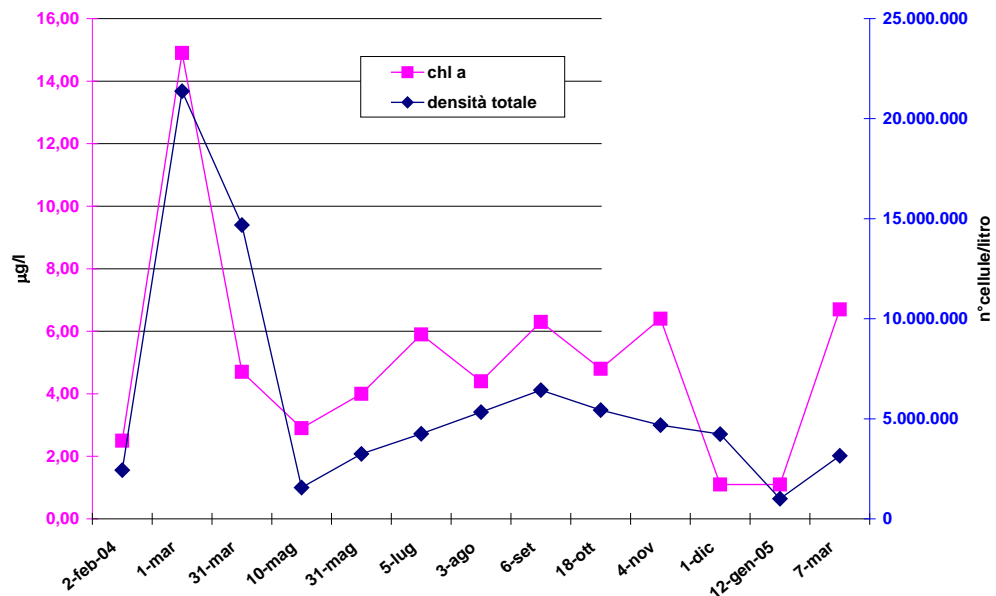


Figura 6: andamenti della concentrazione di clorofilla “a” e della densità fitoplanctonica

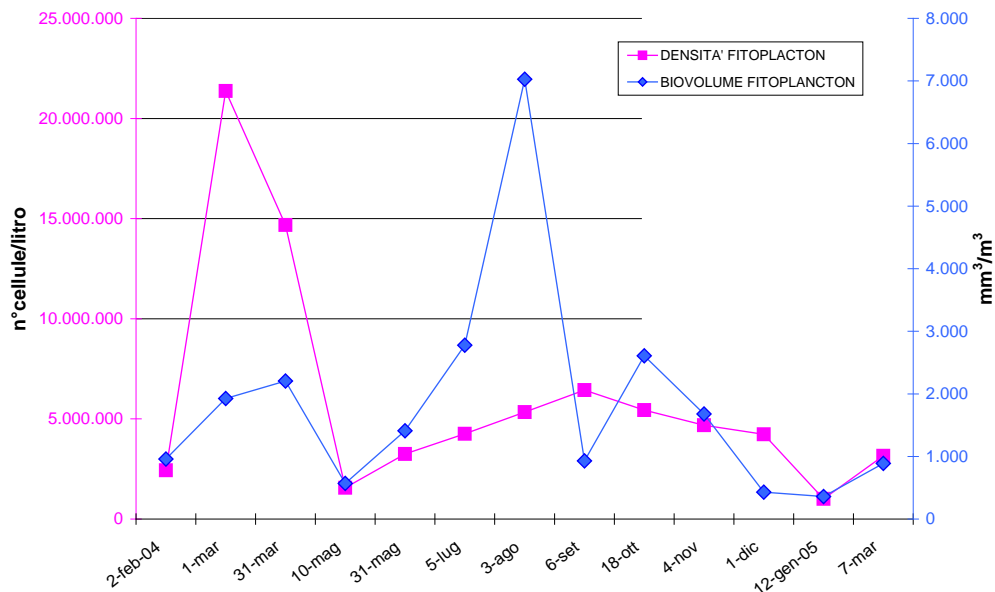


Figura 7: Confronto tra valori di densità e biovolume del popolamento fitoplanctonico

Il picco fitoplanctonico registrato nel periodo primaverile è un fatto abbastanza frequente alle nostre latitudini ed è dovuto all'aumento del fotoperiodo e alla disponibilità di nutrienti. I valori di densità fitoplanctonica variano da poco più di 1.000.000 di cellule/litro in gennaio 2005 ad oltre 20.000.000 di cellule/litro in marzo 2004, mentre i valori relativi al biovolume oscillano tra i 361 mm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> circa, calcolati nel mese di gennaio 2005 e i 7.000 mm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> di agosto 2004 (fig. 7). Questi ultimi dati evidenziano una struttura del popolamento algale notevolmente diversa da quella espressa in termini di densità numerica. Il valore massimo di densità, registrato in marzo, è dovuto al contributo dato dalle alghe verdi che rappresentano l'87 % della comunità fitoplanctonica di quel mese, mentre il valore massimo di biovolume, registrato in agosto, è dovuto quasi esclusivamente al contributo dato dai dinoflagellati, rappresentanti 92 % del biovolume dell'intera comunità.

Nel mese di aprile 2004 sono stati campionati, lungo le sponde del lago, degli ammassi galleggianti di color verde che in seguito ad un'accurata analisi microscopica sono stati classificati come alghe verdi filamentose appartenenti all'ordine delle Zygnematales. Nonostante l'evidente fioritura, non sono state però censite nel campione d'acqua analizzato perché prelevato al centro lago.

**CYANOPHYTA** - Le cianofite o cianobatteri sono la componente più numerosa del fitoplancton analizzato. I valori di densità più significativi sono stati registrati il 31 marzo (con un picco costituito da più di 11.000.000 di cellule/l rappresentate esclusivamente da *Microcystis spp.*) e quindi da agosto a dicembre con una media di circa 3.000.000 di cellule/l in ciascun mese (fig.8). Questi microrganismi sono risultati assenti solo nei campionamenti di marzo 2004 e di giugno.

Date le piccole dimensioni di queste cellule, i valori di biovolume non sono significativi eccetto che nel mese di settembre in cui i cainobatteri hanno rappresentato il 44% del biovolume totale oltre che il 69% della densità totale.

La specie riscontrata più di frequente in modo continuo da luglio a marzo 2005 è *Oscillatoria lacustris*.

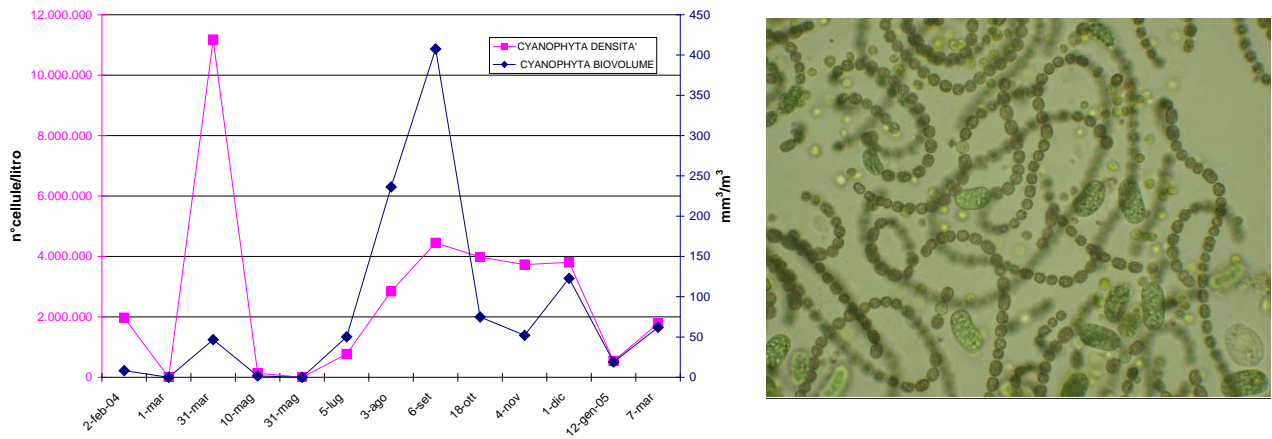


Figura 8: Confronto tra valori di densità e biovolume delle Cyanophyta ed immagine dell'*Anabaena affinis*

**CRYPTOPHYTA** – In tutti i campioni analizzati, le criptofite o criptomonadi hanno contribuito costantemente al popolamento algale con modesti valori di densità, eccetto nei campionamenti del 31 marzo ed agosto in cui hanno raggiunto quasi 3.000.000 e circa 1.000.000 cellule/l, rispettivamente (fig 9). Le uniche specie rinvenute sono *Cryptomonas erosa*, *Cryptomonas ovata* e *Rhodomonas minuta*. Quest'ultima, censita in tutti i campionamenti, è risultata la più numerosa.

Per quanto riguarda il biovolume, i valori registrati evidenziano il picco massimo nel campionamento di maggio, in corrispondenza della massima concentrazione di criptomonadi rispetto al totale della comunità fitoplanctonica (circa il 70% del totale)

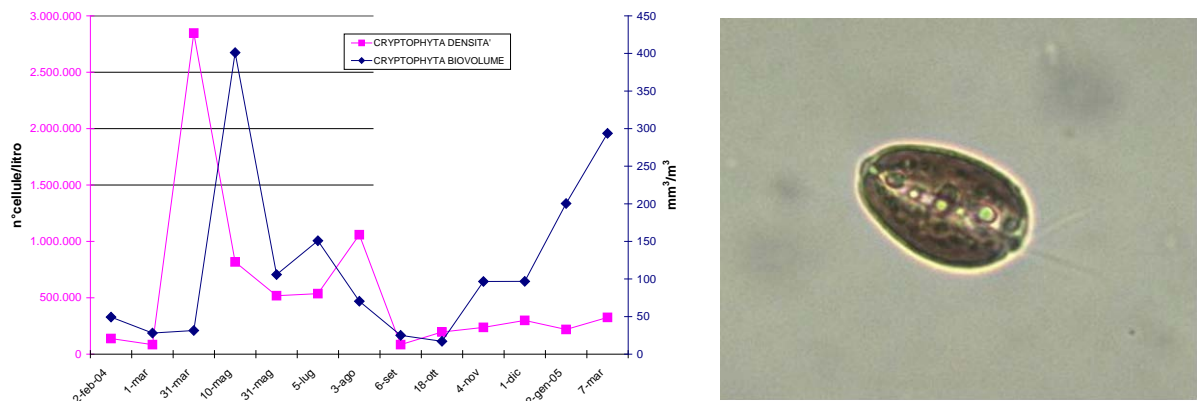


Figura 9: Confronto tra valori di densità e biovolume delle Cryptophyta ed immagine della *Cryptomonas ovata*

PYRROPHYTA – La presenza di dinoflagellati, o pirrofiti è praticamente trascurabile dal punto di vista della densità (fig. 10). Le uniche specie rinvenute sono *Ceratium hirundinella*, *Gymnodinium fuscum* e *Peridinium incospium*, censite rispettivamente cinque, due e una volta. Date le loro grandi dimensioni, la loro presenza nei campionamenti di aprile, luglio e agosto, è stata determinante per i valori di biovolume. In particolare oltre il 90% del biovolume percentuale riscontrato nel mese di agosto è da attribuirsi a *Ceratium hirundinella*.

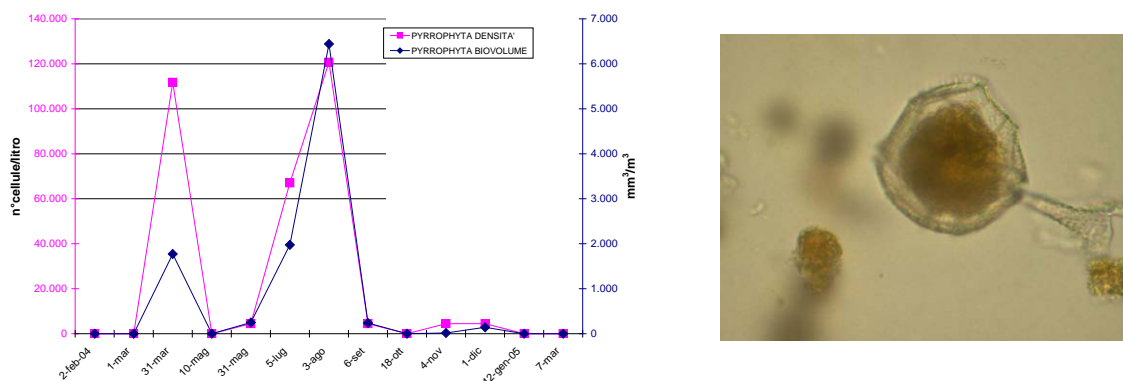


Figura 10: Confronto tra valori di densità e biovolume delle Pyrrophyta ed immagine di *Peridinium incospium*

CHRYSOPHYTA – Le crisofite o alghe dorate sono rappresentate da due classi *Chrysophyceae* e *Bacillariophyceae*. Le crisoficee sono state registrate in modo discontinuo nei vari mesi di campionamento con valori di densità compresi tra 9.000 e 1.300.000 circa di cellule/l (fig. 11). Il massimo valore numerico, registrato in settembre è dovuto esclusivamente alla specie *Chrysochromulina parva*.

Le bacillariofite o diatomee sono risultate sempre presenti nei campioni d'acqua analizzati, eccetto che in quelli di fine maggio, agosto, ottobre e novembre. Il massimo valore di densità si è registrato nel mese di marzo 2004 con circa 2.700.000 cellule/l. Le diatomee hanno evidenziato massimi di densità nei mesi primaverili e autunnali perché capaci di sfruttare il rimescolamento delle acque per mantenersi a galla nelle zone di luminosità e sfruttare i nutrienti presenti in quantità ottimali. La specie numericamente più significativa è risultata *Asterionella formosa*.

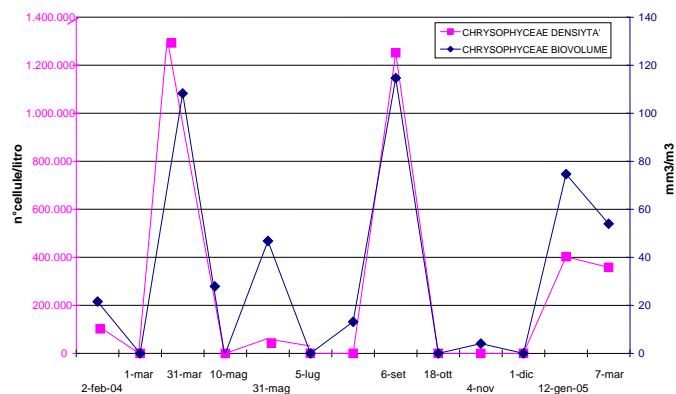


Figura 11: Confronto tra valori di densità e biovolume delle Chrysophyceae

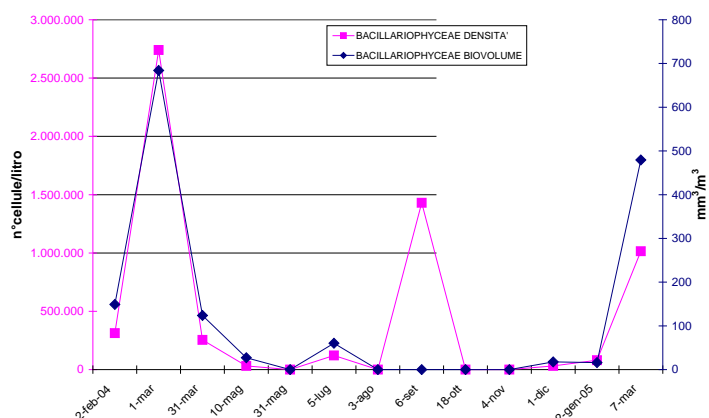


Figura 12: Confronto tra valori di densità e biovolume delle Bacillariophyceae ed immagine di *Fragilaria crotonensis* e *Asterionella formosa*

**CHLOROPHYTA** – Le alghe verdi o clorofita sono risultate presenti in tutti i campionamenti e contribuiscono al popolamento fitoplanctonico con valori compresi tra 4.470 e 18.500.000 circa cellule/l, rispettivamente nei mesi di febbraio e marzo 2004 (fig.13).

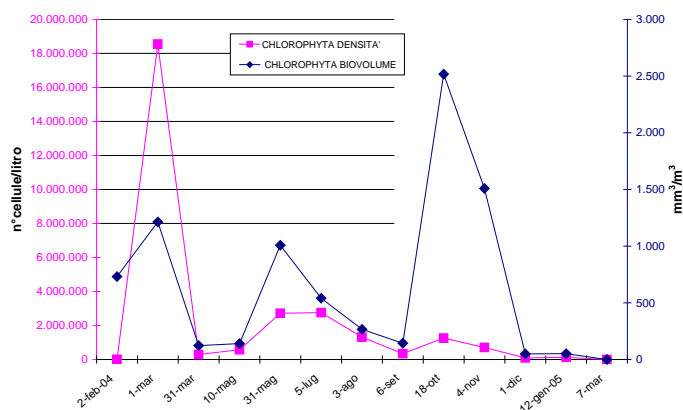


Figura 13: Confronto tra valori di densità e biovolume delle Chlorophyta ed immagine di *Pandorina morum*

Le clorofite sono il gruppo con il maggior numero di specie (20 in totale) le quali si alternano in modo equilibrato durante tutti i campionamenti. Fa eccezione, nel mese di marzo 2004, la specie *Chlorella vulgaris* che è risultata l'unica rappresentante il phylum con un valore pari all' 86% dall'intero popolamento fitoplanctonico. Nei mesi di giugno e luglio è la specie *Sphaerocystis schroeteri* a rappresentare il 70% ed il 53% rispettivamente del totale della densità fitoplanctonica percentuale.

In termini di biovolume, le alghe verdi, rappresentano per buona parte dei campionamenti valori modesti di densità, ad eccezione dei mesi di febbraio, marzo 2004 e soprattutto ottobre, in cui si è registrato un valore pari al 96% dell'intero popolamento fitoplanctonico, attribuibile alla specie *Chodatella citrififormis*, numerosa in quel campionamento.

### Zooplankton

Nei campionamenti effettuati sono state identificate 23 specie, distribuite in 16 generi appartenenti a tre gruppi: cladoceri (5 specie), rotiferi (13 specie) e copepodi (5 specie) (tab.2).

Tab. 2 – Elenco sistematico delle specie zooplanctoniche riscontrate

<b>CLADOCERI</b>	<b>ROTIFERI</b>
<i>Bosmina longirostris</i> (Bosmlong)	<i>Ascomorpha ovalis</i> (ascomova)
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i> (Ceriodaq)	<i>Ascomorpha spp.</i> (Ascomspp)
<i>Daphnia hyalina</i> (Daphhyal)	<i>Asplanchna sp.</i> (Asplansp)
<i>Daphnia longispina</i> (Daphlong)	<i>Filinia longiseta</i> (Filinlon)
<i>Diaphanosoma brachyurum</i> (Diaphbra)	<i>Filinia terminalis</i> (Filinter)
<b>COPEPODI</b>	<i>Gastropus hyptopus</i> (Gastrhyp)
<i>Cyclops strenuus</i> (Cyclostr)	<i>Gastropus stylifer</i> (Gastry))
<i>Cyclops vicinus</i> (Cyclovic)	<i>Kellicottia longispina</i> (Kellilon)
<i>Eudiaptomus gracilis</i> (Eudgrac)	<i>Keratella cochlearis</i> (Keracoch)
<i>Mesocyclops leuckarti</i> (Mesocycle)	<i>Keratella quadrata</i> (Keraquad)
<i>Thermocyclops hyalinus</i> (Thermhya)	<i>Polyartra gr. Major-euryptera</i> (PolygrMe)
	<i>Polyartra vulgaris</i> (Polyvulg)
	<i>Tricocerca elongata</i> (Tricoelo)

Dai conteggi effettuati sui diversi campioni sono state ricavate le densità, in numero di individui/m<sup>3</sup>, il biovolume espresso in mm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>, le relative percentuali delle specie zooplanctoniche, nonché la corrispondente rappresentazione grafica.

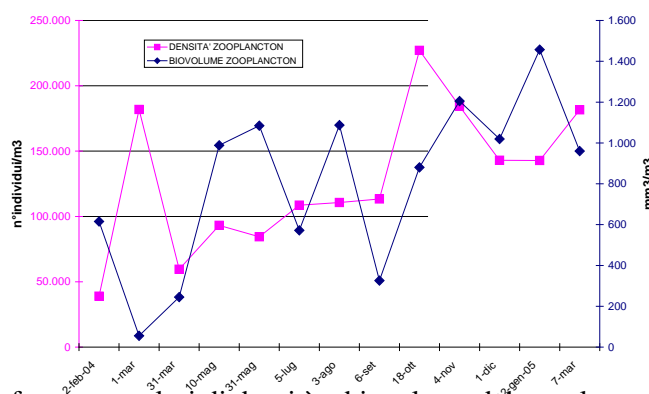


Figura 14: Confronto tra valori di densità e biovolume del popolamento zooplanctonico

I valori di densità e biovolume riscontrati sono risultati variabili a seconda delle caratteristiche biologiche degli organismi censiti (fig.14). Le densità riscontrate oscillano tra 39.000 individui/m<sup>3</sup> registrati nel mese di febbraio 2004 a circa 230.000 individui/m<sup>3</sup> ad ottobre 2004.

Per quanto riguarda il biovolume, il valore minimo, pari a 55.42 mm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> è stato registrato nel mese di marzo 2004 (in cui sono prevalsi numericamente organismi di piccole dimensioni quali i rotiferi), mentre il valore massimo si è registrato nel mese di gennaio 2005, in cui i copepodi hanno rappresentato l'89% del biovolume del totale.



**CLADOCERI** – Il popolamento dei cladoceri è costituito da cinque specie fitofaghe. Tra queste la specie più rappresentativa è certamente *Daphnia hyalina*, (specie macrofiltratrice, molto diffusa in Europa e considerata il principale consumatore di fitoplancton (Odum, 1988)), che è risultata presente con percentuali di densità variabili dal 3% al 33%.

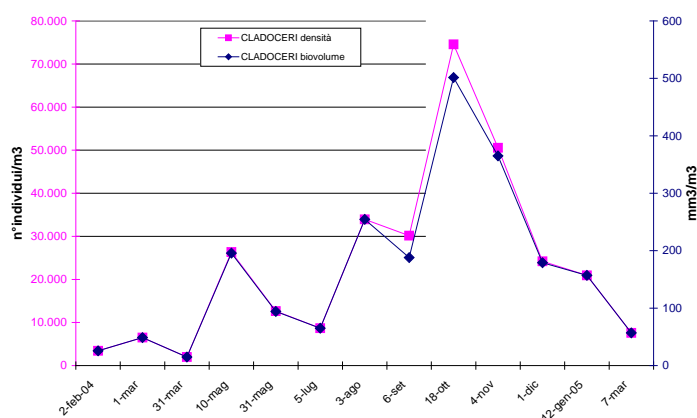


Figura 15: Confronto tra valori di densità e biovolume dei Cladoceri ed immagine di *Daphnia hyalina*

I cladoceri hanno mostrato un picco sia di densità che di biovolume nel mese di novembre.

**ROTIFERI** – I rotiferi sono il gruppo più rappresentativo, sia come componente strutturale percentuale sia come numero di specie che concorrono alle varie biocenosi.

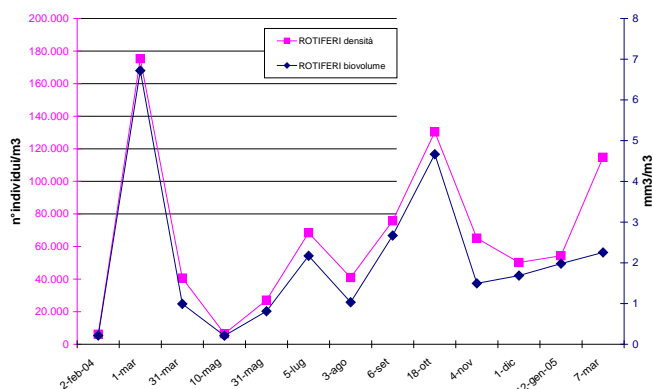


Figura 16: Confronto tra valori di densità e biovolume dei Rotiferi ed immagine di *Keratella quadrata*

In totale sono state rinvenute 14 specie, delle quali due, *Kellicottia longispina* e *Keratella quadrata* sono state registrate durante l'intero anno e una, *Keratella cochlearis* manca solamente

nel campionamento di marzo 2004.

Il picco massimo di densità è stato rilevato a marzo 2004 con un 96% di rotiferi sull'intera comunità. L'elevata densità è certamente dovuta all'elevata disponibilità alimentare, composta da alghe e detrito organico minuto

**COPEPODI** – Per quanto riguarda le diverse specie di copepodi, sono stati rilevati andamenti stagionali molto simili (fig.17). Per quanto riguarda il biovolume, per i copepodi si sono sempre registrati valori molto elevati, in media intorno al 72% del totale, in quanto rappresentati da individui di grosse dimensioni. I copepodi calanoidi sono rappresentati da un'unica specie, *Eudiaptomus gracilis*, mentre i copepodi ciclopoidi presenti appartengono a *Mesocyclops leuckarti*, *Thermocyclops crassus*, *Cyclops strenuus* e *Cyclops vicinus*.

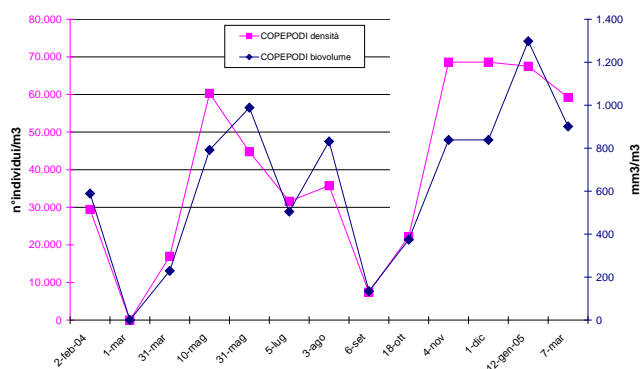


Figura 17: Confronto tra valori di densità e biovolume dei Copepodi ed immagine di *Eudiaptomus gracilis*

Nel periodo di studio i copepodi elencati sono stati censiti in modo costante in tutti i campioni d'acqua analizzati con l'eccezione della loro assenza nel mese di marzo 2004

## I SEDIMENTI

### Interazione acqua – sedimenti

I sedimenti sono stati campionati alla fine del periodo di rimescolamento ed alla fine dell'estate.

Il frazionamento granulometrico per setacciatura ha portato ad individuare (alla fine del periodo di essiccamento) la maggior parte del sedimento di granulometria inferiore a 212  $\mu\text{m}$  con una percentuale variabile tra il 76,6 ed il 95%.

La frazione inferiore a 212  $\mu\text{m}$  sono poi state sottoposte ad analisi chimiche evidenziando una discreta sovrapposizione tra i campioni prelevati nello stesso periodo. I risultati sono riportati nelle tabelle 3 e 4.

Tab.3: concentrazione di materiale organico, azoto totale e fosforo totale nei sedimenti

		Febbraio			Settembre		
		45 m	20 m (Rocc)	20 m (Scaric)	45 m	20 m (Rocc)	20 m (Scaric)
MATERIALE ORGANICO	% p/p	12	15	15	15	11	13
FOSFORO TOTALE	mg/kg	1398	1574	1264	1795	1498	1601
AZOTO TOTALE	mg/kg	3715	4235	3046	5247	3495	4323

L'evidenza sperimentale ha rilevato come il quantitativo di fosforo presente in tutti i campioni sia decisamente elevato. Il lago, è già stato ricordato, non ha immissari e, per quanto risaputo non ha presenza di scarichi, quindi azoto e fosforo presenti nei sedimenti derivano per lo più dalla sedimentazione del materiale organico (vegetale ed animale) prodotto dal lago.



Tab. 4: concentrazioni di alcuni metalli nei sedimenti

		Febbraio			Settembre		
		45 m	20 m (Rocc)	20 m (Scaric)	45 m	20 m (Rocc)	20 m (Scaric)
<b>Arsenico</b>	mg/Kg	7,8	8,3	6,7	6,3	7,4	7,5
<b>Cadmio</b>	mg/Kg	1,4	1,9	1,1	1,2	1,2	1,1
<b>Cromo</b>	mg/Kg	81,0	98,8	88,1	87,0	84,9	71,2
<b>Nichel</b>	mg/Kg	57,8	64,0	62,4	58,7	56,8	51,8
<b>Piombo</b>	mg/Kg	174,9	189,3	181,8	161,9	196,9	156,3
<b>Vanadio</b>	mg/Kg	63,2	49,3	69,2	71,9	47,4	50,7
<b>Rame</b>	mg/Kg	107,0	219,5	97,7	78,7	178,1	87,4
<b>Zinco</b>	mg/Kg	417,4	600,6	609,5	427,3	669,2	450,8
<b>Alluminio</b>	g/Kg	27,7	21,9	23,5	28,7	21,1	21,7
<b>Ferro</b>	g/Kg	33,9	31,3	35,6	36,0	31,2	32,0
<b>Manganese</b>	g/Kg	1,58	0,59	0,65	1,93	0,52	0,58

Anche per i metalli non è evidente una netta differenziazione tra la concentrazione dei metalli nei campioni di fine inverno con il bacino completamente rimescolato, rispetto a quelli prelevati nel periodo autunnale di fine stratificazione.

La distribuzione nei sedimenti di arsenico, cadmio, cromo, nichel, piombo, vanadio, alluminio e ferro sembra essere abbastanza uniforme in tutto il bacino ed indipendente dalla profondità. Viceversa rame e zinco sembrano avere una concentrazione più elevata nei sedimenti provenienti dal punto “Roccione”, mentre la concentrazione del manganese risulta essere molto più elevata nel punto di massima profondità rispetto agli altri due.

### Il rilascio dai sedimenti

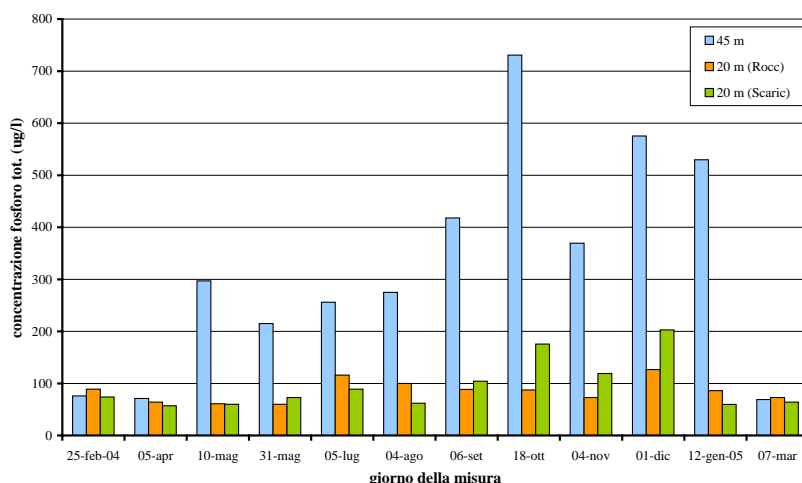


Figura 18: concentrazioni del fosforo totale all'interfaccia (µg/l P)

I quantitativi di azoto totale e fosforo rilevati nelle acque, a livello dei sedimenti, indicano come il rilascio avvenga in misura maggiore a 45 m, rispetto alle profondità minori, in quanto esso avviene in condizioni riducenti, caratteristiche degli strati profondi del Sirio per buona parte dell'anno. In queste condizioni il fosforo totale è praticamente tutto sotto forma di ortofosfato, mentre per l'azoto è prevalente la forma ammoniacale.

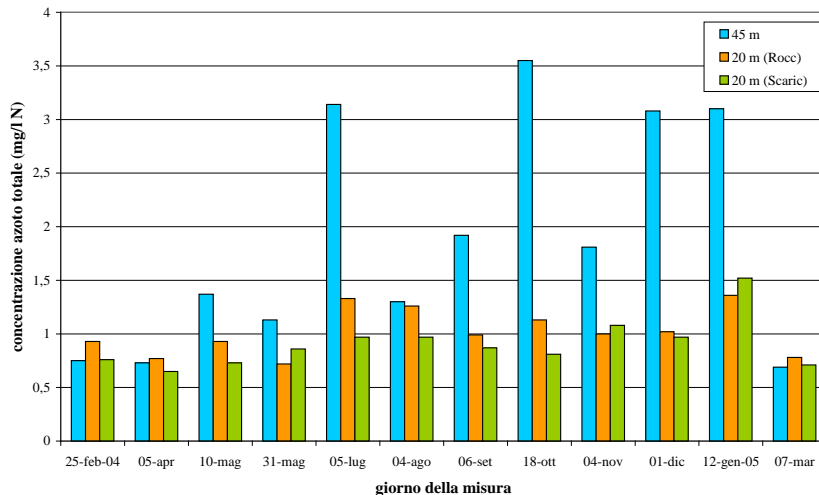


Figura 19: concentrazioni all'interfaccia dell'azoto totale (mg/l N)

L'interazione acqua-sedimenti, porta al rilascio da parte dei sedimenti di molecole di interesse biologico provvedendo così al "rifornimento" di quegli elementi importanti per la catena trofica, in primo luogo per il fitoplancton. Il tentativo di misurare l'entità del rilascio, attraverso un sistema che non alteri le condizioni di naturalità e quindi pensando ad un "accumulo" di fosforo all'interfaccia si è rivelato non corretto nel senso che l'equilibrio all'interfaccia è piuttosto complesso, ma il materiale rilasciato non si accumula all'interfaccia, ma viene ridistribuito uniformemente in tutto il bacino attraverso correnti orizzontali che difficilmente permettono il rimescolamento dei differenti strati d'acqua. In effetti i valori delle concentrazioni di azoto e fosforo nella colonna d'acqua sono compatibili con le concentrazioni rilevate all'interfaccia per tutto il periodo studiato.

## CONCLUSIONI

### Correlazioni tra parametri ambientali e biovolume fitoplanctonico

Per questo ordinamento è stata utilizzata una matrice biologica relativa al biovolume dei cinque *phyla* fitoplanctonici ai quali appartengono tutte le specie censite durante i campionamenti.

La matrice biologica è stata relazionata, attraverso una regressione lineare multipla ad una matrice ambientale, contenente i seguenti parametri ambientali (mediati sui primi 10 metri della colonna): azoto inorganico, clorofilla *a*, pH, fosforo totale, ossigeno disciolto (% di saturazione), silice, temperatura e trasparenza.

I risultati statistici, relativi agli assi 1 e 3 e le relazioni esistenti tra le due matrici sono graficamente riassunte nella figura 20. Degli otto parametri inseriti nella matrice, solamente l'ossigeno non compare in figura, probabilmente perché, a questo grado di dettaglio, non è relazionata al biovolume di un singolo phylum. I parametri ambientali risultati significativi presentano due gruppi di correlazioni: fosforo totale - azoto inorganico - clorofilla "a" - silice e pH - temperatura; solo la trasparenza sembra non essere correlata a nessun altro parametro con un andamento opposto rispetto al gruppo fosforo totale - azoto inorganico - clorofilla "a" - silice. In particolare:

- I cianobatteri, ed in misura minore Pyrrophyta (o dinofita) che sono capaci di vivere in condizioni sfavorevoli quali pH basici e temperature elevate con conseguente forte stratificazione termica e ridotto apporto di nutrienti, appaiono collegati positivamente con temperatura e pH

- Le alghe verdi (chlorophyta) e le crysophyta (Chrisoficee e Bacillarioficee) sono collegate con azoto inorganico, fosforo totale, silice e clorofilla "a". in effetti l'azoto ed il fosforo, generalmente abbondanti nelle acque rimescolate, influenzano la crescita delle alghe verdi nel periodo tardo invernale, facendo registrare nel mese di marzo 2004 il picco massimo di densità fitoplanctonica ed il valore massimo, (14.9 µg/l) di clorofilla "a".

- Le Cryptophyta sembrano collegate positivamente solo con la trasparenza (che non è un parametro "autonomo", ma già derivato). In realtà, ad un'analisi più accurata si rileva come esse siano state censite costantemente durante tutti i mesi di campionamento, perciò è evidente che nessun fattore chimico-fisico in particolare possa averne influenzato la crescita

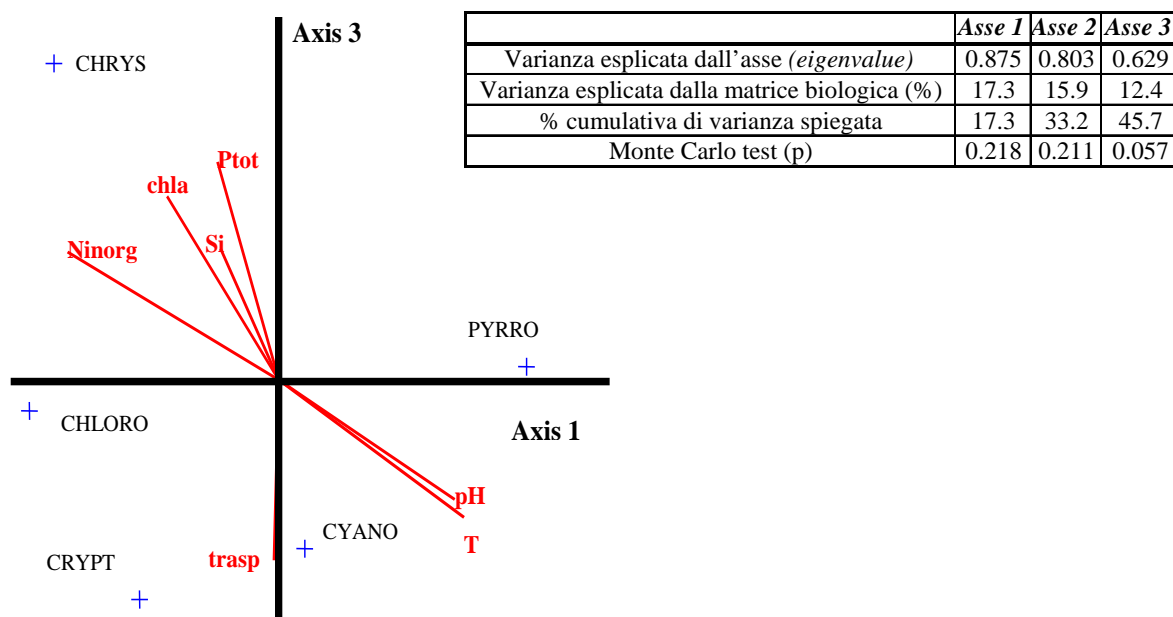


Fig.20: rappresentazione grafica delle relazioni biovolume cellulare/parametri ambientali

L'ulteriore elaborazione dei singoli *phylum*, con gli otto parametri ambientali già ricordati, ha permesso di individuare rapporti tra le varie specie una ad una, permettendo quindi un ulteriore affinamento dell'analisi relazionale (le relative visualizzazioni grafiche sono riportate in fig.21)

Per il *phylum* delle Cyanophyta, i vettori, indicanti i parametri, non sono particolarmente lunghi (e ciò significa che non sono molto determinanti per la crescita dei cianobatteri) ed addirittura mancano ossigeno, pH e clorofilla *a*. E' questa un'ulteriore prova della capacità di questi procarioti di vivere in condizioni estreme e quindi di adattarsi bene a condizioni non ottimali per la normale crescita algale.

In particolare *Anabaena flos-acquae*, *Oscillatoria lacustris* (specie che hanno maggiormente contribuito alla biocenosi fitoplanctonica totale, con valori rispettivamente del 29%, per la prima, a settembre e 18% per la seconda, a dicembre), *Microcystis aeruginosa* e *Coelosphaerium kuetzingianum*, sembrano non essere influenzate direttamente da nessun parametro in particolare ed inoltre sembra siano negativamente influenzate dai comuni nutrienti da fosforo e silice.

*Anabaena affinis* e *Anabaena spiroide* (censite entrambe solo nel mese di agosto), insieme ad *Anabaena constricta* e a *Gomphosphaeria lacustris* sembrano collegate da silice, fosforo temperatura e trasparenza.

Gli unici cianobatteri nettamente influenzati dai due nutrienti principali (azoto inorganico e fosforo totale) sono quelli appartenenti al genere *Microcystis*, riscontrati infatti in aprile 2004 e marzo 2005, con acque ricche di nutrienti

Per i phylum cryptophyta e pyrrophyta si osserva un raggruppamento di tutte le specie nello stesso quadrante del grafico e ciò conferma che hanno caratteristiche ecologiche simili. In particolare, *Cryptomonas ovata*, *Cryptomonas erosa* e *Rhodomonas minuta* sembrano essere positivamente influenzate dalla presenza di azoto e fosforo.

Per quanto riguarda le pyrrophyta, due di queste, *Ceratium hirundinella* e *Peridinium incospium* sono risultate essere influenzate dal pH, dalla temperatura e dalla silice. La prima specie, infatti è stata censita con continuità nei mesi estivi e caldi e ad elevato pH, tanto che nel mese di agosto ha rappresentato il 92% dell'intera biocenosi fitoplanctonica.

*Gymnodinium fuscum* è l'unica specie fortemente correlata a valori crescenti di ossigeno disciolto nelle acque.

Per il phylum chrysophyta, nella matrice biologica, oltre a tutte le alghe dorate, compaiono solo la metà delle specie censite appartenenti alle diatomee, in quanto le tre specie non elencate sono risultate irrilevanti in termini di biovolume, mentre per la matrice ambientale si sono utilizzati solo azoto inorganico, pH, fosforo totale, silice, temperatura, perché per gli altri tre non è stata verificata l'ipotesi nulla per nessuno dei tre assi.

Per quanto riguarda le diatomee si nota che *Asterionella formosa*, la specie più rappresentativa in termini di biovolume, e *Synedra ulna*, sono posizionate vicine nel grafico e sono influenzate positivamente dai tre principali nutrienti

Tutte e tre le specie di alghe dorate, sono positivamente influenzate dalla temperatura e dal pH.

Per il phylum chlorophyta è stata utilizzata una matrice biologica relativa al biovolume di tutte le specie di alghe verdi censite e significative. La matrice ambientale utilizzata è stata suddivisa in due, la prima contenente cinque parametri chimico - fisici (azoto inorganico, pH, fosforo totale, silice, temperatura), la seconda gli altri tre (ossigeno disciolto (% di saturazione), clorofilla *a* e trasparenza) a causa della quantità di dati da trattare.

Le numerose specie di alghe verdi censite si distribuiscono nello spazio in modo eterogeneo. In particolare, andando ad analizzare le specie più significative si nota che sia *Closterium aciculare* che *Chlorella vulgaris* sono le specie maggiormente influenzate, positivamente, dai principali nutrienti. Queste specie hanno contribuito rispettivamente con il 76% ed il 63% al biovolume fitoplanctonico nei mesi di febbraio e marzo 2004. Nei mesi di inizio estate è rilevante il contributo dato da *Sphaerocystis Schroeteri*, anch'essa un specie favorevolmente influenzata dai nutrienti. *Chodatella citrifomis* e *Pandorina morum* mostrano un'influenza positiva da parte di temperatura e pH e un'influenza negativa nei confronti dei nutrienti. *Chodatella citrifomis* ha fortemente influito sul biovolume totale nei mesi autunnali raggiungendo un valore massimo pari al 90% nel campionamento di ottobre.

*Chlorella vulgaris* e clorofilla *a* sono legate in quanto questa specie è ricca del pigmento fotosintetico.

*Gemmellicystis sp.*, *Schroederia setigera*, *Oocystis lacustris*, nonché la stessa *Chlorella vulgaris* si mostrano correlati alla quantità di ossigeno disciolto.

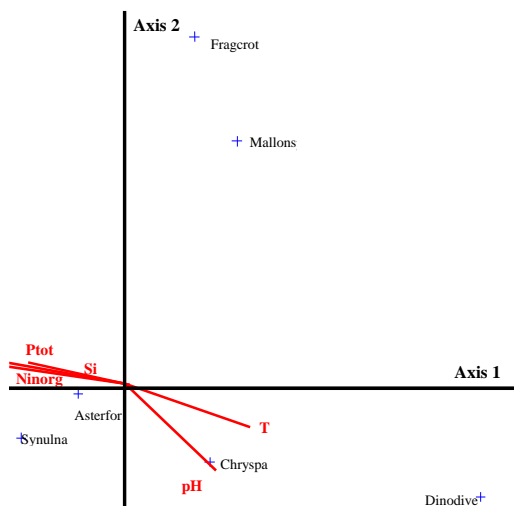
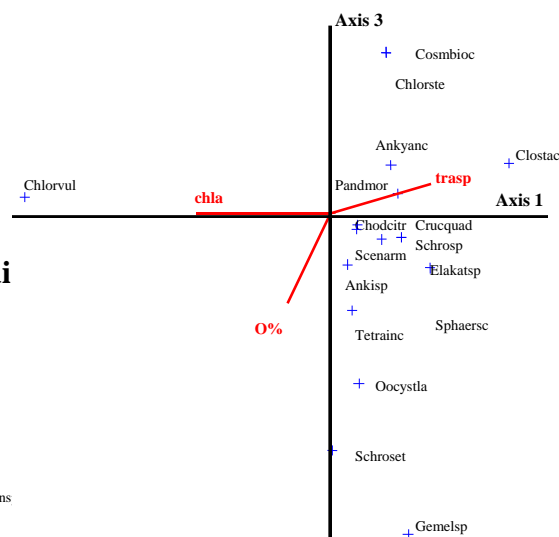
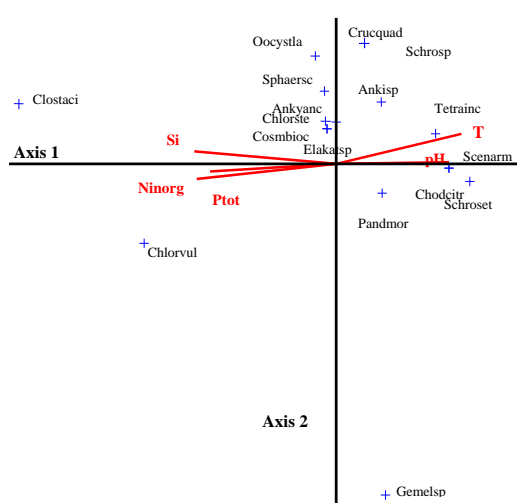
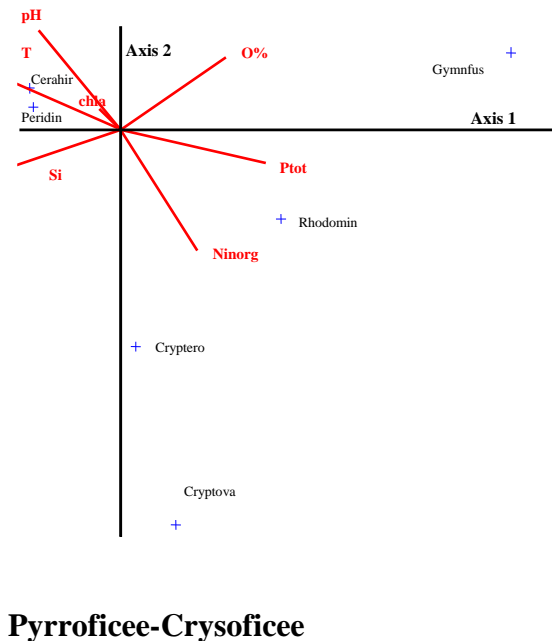
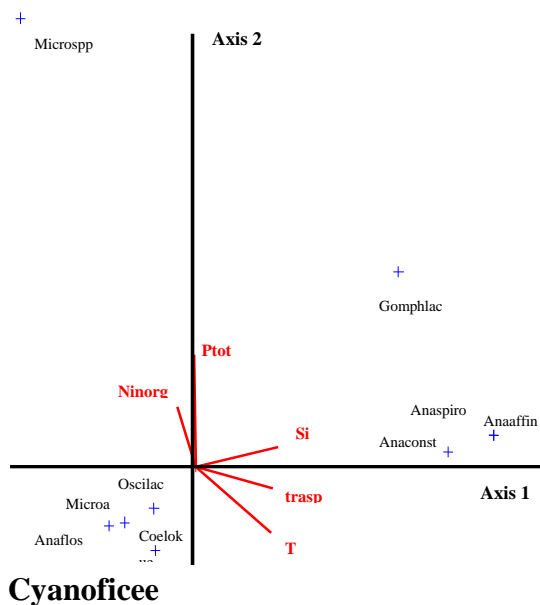


Figura 21: rappresentazione grafica delle relazioni relative ai singoli phylum

**Correlazioni tra biovolume del fitoplancton e densità dello zooplancton**

Per questo ordinamento sono state utilizzate due matrici biologiche, la prima relativa alla densità delle specie dello zooplancton, la seconda relativa al biovolume dei cinque *phyla* del fitoplancton, perché in questo modo è stato possibile ottenere una regressione lineare multipla

accettabile per indagare le relazioni esistenti tra i due gruppi di microrganismi planctonici. I risultati statistici, dati da questa rielaborazione, relativi agli assi e le relazioni esistenti tra le due matrici sono graficamente riassunte nella figura 22.

La maggior parte delle specie si è disposta vicino al centro degli assi e ciò significa che queste sono egualmente poco influenzate solo da tre *phyla* fitoplanctonici (Cryptophyte, Chrysophyte e Chlorophyte). Le specie zooplanctoniche appartengono a tutti e tre i gruppi e si distribuiscono in due raggruppamenti misti influenzati l'uno positivamente dalle alghe verdi e negativamente dalle criptofite e l'altro positivamente dalle criptofite e negativamente dalle alghe verdi. Mentre le crisofite sembrano non influenzare la dieta delle specie di entrambi i raggruppamenti.

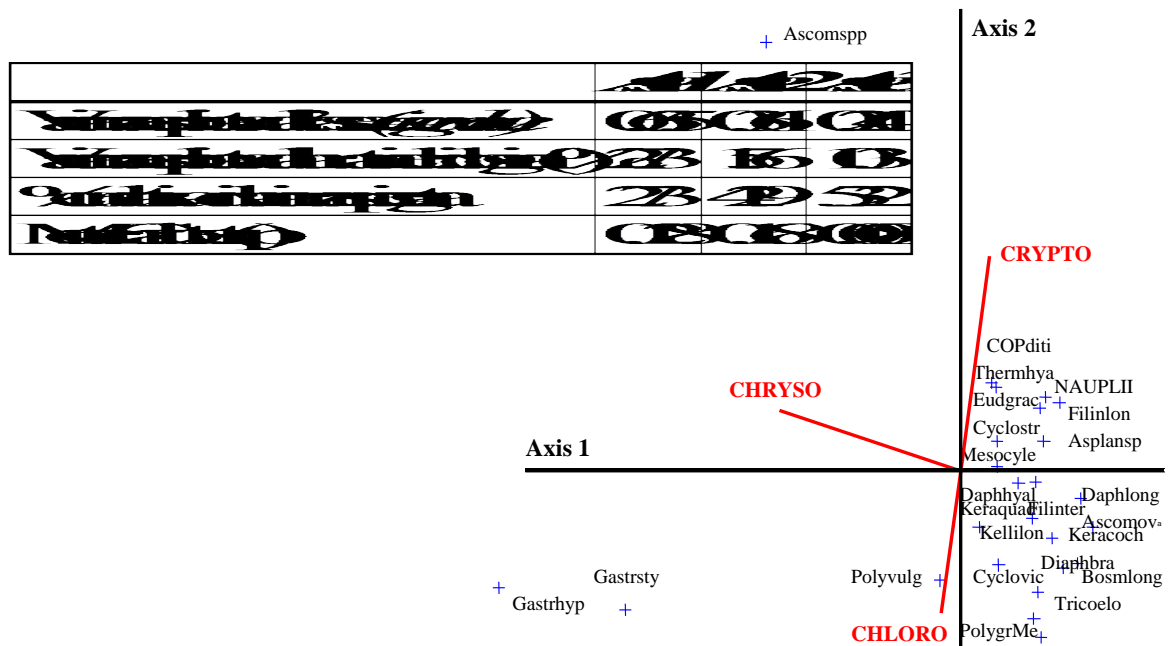


Fig.22. rappresentazione grafica delle relazioni tra matrice di densità zooplanctonica e matrice di biovolume fitoplanctonico.

Le specie che si sono distaccate da questi due raggruppamenti sono tutte specie di rotiferi. In particolare le due specie di *Gastropus* sembrano influenzate positivamente dalle alghe verdi e dalle crisofite mentre *Ascomorpha spp.* è influenzata positivamente dalle crisofite e dalle criptofite.

Il motivo di queste disposizioni risiede principalmente nel tipo di alimentazione delle specie zooplanctoniche che sembrano prediligere nell'ordine: alghe verdi, criptomonadi e crisofite.

Non compaiono gli altri due *phyla* fitoplanctonici (i cianobatteri e i dinoflagellati) perché probabilmente non rientrano nella dieta zooplanctonica. La maggior parte dei cianobatteri censiti, sono infatti potenzialmente tossici, mentre i dinoflagellati censiti, oltre ad essere di grandi dimensioni sono rivestiti da una corazza dura e perciò risultano essere difficilmente commestibili.

Un'ulteriore elaborazione, utilizzando due matrici biologiche, la prima relativa alla densità delle singole specie zooplanctoniche appartenenti ad ogni gruppo e la seconda relativa al biovolume

dei cinque *phyla* fitoplanctonici, ha permesso di approfondire le relazioni esistenti tra fito e zooplancton. In particolare:

per quanto riguarda i rotiferi, si ricava che la maggior parte dei rotiferi censiti non è influenzato da nessun *phyla* fitoplanctonico probabilmente perché la loro dieta è basata su

detrito vario. In ogni caso, *Gastropus* sembra essere correlato alle crisofite, mentre *Ascomorfa spp* sia alle crisofite che alle criptofite.

Per quanto riguarda i cladoceri, le specie zooplanctoniche censite si sono distribuite nello spazio molto lontane le une dalle altre e questo significa che queste hanno poche caratteristiche in comune. In particolare *Daphnia hyalina*, specie molto comune, non sembra essere influenzata in particolare da nessun phylum fitoplanctonico, mentre *Daphnia longispina* e *Bosmina longirostris* sono influenzate dalla presenza di dinoflagellati e cianobatteri. *Ceriodaphnia quadrangula* e *Diaphanosoma brachyurum* sembrano legati alla presenza dalle alghe verdi.

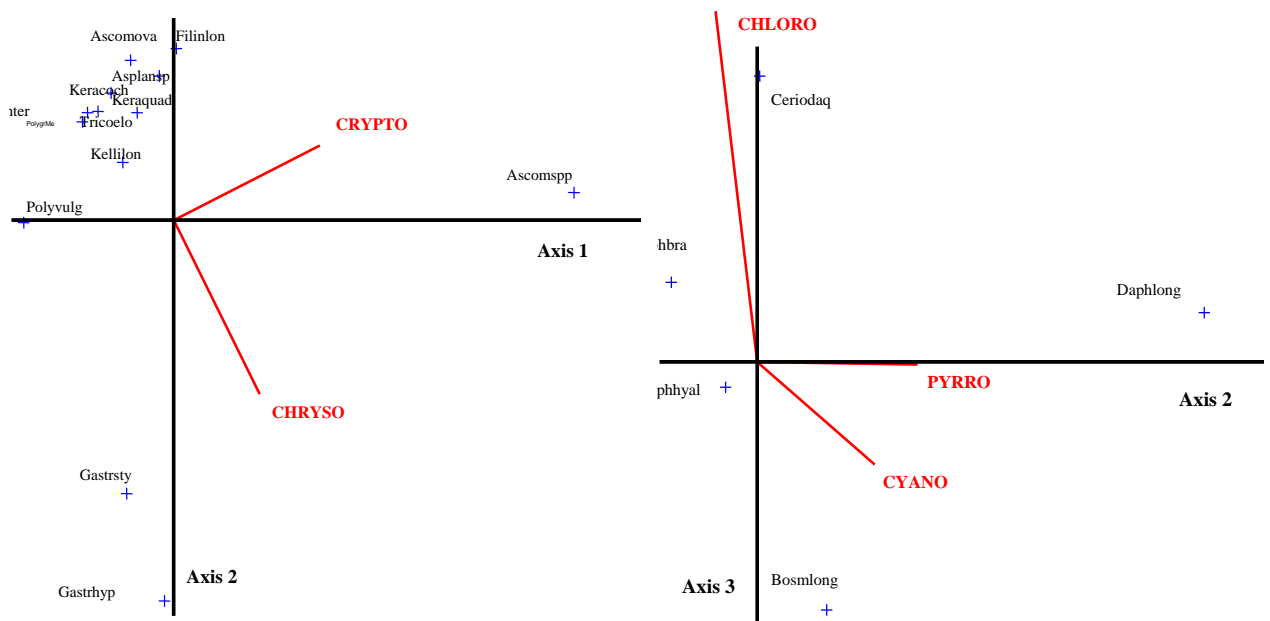


Figura 23: rappresentazione grafica delle relazioni relative alle matrici dei rotiferi e dei cladoceri

Per quanto riguarda i copepodi, gli esiti statistici, dati da questa rielaborazione, sono risultati pessimi in quanto si sono registrati bassi valori sia di varianza esplicata dalla matrice biologica che di percentuale cumulativa di varianza spiegata ed inoltre il “Monte Carlo test” non è risultato valido per nessuno dei tre assi. Così si è ritenuto inutile riportare il grafico delle relazioni esistenti tra le due matrici.

Probabilmente questo significa che gli organismi censiti appartenenti al gruppo dei copepodi non hanno nessuna relazione con il fitoplancton. In effetti si tratta di specie di grandi dimensioni che si nutrono prevalentemente di altri zooplanctonti di piccole dimensioni quali cladoceri e rotiferi oltre ad essere capaci di nutrirsi di individui appartenenti al loro stesso gruppo.

### Indicator Species Analysis (ISA)

Le analisi eseguite con la tecnica ISA, hanno riguardato la densità delle specie, che sono state raggruppate in base a ciascuno degli otto parametri ambientali già utilizzati per la CCA: azoto inorganico, clorofilla *a*, pH, fosforo totale, ossigeno disciolto (% di saturazione), silice, temperatura e trasparenza. Sono state così individuate dieci specie indicatrici per gli otto parametri ambientali presi in considerazione; le relazioni sono riportate in tabella 5. *Mallomonas sp.* è risultata molto significativa nei confronti dell’ossigeno disciolto (infatti ne

è risultata indicatrice al 100 % e per valori di ossigeno disciolto < 70 % di saturazione) ed abbastanza significativa nei confronti delle basse temperatura (inferiori a 5°C).

Questa specie, nonostante sia risultata poco rilevante nei vari campionamenti, in quanto ha presentato bassi valori di densità all'interno della comunità fitoplanctonica, è l'unica specie di alga dorata ad aver registrato il massimo di indicator value.

Tab 5: tabella riassuntiva dell'analisi statistica ISA.

parametro indicatore	specie	Valore massimo di indicazione (indicator value) %	Monte Carlo test (p)
ossigeno disciolto	<i>Mallomonas sp.</i>	100	0.005
temperatura	<i>Mallomonas sp</i>	68	0.038
	<i>Ceratium hirundinella</i>	72	0.046
trasparenza	<i>Asterionella formosa</i>	85	0.052
pH	<i>Rhodomonas minuta</i>	73	0.041
	<i>Asterionella formosa</i>	89	0.024
	<i>Fragilaria crotonensis</i>	100	0.032
silice	<i>Asterionella formosa</i>	87	0.041
	<i>Oscillatoria lacustris</i>	63	0.028
	<i>Chodatella citrifomis</i>	100	0.005
fosforo totale	<i>Cryptomonas erosa</i>	49	0.040
	<i>Asterionella formosa</i>	94	0.020
	<i>Oscillatoria lacustris</i>	72	0.070
	<i>Ceratium hirundinella</i>	96	0.013
	<i>Sphaerocystis schoroeteri</i>	94	0.013
azoto inorganico	<i>Asterionella formosa</i>	94	0.003
clorofilla a	<i>Pandorina morum</i>	63	0.045

Tra le tre specie di criptomonadi censite, *Rhodomonas minuta*, è risultata essere molto correlata con il pH con un' affinità per valori di pH intorno agli 8. Ha infatti registrato valori massimi di densità proprio nei mesi in cui il pH rilevato a due metri di profondità era tra 8 e 8.20.

*Cryptomonas erosa* è risultata essere una specie indicatrice del fosforo totale con 49% di indicator value, mostrando affinità per valori di fosforo compresi tra 30-60 µg/l. *Asterionella formosa* è risultata essere la specie indicatrice del maggior numero di parametri ambientali: il fosforo totale (con 94% di indicator value, per il quale ha mostrato affinità per valori > 60 µg/l), l'azoto inorganico (con indicator value pari al 94%, per il quale ha mostrato affinità per valori > 250 µg/l), la temperatura (con 92% di indicator value), la silice (con l' 87% di indicator value) ed infine la trasparenza (con 85% di indicator value).

La relazione tra questa specie e la quantità di silice disciolta nelle acque è pressoché diretta in quanto tale composto chimico è il costituente principale delle diatomee. Si sono registrati i valori massimi di densità di *Asterionella formosa* proprio nei mesi in cui la silice ha presentato valori medi compresi tra 0.20-0.40 mg/l. Questa diatomea è stata maggiormente censita nei mesi invernali caratterizzati da acque fredde, in media < 5 °C e valori di trasparenza < 3 m. Infine il legame col fosforo è legato ad elevate quantità di questo nutriente nelle acque, (con concentrazioni > 60 µg/l).

L'altra diatomea rilevata, *Fragilaria crotonensis*, è risultata essere una specie molto significativa per il pH per il quale ha mostrato un'indicazione totale (100 %), con un' affinità per valori di pH intorno ai 7.5.

*Oscillatoria lacustris* è l'unico cianobatterio comparso nell'analisi ed è risultato indicatore del fosforo totale con 72% di indicator value . Questa specie è stata censita costantemente a partire da luglio fino a marzo 2005, mesi in cui il fosforo totale medio ha registrato, in generale, bassi valori da agosto a dicembre in particolar modo in superficie e nei primi quattro metri di profondità. Dall'analisi risulta un'affinità di tale specie con valori di fosforo



totale < 10 µg/l. inoltre è risultata indicatrice dalla silice con un valore massimo di indicazione pari al 63 %.

Tra le pirrophyta, *Ceratium hirundinella* si è mostrata una specie indicatrice per il fosforo totale con il 96% di indicator value e il 72% di indicator value per la temperatura. Questa specie è stata censita solo in giugno, luglio, agosto, settembre e novembre con un basso numero di specie. In generale sembra che abbia affinità per acque con valori di fosforo totale compresi tra 10-30 µg/l e T > 15 °C.

Del grande gruppo delle alghe verdi, sono comparse le seguenti specie: *Sphaerocystis schoroeteri* che ha registrato un 94% di indicator value per il fosforo totale, per il quale ha mostrato affinità per valori compresi tra 10-30 µg/l, *Pandorina morum* che è risultata l'unica specie indicatrice della clorofilla *a* con il 63 % di indicator value ed un'affinità per questo parametro per valori > 2 µg/l ed infine *Chodatella citrifomis* risultata indicatrice al 100 % per la silice, in particolare per valori di silice disciolta < 0.40 µg/l.

### Indice di diversità di Shannon e Weaver

Nel periodo esaminato, il popolamento fitoplanctonico del Lago Sirio ha indicato un ambiente abbastanza povero di specie, con l'indice di diversità di Shannon e Weaver è quasi sempre inferiore a due (tab. 6) solo nel mese di agosto si è registrato un indice maggiore a due, mese in cui si sono censite ben quindici specie. Il mese in cui si è registrato il più basso valore dell'indice è risultato marzo 2004 in cui la biodiversità era data da sole cinque specie.

Tab. 6: Indici di biodiversità calcolati per fito e zooplancton

	FEB'04	MAR	APR	MAG	GIU	LUG	AGO	SET	OTT	NOV	DIC	GEN'05	MAR	media
<b>fito</b>	0,68	0,41	0,99	1,87	1,04	1,43	2,15	1,41	1,39	1,80	1,02	1,53	1,61	<b>1,33</b>
<b>zoo</b>	1,51	1,12	0,39	1,06	1,20	1,24	1,28	1,61	1,18	1,34	1,18	1,29	1,15	<b>1,20</b>

Anche per la comunità zooplanctonica del Lago Sirio, i valori dell'indice di Shannon e Weaver, indicano un ambiente poco ricco in diversità specifica in quanto i valori ottenuti risultano sempre inferiori a due (tab. 6).

Nel complesso, lo zooplancton presenta valori di *indici di diversità* più bassi rispetto al fitoplancton. Il valore più basso si è registrato in aprile in cui sono state censite sette specie, mentre il valore più alto si è registrato in settembre in concomitanza del censimento di ben quattordici specie.

## CONCLUSIONI

L'insieme delle determinazioni eseguite nel presente lavoro ha portato ad individuare alcune condizioni non ben conosciute del lago Sirio di Ivrea insieme alla conferma di altri parametri, viceversa abbondantemente studiati.

In primo luogo i parametri chimici e chimico-fisici, normalmente determinati per le indagini di III livello per l'utilizzo balneare, hanno messo in evidenza un bacino caratterizzato da una bassa salinità, elevate concentrazioni di azoto inorganico e fosforo. L'elevata concentrazione dei nutrienti nelle acque trae la sua origine da sedimenti particolarmente ricchi in fosforo (il valor medio rilevato sia nei sedimenti a 20 metri che in quelli a 45 è di 1522 mg/Kg, valore normalmente riconosciuto come indicatore di acque eutrofiche).

Il "rifornimento" di fosforo alle acque avviene quindi attraverso il rilascio dai sedimenti e sua distribuzione all'interno del bacino per mezzo di correnti orizzontali in qualche modo governate dall'equilibrio termico., e successiva redistribuzione in tutto il bacino per effetto del rimescolamento termico che si ha verso la fine di febbraio.

Con l'inizio della primavera ed il crescere dell'irraggiamento solare, si ha il primo e più importante "bloom" algale, seguito da altre fioriture minori per tutto il periodo seguente. L'applicazione dei metodi CCA ed ISA hanno permesso di individuare alcune relazioni tra parametri chimici e chimico-fisici e componenti fitoplanctoniche e le eventuali relazioni tra fito e zooplancton. In particolare si è evidenziato come i cianobatteri siano correlati ad elevate temperature e pH elevati, mentre sono assolutamente non correlati con i comuni nutrienti (azoto, fosforo, silice). Viceversa le *Chrysophyta* sono risultate essere decisamente correlate ai nutrienti, mentre sembrano avere nessuna relazione con la temperatura e la trasparenza.

L'utilizzo dell'ISA (indicator species analysis) ha permesso di evidenziare come le Chrysophyceae abbiano una buona affinità per le basse temperature, così come la specie *Rhodomonas minuta* sia affine a valori di pH compresi tra 8 e 8,2, mentre la *Fragilaria crotonensis* ha dimostrato una buona affinità per valori di pH decisamente più bassi.

Si è evidenziata la relazione tra *Asterionella formosa* ed elevati livelli sia di silice che di fosforo.

La ricerca di correlazioni tra fito zooplancton ha portato ad individuare alcune correlazioni tra densità delle specie zooplanctoniche e biovolume delle specie fitoplanctoniche. In particolare sembrano evidenziarsi alcune relazioni tra rotiferi ed alghe verdi, criptomonidi e crisofite. Infine gli indici di diversità di Shannon e Weaver applicati alle comunità fito e zooplanctoniche hanno portato a valori piuttosto bassi, confermando la situazione già per altro emersa.

L'applicazione dei criteri di classificazione della legge 152/99 ha portato ad individuare il lago Sirio in 4 livello di stato ambientale con valutazione di stato ecologico "scadente".

La ricerca qui condotta ha evidenziato come l'utilizzo dei parametri chimici (azoto, fosforo, clorofilla "a", ecc.), portino ad una classificazione di stato ecologico ed ambientale tale che si ha subito l'idea del tipo di lago in studio. Addirittura forse sarebbe sufficiente una classificazione basata su un solo campionamento nel periodo di massimo rimescolamento andando a determinare i livelli di fosforo. Viceversa lo studio delle comunità vegetali ed animali richiede più campionamenti e valutazioni effettuate tali che permettano elaborazioni statisticamente valide.

## **BIBLIOGRAFIA**

ARPA- Piemonte, 2005. Rapporto sullo stato dell'ambiente in Piemonte anno 2005, 50-51.

Barioni, M.G., Gelmini, D., 1983. Rotiferi Monogonti (Rotatoria: Monogonta). In: C. N. R. AQ/1/200 "Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane", 23, 179 p.

Bourelly, P., 1966,1968,1970. Les algues d'eau douce. Voll. I-II-III. Ed. N. Boubèe et Cie, Paris.

Calderaio, E., 1998. Indagine sui popolamenti fito e zooplanctonici del lago Sirio in relazione alla balneazione – Università degli Studi di Torino: tesi di laurea in Scienze naturali.

De Bernardi, R., 1974. Indagini ecologiche sul Lago d'Endine. Edizioni dell'Ist. ital. Idrobiol. Verbania-Pallanza, pp. 225-258.

De Bernardi, R., 1984. Quadro limnologico di cinque piccoli laghi piemontesi (Avigliana, trana, Candia, Viverone e Sirio). Documenta Ist. ital. Idrobiol. 5, 97.

- Defilippi, A., Griselli, B., Tartaglino, L., Viretto, A., 2000. La balneazione in quattro piccoli laghi della provincia di Torino – parte I: il lago Sirio – Boll. Chim. Igien. 51, pp.13-20.
- Dufrene, M., Legendre, P., 1997. Species assemblage and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach – Ecological Monographs 61, 53-73.
- Dussart, B.H., 1969. Les Copepodés des eaux continentales. II. Boubée & Cie, Paris, 292.
- Harding, J.P., Smith, W.A., 1974. A key to the british freshwater Cyclopid and Calanoid Copepods. Freshwater Biological Association, Scientific publication 18, 54.
- Harris, G.P., 1986. Ecologia del fitoplancton. Strutture, funzioni e fluttuazioni - Ed. Clueb, Bologna, 434.
- Margaritora, F., 1984. Cladoceri (Crustacea: Cladocera). In: C.N.R. AQ/1/97 “Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane” 22, 169 pp.
- McCune, B., Mefford, M.J., 1963. Multivariate analysis of ecological data (User’s guide) – version Nauwerk A.; Die bezielungen zwischen zooplankton und phytoplankton in See Erken. Symb. Bot. Upsal. 17, 1-163.
- Odum, E. P., 1988. Basi di ecologia – Piccin Nuova Libreria, Padova, 544 pp.
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1949. The mathematical theory of communication – University of Illinois Press, Urbana IL, 117.
- Streble, H., Krauter, D., 1992. Atlante dei microrganismi acquatici. F. Muzzio ed. Padova, 334.
- Stella, E., 1982. Calanoidi (Crustacea, Copepoda, Calanoida). In: C.N.R. AQ/1/140 “Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane” vol:14, 67.
- Tartaglino, L., Defilippi, A., 1999. Condizioni di balneabilità di quattro laghi della provincia di Torino – atti del convegno “Igiene e salubrità degli alimenti e dell’ambiente”: Chianciano 30/9-3/10, pp. 337-339.
- Ter Braak, C. J. F., 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis – Ecology 67, 1167-1179.
- Tiffany, L.H., Britton, M.E., 1951. The algae of Illinois. The University of Chicago Press. Chicago.
- Tisi, A., 2003. La zona dei “Cinque laghi” di Ivrea: lago Sirio, lago S. Michele, lago Campagna e Torbiera di Chiaverano. Vegetazione acquatica e palustre e ricadute gestionali. Università degli Studi di Torino: tesi di laurea in scienze Forestali Ambientali.
- Trevisan, R., 1978. Nota sull’uso dei volumi algali per la stima della biomassa. Riv. Idrobiol. 17 (3), 350-357.



## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs. 152/99”**

### **Sottoprogetto**

**“Sperimentazione in ambito locale delle metodologie operative per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque ”**

**Responsabile scientifico: Dott. Alberto Maffiotti, Dott.ssa Annalisa Bruno, Dott. Luciano Crua, Dott.ssa Francesca Cattai**

**Autori: Alberto Maffiotti, Annalisa Bruno, Luciano Crua, Francesca Cattai**

## **ABSTRACT**

La tutela e la protezione delle acque presuppongono l'acquisizione di conoscenze approfondite e mirate del complesso ciclo idrogeologico della risorsa idrica, allo scopo di valutare eventuali interventi che possono garantire un corretto utilizzo della risorsa in un'ottica di tutela, riqualificazione e rispetto della compatibilità ambientale.

La descrizione qualitativa dello stato chimico e biologico di un corpo idrico, dopo averlo opportunamente suddiviso in tratti omogenei, deve essere messa in relazione con il regime idrologico allo scopo di meglio comprendere e descrivere, mediante accurati bilanci di massa, i carichi inquinanti presenti e compatibili nel corpo idrico per poter definire i delicati meccanismi di autoregolazione e di omeostasi fluviale.

Per poter sviluppare le tematiche precedenti è stato applicato ad un ambito vallivo montano un modello semplificato della qualità delle acque superficiali.

## **INTRODUZIONE**

La complessità è una caratteristica comune di tutti i sistemi ambientali, riconducibile alla coesistenza di molte componenti, ciascuna con una propria dinamica, interagenti fra di loro. Per questo motivo è spesso diffusa l'abitudine di valutare su basi intuitive l'evoluzione complessiva del sistema, così come risulta dall'evoluzione combinata di tutte le sue componenti.

Questa considerazione ha reso necessario il ricorso a strumenti di analisi più sofisticati in grado di rappresentare correttamente ogni componente dell'ecosistema e le sue interazioni con tutte le altre. Si tratta di metodi basati sull'analisi dei sistemi dinamici, capaci di rappresentare in forma matematica le caratteristiche dell'ecosistema e di riprodurre l'evoluzione nel tempo e nello spazio, in termini quantitativi.

Lo strumento modellistico è ormai una componente indispensabile nello studio dei sistemi ambientali, specialmente se a larga scala. Esso trova largo impiego anche nello studio dei sistemi fluviali, la cui qualità deve essere gestita a livello integrato fra una pluralità di soggetti con diverse responsabilità e competenze. Infatti, alla luce dell'attuale quadro normativo, in particolare del DL 152/99 la qualità dell'acqua deve tener conto non solo dei corsi d'acqua naturali, ma anche dei sistemi di depurazione e perciò della loro gestione, nell'ottica di una gestione integrata a scala di bacino che può essere condotta con successo solo ricorrendo a tali strumenti di previsione, pianificazione e controllo.

## **OBIETTIVI**

### **Generalità sulla modellistica fluviale**

Trattandosi i fiumi, come si è già ricordato, di sistemi in continua evoluzione, lo strumento modellistico utilizzato nel progetto è quello dei sistemi dinamici, inteso come insieme di componenti interagenti fra di loro e dotati di dinamica propria. Tali sistemi sono in grado di sviluppare una risposta, in funzione non solo delle forzanti esterne, ma anche della propria dinamica interna seppur semplificata. Tale rappresentazione è riassumibile e si distingue fra ingressi controllabili, quali gli interventi di gestione (impianti di trattamento, captazioni delle acque..) e quelli non controllabili, come le variazioni meteorologiche, i carichi inquinanti diffusi.

Un modello matematico, basato su equazioni differenziali rappresenta uno strumento di analisi per osservare il comportamento dell'ecosistema quando è sottoposto a delle alterazioni sia interne che esterne, come delle variazioni climatiche o una diversa situazione idrologica. Il modello matematico prima teorico e poi applicato, per essere utilizzato deve venir tradotto in codice di calcolo e risolto numericamente (simulazione) per fornire l'evoluzione del sistema una volta definiti gli ingressi. Generalmente un modello matematico è costituito da tre sottomodelli (idraulico, chimico e biochimico) descritti in tabella 1.



Tab. 1 - Suddivisione funzionale dei modelli di qualità fluviale

Fase 1	<b>MODELLO IDRAULICO</b> Indispensabile premessa per il modello di qualità Determina il campo di moto del fluido (Portata)
Fase 2	<b>MODELLO CHIMICO</b> Dinamica della degradazione degli inquinanti Interazione fra BOD e Ossigeno Disciolto (BOD/COD & NH <sub>4</sub> )
Fase 3	<b>MODELLO BIOCHIMICO</b> Dinamica delle reazioni biochimiche Interazione fra Molecole e Microorganismi Radiazione solare

L'uso di un modello matematico perciò, non dovrebbe prescindere da adeguate risorse di calcolo e da un ambiente di sviluppo, seppur estremamente semplificato, in cui l'utente definisce il proprio problema e sviluppa il relativo modello senza dover possedere nozioni informatiche approfondite. I modelli commerciali attualmente disponibili si compongono non soltanto della sezione dedicata al calcolo (equazioni matematiche che descrivono la qualità dell'acqua), ma forniscono anche un ambiente di sviluppo di opportuni scenari ed un'interfaccia utente adeguata.

### **Il modello sperimentale MODMASE**

Il progetto "Sperimentazione in ambito locale delle metodologie operative per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque" ha sviluppato l'approccio metodologico descritto sinteticamente nel paragrafo precedente. A tale riguardo nella prima fase progettuale sono stati utilizzati i monitoraggi quali-quantitativi esistenti nei bacini montani dei torrenti Chisone e Dora Riparia, aree nelle quali si svolgeranno i Giochi Olimpici del 2006.

Successivamente, l'elaborazione dei dati raccolti ha permesso di individuare lo stato di qualità dei corpi idrici oggetto dello studio. Infine l'abbinamento dei dati di qualità chimico biologica a misure quantitative di portata ha condotto alla elaborazione di un modello matematico semplificato (MODMASE) in grado di mostrare l'andamento di alcuni descrittori della qualità del corpo idrico in scenari diversificati temporalmente.

Tale modello sviluppato, calibrato e validato in un ambito territoriale circoscritto e particolare, può rappresentare un efficace strumento di gestione della risorsa idrica anche in aree montane per le quali la letteratura a disposizione non mostra particolari sperimentazioni ed applicazioni.

L'utilizzo poi dello strumento modellistico non si riduce alla sola fase di sperimentazione ma può divenire un primo strumento per le amministrazioni locali come supporto tecnico al processo decisionale in materia di scarichi e prelievi, esse avrebbero a disposizione uno strumento mediante il quale individuare le cause di potenziali criticità, grazie al quale trovare contemporaneamente le risposte adeguate nel più ampio quadro globale della situazione ambientale.

La necessità per questo sottoprogetto di sviluppare un supporto iniziale, semplice, a basso costo ed applicabile utilizzando le informazioni ambientali normalmente a disposizione ha

richiesto la semplificazione del modello concettuale mantenendone il rigore scientifico generale.

Il principale vantaggio di questo approccio risiede nella simulazione numerica fornita dal modello matematico con cui si possono riprodurre delle situazioni che sarebbe impossibile, costoso o pericoloso produrre nell'ecosistema. Inoltre si possono valutare gli effetti di soluzioni alternative, scegliendo quella che appare più idonea a raggiungere certi obiettivi di gestione o di intervento. In particolare, per quanto riguarda l'applicazione del modello in una area montana interessata da importanti modificazioni del territorio indotte dall'evento olimpico Torino 2006, l'applicazione di modelli permette alcune operazioni molto importanti, quali ad esempio:

1. Individuazione dei punti "critici" del fiume dove l'inquinamento produce effetti più marcati. In questo modo si può selezionare il punto più adatto per un nuovo scarico o un depuratore, tale da minimizzare l'impatto sul fiume. Questa operazione è molto utile nell'allocazione e/o dimensionamento di depuratori e loro gestione se il trattamento è legato alla qualità fluviale.
2. Progettazione di campagne di raccolta dati, razionalizzando la raccolta dati in modo da rilevare tutti e soli i dati necessari.
3. Generazione di "scenari" mediante simulazione per valutare l'impatto ambientale degli interventi.

I principali parametri di qualità riguardano le sostanze a base carboniosa, espresse come BOD e COD, i nutrienti (azoto e fosforo), ed eventuali sostanze tossiche che sono considerate conservative. Tale modello, che rispetta la teoria di Streeter e Phelps (1925), è in grado di descrivere la "saccatura" di ossigeno disciolto a valle di uno scarico concentrato di materiale biodegradabile.

Malgrado queste limitazioni e semplificazioni, la teoria di Streeter e Phelps è ancora alla base di molti modelli di qualità ed in alcuni casi, come questo qui sviluppato, può essere sufficiente allo scopo.

Da un punto di vista formale, lo strumento matematico usato è quello delle equazioni differenziali, in grado di descrivere il rateo di variazione nel tempo delle variabili di stato del sistema

$$\frac{dx}{dt} = f(x, u, c)$$

dove  $x$  è il vettore di stato del sistema, che ne raggruppa le variabili dinamiche, il rapporto  $dx/dt$  rappresenta il rateo di variazione  $x$ ,  $u$  e  $c$  sono rispettivamente il vettore degli ingressi non controllabili e controllabili e  $f(.,.)$  rappresenta la struttura matematica del modello.

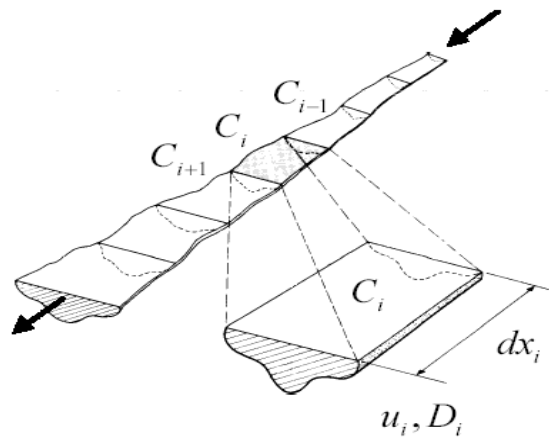


Figura 1 - La suddivisione dell'asta fluviale in tratti omogenei (da Modellistica fluviale ANPA RTI CTN\_AIM 2/2000)

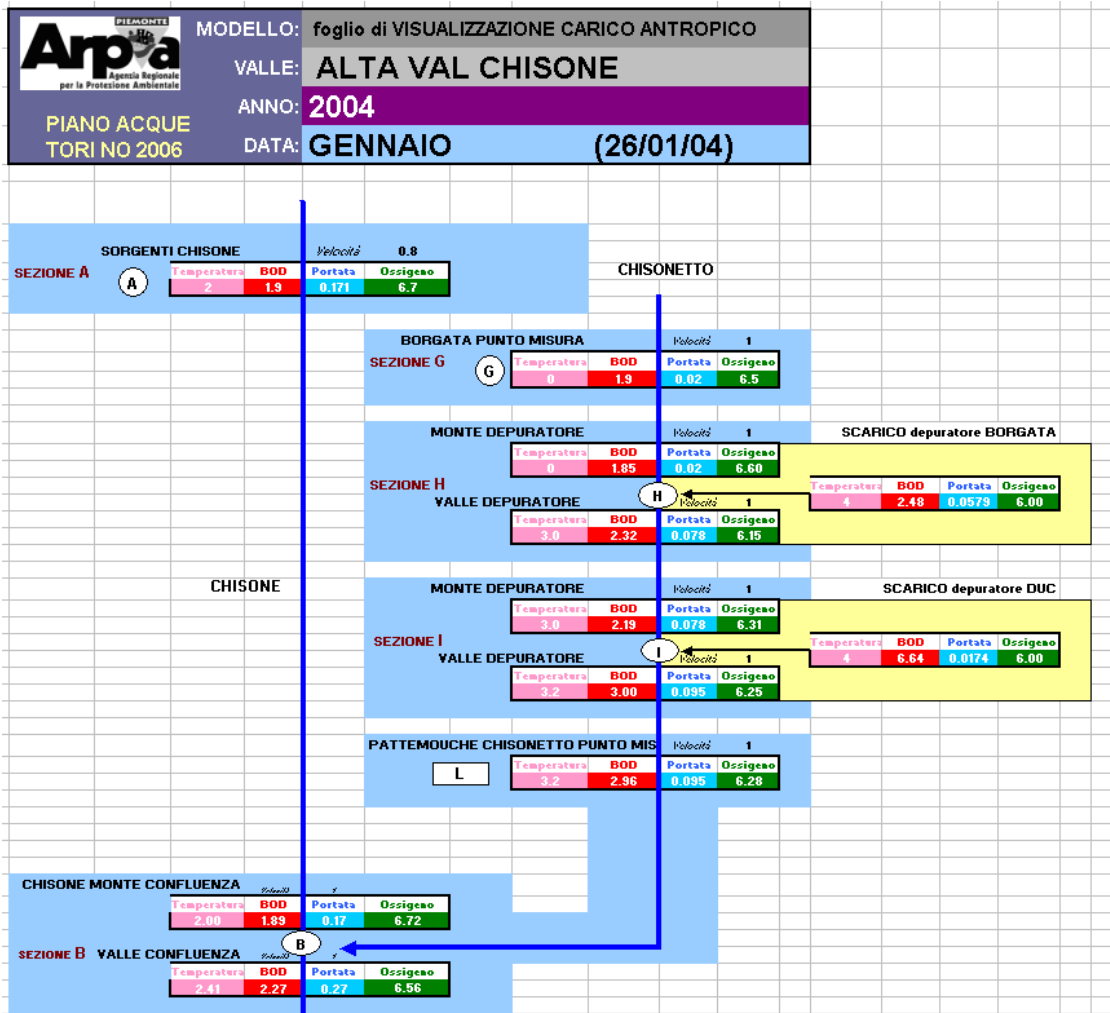


Figura 2 - Esempio di struttura del modello MODMASE per il rio Chisonetto dal punto Borgata al punto Pattemouche. Nelle caselle colorate compaiono i valori dei quattro parametri considerati per ogni nodo dell'asta fluviale, in giallo i valori degli scarichi che incidono sul corpo idrico

## MATERIALI E METODI

### Sviluppo del modello MODMASE: Definizione del reticolo idrografico

Le aste fluviali oggetto di questo studio sono due e si sviluppano nelle due valli Chisone e Susa rispettivamente per 10 e 30 chilometri. I comuni interessati sono Pragelato e Sestriere per il torrente Chisone ed il suo affluente di sinistra Rio Chisonetto, mentre la Dora Riparia ed i suoi immissari ed affluenti attraversano i comuni di Sauze di Cesana (Torrente Ripa) Cesana Torinese (torrente Ripa, Piccola Dora) Bardonecchia (Dora di Bardonecchia, Rio Valle Stretta) Oulx e Salbertrand (Dora Riparia).

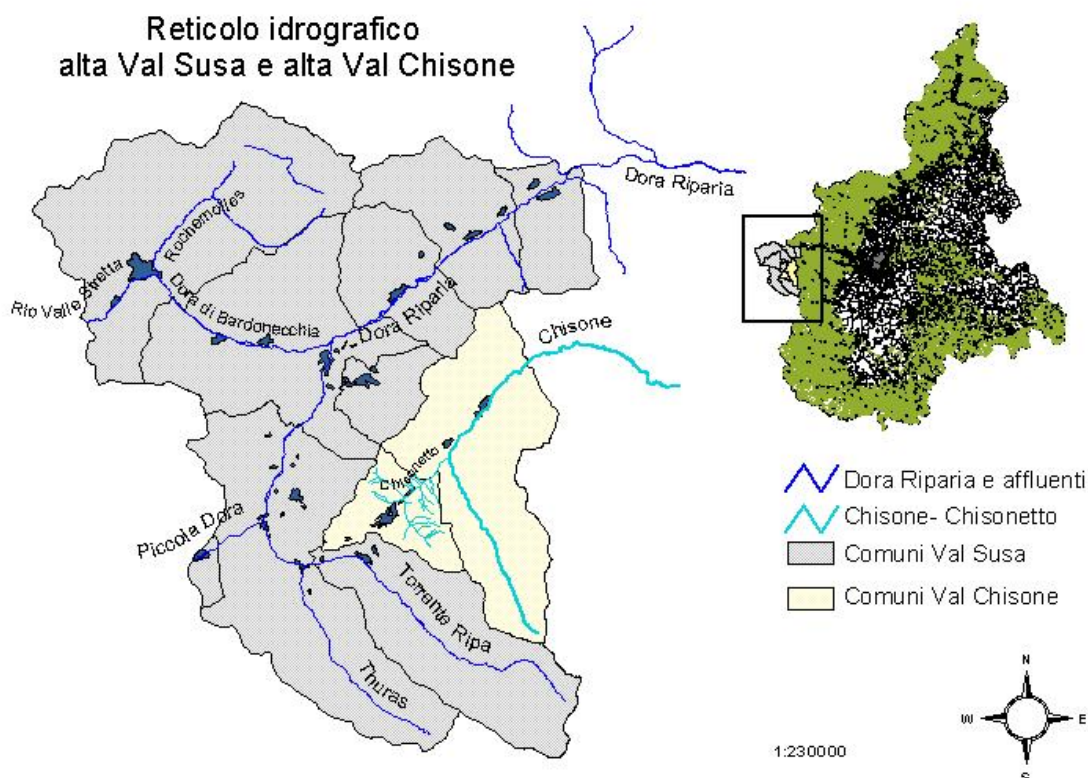


Figura 3 – Rappresentazione dei bacini idrografici del Chisone e della Dora Riparia.

Per il torrente Chisone la porzione di bacino studiata va dai 1800, a monte del depuratore di Borgata sul rio Chisonetto, ai 1580 metri slm del punto di chiusura del bacino. Il rio Chisonetto scorre nel comune di Sestriere dalle sorgenti fino alla confluenza con il torrente Chisone in località Pattemouche a Pragelato; il Chisone percorre l'abitato di Pragelato attraversa la borgata Soucheres Basses, chiusura del bacino per lo studio in essere, per poi continuare a scorrere verso valle fino a gettarsi nel torrente Pellice, affluente di sinistra del fiume Po. Lungo il profilo altimetrico considerato non sono stati rilevati affluenti di portata rilevante.

La porzione di bacino della Dora Riparia analizzata è più ampia con un dislivello da quota 1600 metri circa a quota 1000 metri slm della chiusura del bacino nel comune di Salbertrand. La Dora Riparia origina nel comune di Cesana Torinese dai torrenti Ripa e Piccola Dora e nel comune di Oulx raccoglie in sponda sinistra le acque della dora di Bardonecchia. Gli affluenti di portata rilevante sono il rio Thuras e il rio Gran Comba. La Dora Riparia attraversa quindi tutta la val di Susa per unirsi al Fiume Po nel comune di Torino.

### Sviluppo del modello MODMASE: Carichi ambientali presenti

Propedeutica alla definizione della struttura di un modello matematico di qualità fluviale è la conoscenza del territorio circostante il corpo idrico che si vuole modellare. È indispensabile

acquisire i dati disponibili presso vari Enti relativi all'utilizzo del territorio, alle condizioni idrauliche e di qualità chimico-biologica del corso d'acqua oltre che alla presenza di fonti inquinanti.

Le fonti inquinanti delle aree interessate dallo studio sono rappresentate principalmente dagli scarichi civili dei depuratori comunali, si tratta infatti di una zona alpina priva di insediamenti industriali e con un limitato uso del territorio a scopo agricolo.

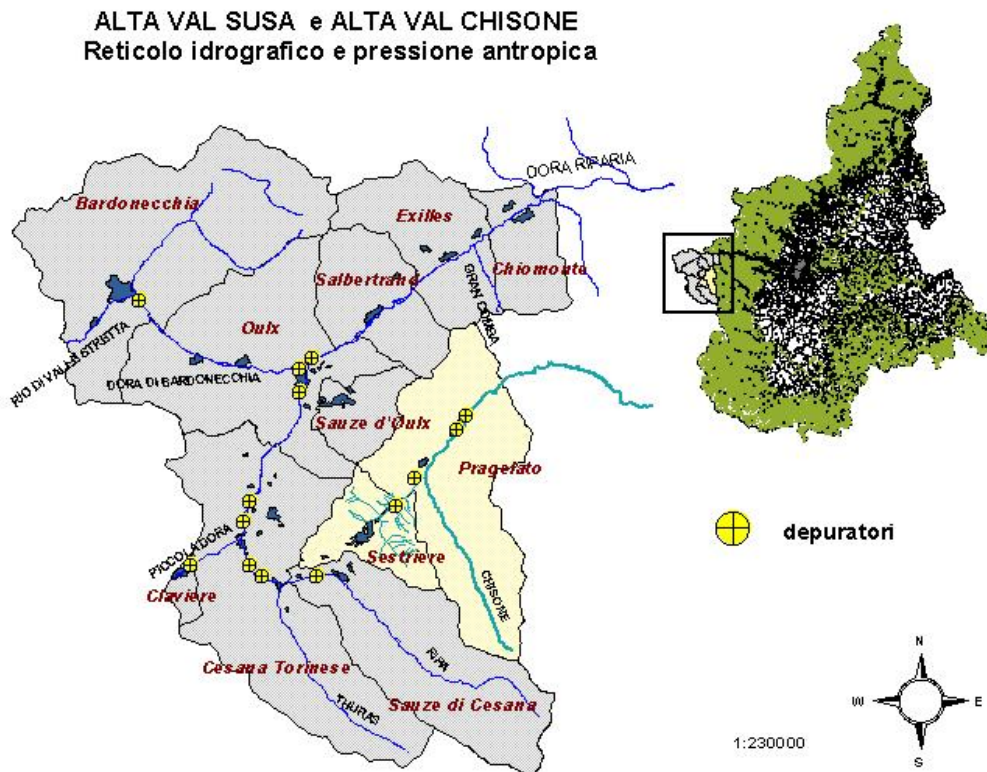


Figura 4 – Rappresentazione del carico ambientale nei bacini idrografici del Chisone e della Dora Riparia.

Sono state quindi recuperate le informazioni relative ai depuratori insistenti sulle aste fluviali di Dora Riparia e Chisone: le loro coordinate geografiche, il numero di abitanti equivalenti serviti, quando possibile i dati relativi a campionamenti svolti in passato da Arpa Piemonte con valutazione dei principali parametri indici di inquinamento di origine antropica.

Le sorgenti d'impatto, infatti, sono responsabili in quest'area alpina, sia pure con modalità diversificate, della produzione di reflui in grado di alterare potenzialmente la qualità dei corpi idrici attraverso la riduzione del contenuto in ossigeno disciolto e mediante l'incremento dei nutrienti.

### **Sviluppo del modello MODMASE: Regime idraulico**

Lo studio del regime idraulico del corso d'acqua è molto importante per definire i parametri idraulici necessari al funzionamento del modello di qualità fluviale. Nel territorio in esame al

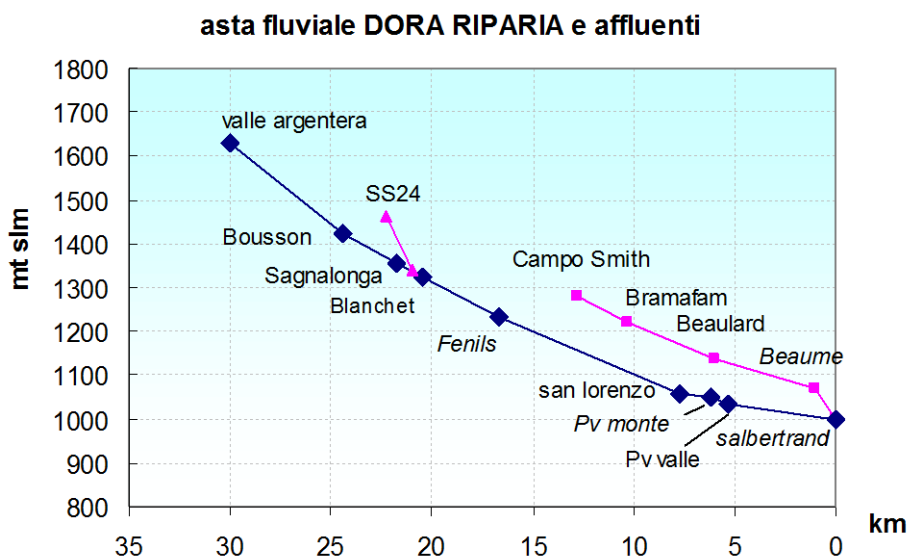


Grafico 1 - profilo altimetri dell'asta fluviale della Dora Riparia e dei suoi affluenti

momento dello studio esiste una sola stazione idrometrica di proprietà della Regione Piemonte,

sita sulla dora Riparia nel comune di Oulx a monte della confluenza con la Dora di Bardonecchia. Tuttavia lavori in alveo hanno impedito di ottenere dati utili alla determinazione del livello nel corso del 2004. In assenza di misure dirette dei parametri idraulici si è resa allora indispensabile la misurazione manuale delle portate lungo le aste fluviali, in condizioni che fossero rappresentative di vari periodi dell'anno.

Le misurazioni sono state eseguite con il correntometro a mulinello che misura la velocità del flusso della corrente lungo una sezione del corso d'acqua. Un software dedicato poi permette di calcolare la portata del punto, combinando i valori di velocità misurati a distanza note dalla riva con la lunghezza del transetto scelto per la misura.

Le stazioni in cui svolgere le misurazioni manuali di portata sono state scelte in base alla conoscenza del territorio, di concerto con la scelta dei punti del monitoraggio chimico-biologico ce infatti sono stati individuati in modo che fosse logico e materialmente possibile svolgervi anche le misurazioni di portata. Sono state scelte stazioni all'apertura e alla chiusura dei bacini, ed in generale a monte e a valle di confluenze con affluenti importanti. Le aste fluviali dei torrenti chisone e Dora Riparia sono riportate nei grafici 1 e 2, in blu è stata indicata l'asta principale in rosa gli affluenti.

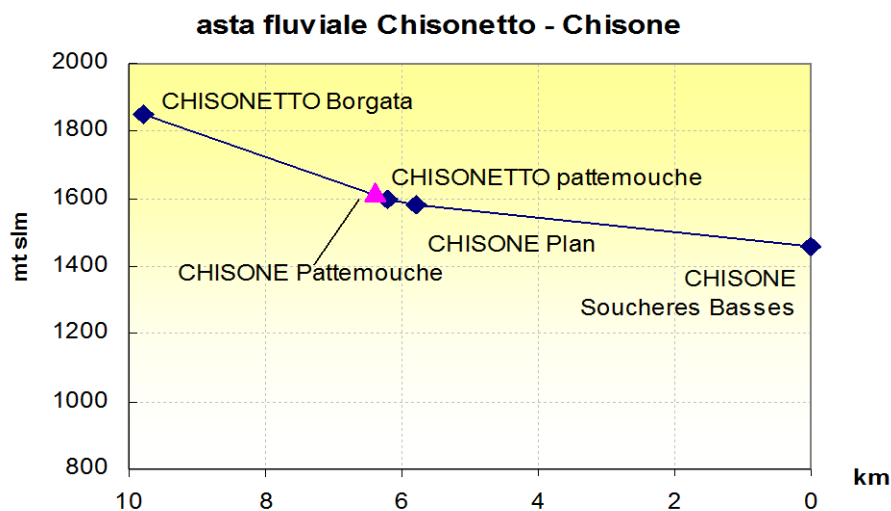


Grafico 2 - profilo altimetri dell'asta fluviale del Chisone –Chisonetto

### **Sviluppo del modello MODMASE: campagne di monitoraggio**

Per acquisire i dati necessari alla parametrizzazione del modello di qualità fluviale lungo l'asta del Chisone e della Dora Riparia, sono state svolte campagne di campionamento mensile o stagionale. Sono stati implementati i punti di monitoraggio inseriti nelle reti regionali (Censimento dei Corpi Idrici) e sono state mantenute le tempistiche di campionamento e di indagine degli analiti previste dalla normativa vigente per giungere alla definizione di qualità delle varie sezioni. È stata effettuata l'identificazione dei punti nodali significativi per quanto attiene gli apporti idrici nel corpo recettore, per la presenza di fonti di impatto sulla qualità delle acque e per l'opportunità di svolgere misurazioni idrologiche. Si è avuto comunque cura di effettuare misure differenziate (monte/valle) rispetto ai principale scarichi.



ALTA VAL SUSA e ALTA VAL CHISONE  
Reticolo idrografico e pressione antropica

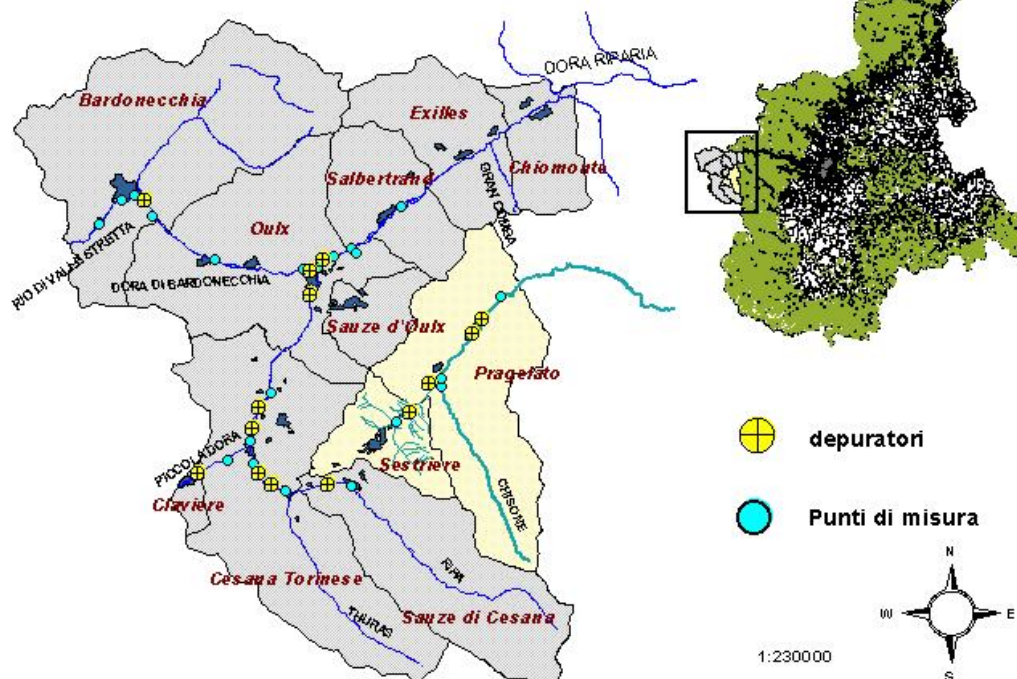


Figura 5 – rappresentazione grafica dei punti di misura in alta Val Susa e alta Val Chisone

Complessivamente sono state individuate 5 stazioni di misura nel bacino del Torrente Chisone e 14 in quello della Dora Riparia, distribuite lungo il corso del fiume con una certa equidistanza. Nella campagna del settembre 2003 dicembre 2004 le analisi chimico-microbiologiche sono state svolte con cadenza mensile nei punti più rappresentativi del corpo idrico o comunque situati a valle di scarichi importanti, e stagionale per tutti gli altri.

Il set di analisi svolto è quello previsto dalle analisi del 152/99 in materia di acque superficiali, sebbene i parametri utili alla costruzione del modello sono stati solo BOD, ossigeno disciolto e temperatura. Aver svolto un'analisi più approfondita di quella apparentemente richiesta dalla parametrizzazione del modello ci ha permesso nella descrizione degli scenari futuri di ipotizzare la modellizzazione di nuovi parametri indici di inquinamento antropico, quali ammoniaca e E. coli.



Tabella 2 - Descrizione delle stazioni di misura sui torrenti Chisone e Dora Riparia

VAL CHISONE		
Località	Coordinate UTM	Descrizione
1 Borgata	X: 333850 Y: 4981890	Nel modello è la stazione di monte sul rio chisonetto. Dal punto di vista analitico viene considerato uno dei due bianchi del sistema essendo situata a monte del depuratore di Borgata.
2 Pattemouche Chisonetto	X: 336142 Y: 4983913	a valle dei depuratori di Borgata e Duc sul rio Chisonetto, poche centinaia di metri prima della confluenza con il Chisone.
3 Pattemouche Chisone	X: 336252 Y: 4983852	Nel modello è la stazione di monte sul torrente Chisone. Il secondo bianco del sistema dal punto di vista analitico. Poche centinaia di metri prima della confluenza con il Chisonetto.
4 Plan	X: 336190 Y: 4984135	punto di misura sul chisone a valle della confluenza con il Chisonetto, vettore del maggiore carico inquinante.
5 Soucheres basses	X: 339439 Y: 4988582	Nel modello è la stazione di misura di chiusura del bacino, punto di censimento Regionale mensile dal 1990
VAL SUSA		
1 valle argentera	X: 331452 Y: 4978423	Nel modello è la stazione di monte sul torrente Ripa Dal punto di vista analitico viene considerato uno dei bianchi del sistema.
2 Bousson	X: 327892 Y: 4978154	A valle del concentrico di Sauze di Cesana, del relativo scarico e della confluenza con il rio Thuras. Condizioni ancora relativamente indisturbate.
3 Sagnalonga	X: 326160 Y: 4979678	Sul torrente Ripa a monte del concentrico di Cesana Torinese. Punto a valle degli scarichi di Champlas seguin e Rocciaglie
4 Blanchet	X: 325988 Y: 4980876	A valle del concentrico di Cesana e a monte della confluenza tra Ripa e Piccola Dora, quando nasce la Dora Riparia.
5 Fenils	X: 327087 Y: 4983452	Sulla Dora Riparia a valle degli scarichi di Mollieres e Fenils. Punto di censimento Regionale mensile dal 1990.
6 San Lorenzo	X: 329595 Y: 4990241	Sulla Dora Riparia a valle dello scarico di Jouvenceaux, poco a monte della confluenza con la dora di Bardonecchia.
7 Pont Ventoux monte	X: 330423 Y: 4990700	A valle della confluenza con la dora di Bardonecchia a monte dello scarico di Gad che serve l'abitato di Oulx.

8 Pont Ventoux valle	X: 331400 Y: 4991176	A valle della confluenza con la dora di Bardonecchia e dello scarico di Gad che serve l'abitato di Oulx. Nel modello rappresenta il punto di chiusura del bacino dal punto di vista idrologico.
9 Salbertrand	X: 334055 Y: 4993414	Nel modello è la stazione di misura di chiusura del bacino, ma solo dal punto di vista analitico. E' anche punto di censimento Regionale mensile dal 1990.

In alcuni punti di misura il set di analisi svolte e la frequenza di campionamento ha permesso di applicare per il 2004 gli indici di qualità ambientale (LIM, stato ecologico e stato di qualità ambientale o SACA), come definiti dall'allegato 1 del D.Lgs 152/99.

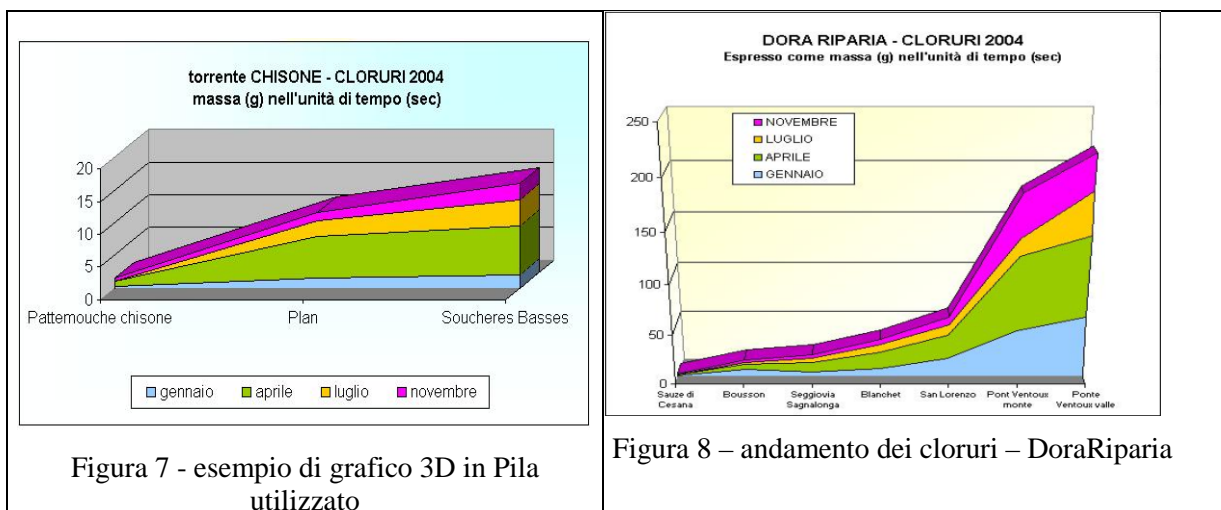
Per l'anno 2004 è stato possibile esprimere lo stato di qualità del corpo idrico attraverso la classificazione ufficiale dei tratti interessati.

Tabella 3 - Indici di qualità ambientale 2004

	località	LIM	IBE	Stato ecologico	Stato ambientale
<b>Val Chisone</b>					
Rio Chisonetto	<b>Pattemouche</b>	260	7.00	Classe 3	<b>Sufficiente</b>
Torrente chisone	<b>Soucheres Basses</b>	340	7.75	Classe 2	<b>Buono</b>
<b>Val Susa</b>					
Torrente Ripa	<b>Sagnalonga</b>	360	7.75	Classe 2	<b>Buono</b>
Dora di Bardonecchia	<b>Bramafam</b>	310	7.00	Classe 3	<b>Sufficiente</b>
	<b>Baume</b>	350	6.75	Classe 3	<b>Sufficiente</b>
Dora Riparia	<b>fenils</b>	310	7.50	Classe 2	<b>Buono</b>
	<b>Pont Ventoux valle</b>	280	7.67	Classe 2	<b>Buono</b>
	<b>Salbertrand</b>	320	7.25	Classe 3	<b>Sufficiente</b>

Il risultato peggiore si ha per la Dora di Bardonecchia a Bramafam e a Baume; per la Dora Riparia a Salbertrand e per il Chisonetto a Pattemouche. Per questi punti l'indice SACA è solo sufficiente. Per tutti gli altri la qualità ambientale del 2004 è buona, segno che l'area alpina oggetto di studio l'impatto antropico è ancora relativamente contenuto, e là dove ci sono dei problemi sono da imputare prevalentemente agli scarichi dei depuratori civili e all'eventuale loro malfunzionamento.





Per **cloruri** e **solfori** (parametri conservativi) il carico aumenta sempre, da monte verso valle in tutti e quattro i mesi considerati, sia per la Val Chisone sia per la Val di Susa. L'andamento del carico riprende in massima parte quello della portata, soprattutto per i solfori del rio Chisonetto e della Dora Riparia. Il carico maggiore si registra infatti nel mese di aprile per quanto riguarda la val Chisone e nel mese di aprile e luglio per la Val di Susa.

Pertanto, al di là del carattere conservativo dei parametri, l'acqua dei mesi di maggio e giugno risulta meno ricca di solfori e cloruri. Se si considera che nella tarda primavera l'acqua deriva prevalentemente dallo scioglimento delle nevi, si evidenzia come la composizione salina dell'acqua superficiale risenta di un effetto di diluizione provocato dall'apporto di acque meteoriche. Si evidenzia infine come i solfori esprimano meglio dei cloruri il carattere conservativo loro attribuito.

Per quanto riguarda l'**azoto** sono stati misurati l'azoto totale, l'azoto nitrico e l'azoto ammoniacale.

L'azoto nitrico è l'ultimo stadio dell'ossidazione dell'azoto proteico, ma può anche derivare direttamente dalla concimazione chimica dei terreni in ogni caso questa forma di azoto non subisce ulteriori modificazioni e dovrebbe quindi acquisire un carattere semi-conservativo.

Per tutti i corpi idrici considerati il carico e le concentrazioni di nitrati aumentano sempre da monte verso valle, come è lecito attendersi e sono sempre più elevati quando la portata idrica è maggiore. l'andamento dell'azoto nitrico, infatti, segue tendenzialmente quello delle portate, anche se per la Dora Riparia e il Torrente Chisone il carico massimo di inquinante si ha nel mese di luglio in corrispondenza di una portata comparabile a quella di aprile, ma con una concentrazione di nitrati molto più elevata.

Tra i parametri non conservativi l'Azoto Ammoniacale e gli Escherichia Coli sono utili per una valutazione diretta dei carichi inquinanti.

L'**ammoniacale** in un ambiente idrico è sempre connessa a fenomeni d'inquinamento di origine organica in atto. Analogamente la presenza di E-Coli è indice di contaminazione da liquami biologici assai prossima nello spazio e nel tempo.

Si evidenzia come nella Val di Susa i mesi di gennaio e luglio risultano essere i più critici per questi due parametri, come d'altronde era logico aspettarsi essendo, tra quelli considerati, i mesi di maggiore afflusso turistico. In particolare il massimo di carico inquinante di ammoniacale e E-coli si hanno rispettivamente nel mese di gennaio e luglio.

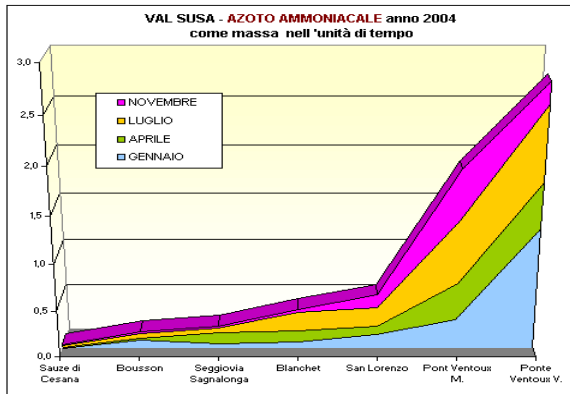


Figura 9 - andamento NH3 Dora Riparia

Dal grafico del torrente Chisone emerge che il problema maggiore è dato dal rio Chisonetto, in quanto nel punto di misura PLAN che si trova sul torrente Chisone subito a valle della confluenza con il Chisonetto, il valore di ammoniaca, sia in concentrazione sia come carico, indipendentemente dai valori di portata, si alza notevolmente per riabbassarsi nel successivo punto di misura a Soucheres Basses. Come per la Val di Susa anche in questo caso il mese più critico per l'inquinamento da ammoniaca rimane gennaio; ciò vale per il Chisone ma soprattutto per il Chisonetto, ricettore di parte delle acque reflue provenienti dalla stazione sciistica di Sestriere.

L'andamento della carica microbica ricalca solo parzialmente quello dell'ammoniaca. Nel punto di misura sul Chisone a valle della confluenza con il rio Chisonetto il valore di E-coli non è elevato, si alza notevolmente solo nella stazione di chiusura del bacino a Soucheres Basses, in particolare nei mesi di luglio e novembre.

Bisogna in ogni caso tenere conto del fatto che, nei grafici proposti, sono stati presi in considerazione solo alcuni mesi dell'anno che si suppone essere rappresentativi della stagionalità, ma non è detto che lo siano completamente.

Da una prima analisi dei dati sembrerebbe che il parametro E-Coli abbia un andamento più regolare nel corso dell'anno e sia per questo più efficace dell'ammoniaca nella rappresentazione dell'andamento del carico inquinante di origine antropica.

### Sviluppo del modello MODMASE: struttura

MODMASE è il modello matematico semplificato di qualità fluviale sviluppato in via sperimentale per Il Torrente Chisone, per il quale è stato validato e calibrato. Lo stesso modello è stato sviluppato per l'asta fluviale della dora Riparia, tuttavia le procedure di validazione sono ancora in fase di elaborazione poiché la complessità del territorio sotteso ha comportato delle difficoltà non ancora pienamente risolte. Nella descrizione delle

Nel punto PONT VENTOUX MONTE si registra in realtà un massimo di carico e concentrazione di batteri nel mese di novembre. Dal momento che il fenomeno si presenta in modo meno marcato anche a luglio e che non ci sono picchi di carico sulle altre stazioni di misura, si potrebbe considerare tale dato un evento dovuto in particolare al carico organico apportato dalla Dora di Bardonecchia che si immette sulla Dora Riparia subito a monte del punto di misura.

Il discorso è leggermente diverso per la Val

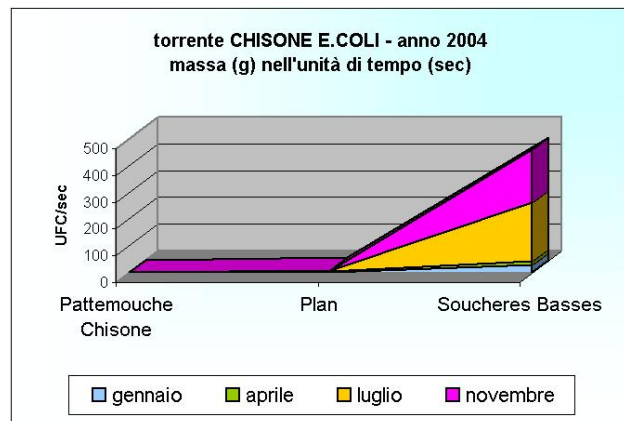
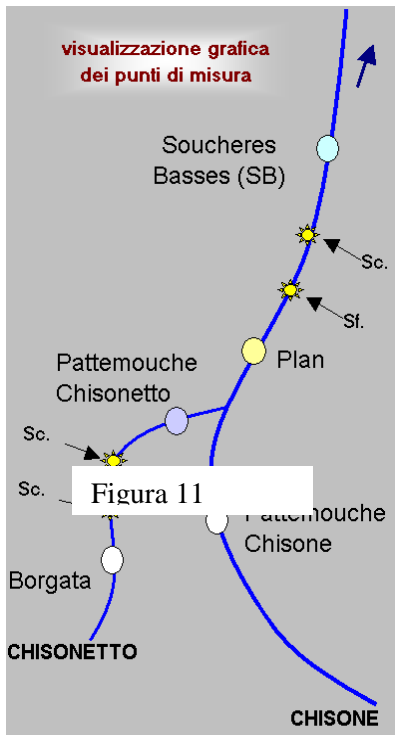


Figura 10 - andamento carico organico Chisone



caratteristiche del modello faremo quindi riferimento costante alla sola asta fluviale del Chisone.



La costruzione del modello, benchè su un'area ristretta e relativamente semplice come quella dell'alta Val Chisone, è stata lunga e complessa. Svolto lo studio preliminare del bacino idrografico interessato, si è cominciato a costruire la struttura dei fogli di lavoro di excel di cui il modello è costituito. Valutati i primi risultati analitici si è deciso di modellizzare alcuni parametri. Sono stati scelti BOD, temperatura e Ossigeno Disciolto oltre che la portata necessaria per il bilanciamento del sottomodulo idraulico. Solo in un secondo momento si è pensato di modellizzare altri parametri indice diretto di carico inquinante, quali NH4 e E-coli (vedi oltre negli Scenari).

Scelti i parametri, il passo successivo è stato la definizione della **struttura lineare** del modello (vedi semplificazione in figura 11). Si è trattato di trasporre sul foglio excel le informazioni relative al bacino idrografico acquisite durante la fase di studio preliminare sul campo. Per ogni punto di misura è stata creata una sezione collegata ad un suo foglio di calcolo; lo stesso è avvenuto per tutti gli scarichi censiti sul territorio ed evidenziati dal colore giallo (vedi struttura di visualizzazione carico antropico)

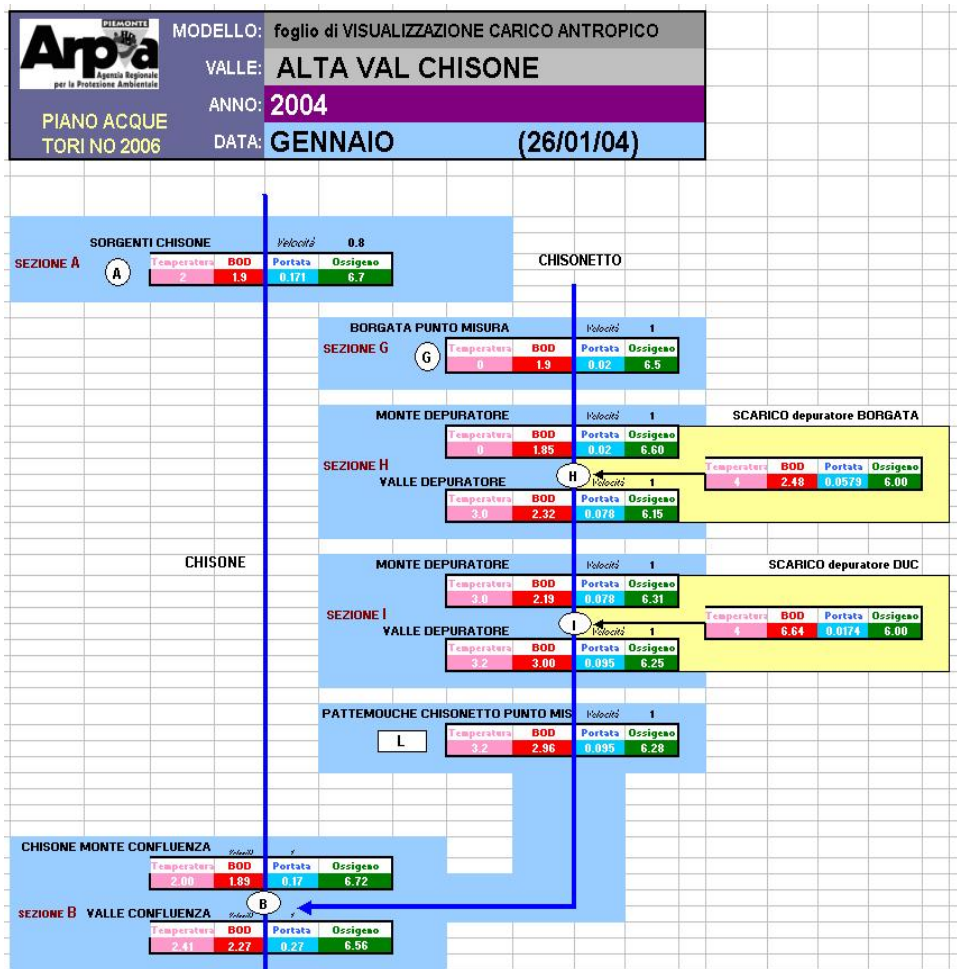


Figura 12 - Struttura del modello nel foglio di lavoro Visualizzazione Carico antropico

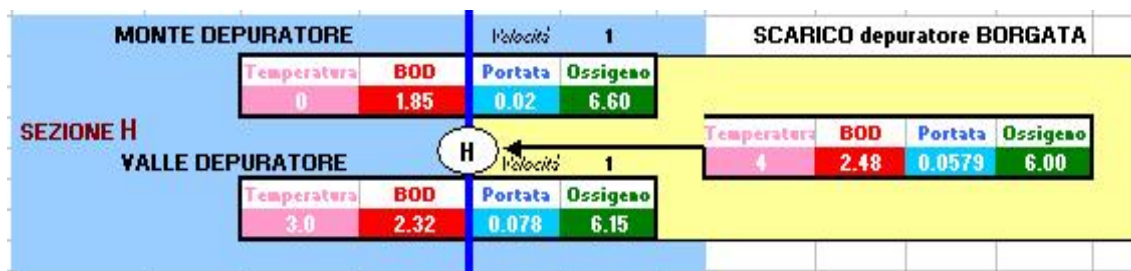


Figura 13 - Struttura del modello: particolare scarico depuratore

Tutte le caselle della struttura del modello sono collegate ai fogli di calcolo o a quello di inserimento dati, detto foglio di **Imput Carichi**. Nel foglio di imput si inseriscono tutte le informazioni di carattere territoriale sugli scarichi e sui dati analitici dei parametri modellizzati. In questo foglio esistono quindi campi liberi (dove inserire ad esempio il numero di abitanti equivalenti ipotizzati per il mese preso in considerazione) e campi fissi in cui sono state inserite le costanti parametriche del modello quali ad esempio il consumo procapite di acqua, o il grado di efficienza depurativa teorica dei depuratori.

Le **sezioni di calcolo** rappresentano il nucleo centrale del modello. Esse definiscono la situazione qualitativa del corpo idrico immediatamente dopo un ingresso che può essere una confluenza, l'immissione di uno scarico, o una derivazione. Nei fogli di calcolo sono state inserite le equazioni differenziali in grado di simulare le dinamiche di autodepurazione del fiume, che permettono al modello di calcolare costantemente il valore di BOD lungo tutta l'asta fluviale. Tuttavia la lunghezza limitata del tratto di fiume studiato fa sì che il modello di qualità fluviale sia prevalentemente influenzato dai dati in ingresso più che dalle dinamiche di autodepurazione del corso d'acqua.

PIANO ACQUE MODELLO MATEMATICO SEMPLIFICATO  
 TORINO 2006 Foglio di INPUT CARICHI  
 VALLE: valle CHISONE  
 ANNO: 2004  
 MESE: GENNAIO (26/01/04)

**Arpa**  
 Dipartimento di TORINO

**Condizioni iniziali e punti di misura**

stazioni di misura	Temperatura	BOD	Portata	Co Misurato	Co Teorico	T aria	E.Coli	Altezza s.l.m.	ora
Pattemouche Chisone	2	1.9	0.171	6.7	11.29995	-2		1600	
Borgata	0	1.9	0.02	6.5	11.54923	-6		1830	
Pattemouche Chisonetto	0	3	0.06	7.9	11.93528	2		1600	
Trampolino/Plan	0	1.9	0.237	7	12.05277	-4		1530	
Soucheres basses	2	4	0.505	9.2	11.51213	-2.5		1460	

**INFORMAZIONI IDROLOGICHE e K cinetiche**

Distanza	descrizione segmento	Km	Km	BOD rate	CO ricoss	BOD(t)	CO ricoss(t)	Velocità (mts)	H(m)lv. acqua	Altezza s. l.m.
A	Pattemouche Chisone	0	0	1	0.75	0.13333	0.78450	0.8		1600
A-B	Tra Pattemouche e confl. Chisonetto	0.2	0.2	1	0.75	0.13333	0.78450	1	0.3	1600
B-C	Tra confl. Chisonetto e Plan	0.3	0.5	1	0.75	0.16099	0.78450	1	0.3	1580
C-D	Tra Plan e sfioratore Fuà	3	3.5	1	0.75	0.16099	0.78450	1	0.3	1525
D-E	Tra sfioratore Fuà e depuratore Fuà	1.1	4.6	1	0.75	0.16189	0.78450	1	0.3	1500
E-F	Tra Dep. Fuà e Soucheres Basses	1.7	5.2	1	0.75	0.25871	0.78450	1	0.3	1460
G-H	Tra Borgata e dep. di Borgata	1	6.2	1	0.75	0.00000	0.78450	1	0.3	1800
H-I	Tra dep. di Borgata e dep. Duc	2.1	8.3	1	0.75	0.19818	0.78450	1	0.3	1766
I-L	Tra dep. Duc e Pattem. Chisonetto	0.5	8.8	1	0.75	0.21066	0.78450	1	0.3	1600
L-B	Tra Pattem. Chisonetto e confl. Chisonetto	0.1	8.9	1	0.75	0.21066	0.78450	1	0.3	1600
F-END	Tra Soucheres Basses e end	0.5	9.4	1	0.75	0.25871	0.78450	1	0.3	1460
Totale			10.5							

**INFORMAZIONI TERRITORIALI-captazioni/derivazioni**

Captazione	Altezza	Località	mts

**INFORMAZIONI TERRITORIALI DEPURATORI: abitanti serviti teorici**

Scarico	Località	Altezza (m)	abitanti
Scarico 1 Borgata	Borgata	1800	300 / 2700
Scarico 2 Duc	Duc	1766	100
Scarico 3 Fuà	Fuà	1506	6000
Sfioratore Fuà	Fuà	1500	2

**INFORMAZIONI TERRITORIALI DEPURATORI: parametri scarichi**

Scarico	Altezza (m)	Località	abitanti	T	BOD	CO	CO	mts	trattamento	BOD stimato	Carico(BOD-1)
Scarico 1 Borgata	1800	Borgata	50	4	8	28	6	0.05787037	0.31	2.48	0.143518519
Scarico 2 Duc	1766	Duc	15	4	8	28	6	0.017361111	0.83	6.84	0.115277778
Scarico 3 Fuà	1506	Fuà	300	5	8	28	10	0.347222222	0.63	5.04	1.75
Sfioratore Fuà	1500	Fuà	2	5	8	28	10	0.001388889	0.83	6.84	0.009222222

**COSTANTI MODELLO**

input tecnico

Consumo H2O pro capite	100	lit
BOD abitante dia	60	g d-1
BOD cono prima trattamento	0.6	mg l <sup>-1</sup>

efficienza depurativa tecnica

% abbattimento senza trattamento	A0	0.83	%
% abbattimento con trattamento primario	A1	0.63	%
% abbattimento con fanghi attivi	A2	0.31	%
% abbattimento con trattamento secondario	A3	0.20	%

**LEGENDA**

- campi liberi
- campi fissi
- campi fissi con formule
- valore stimato

**visualizzazione grafica dei punti di misura**

Figura 14 - esempio di foglio di input carichi

	A	B	C	D	E
1	<b>MODELLO PER LA VALUTAZIONE IMPATTO DI UNO SCARICO</b>				
2	<b>ARPA PIEMONTE COORDINAMENTO VIA-</b>				
3	<b>Qualità' acque</b>		<b>SEZIONE 1</b>		
4	<b>CHISONE MONTE CONFLUENZA</b>		<b>CHISONETTO</b>		
5	Biological Oxygen Demand	1,89		2,96	mg/l
6	Dissolved Oxygen	6,72		6,28	mg/l
7	Portata	0,17		0,10	m <sup>3</sup> /s
8	Temperatura	2,00		3,16	
9	<b>Caratteristiche idrologiche</b>				
10	Velocità' corrente media tratto	1			mts
11	<b>Constanti, Coefficienti e Condizioni Iniziali al punto di miscelazione</b>				
12	BOD Rate Constant			1,00	
13	Rearation Constant			0,75	
14	Saturation DO			11,19	
15	Water Temperature			2,41	
16	BOD initial			2,27	
17	DO initial			6,56	
18	DO Deficit At Mixing Point			4,63	

figura 15 - esempio di sezione di calcolo alla confluenza tra Chisone e Chisonetto

Vi è infine il foglio di calibrazione in cui è possibile tramite grafici comparativi correlare le misure sperimentali dei parametri selezionati con l'output del modello.

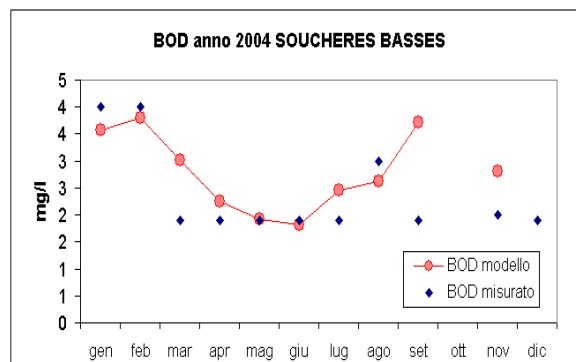
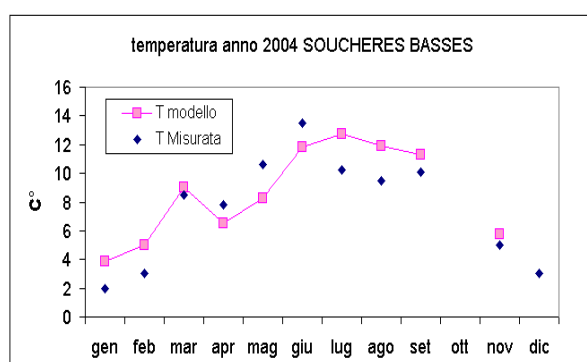


## RISULTATI

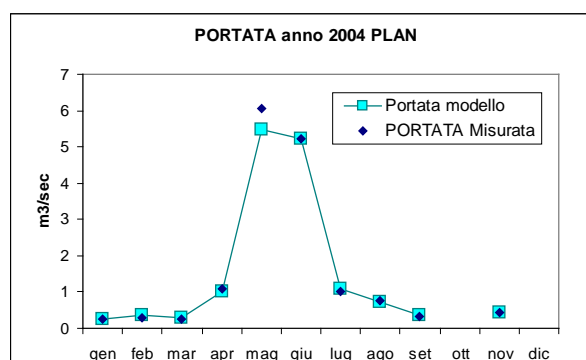
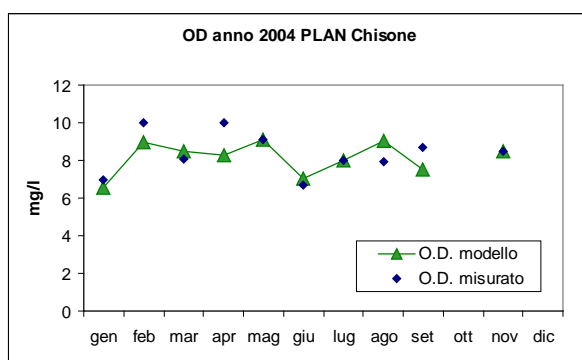
### Calibrazione Modello

Nella calibrazione del modello è stata realizzata per diverse campagne di misura, in generale per i mesi di misurazione considerati rappresentativi delle variazioni stagionali, benché per alcuni punti la calibrazione sia stata effettuata per i dodici mesi dell'anno 2004. Sono stati quindi determinati quei particolari valori dei parametri in corrispondenza del quale il modello meglio interpola le misure rilevate (così facendo questi processi non vengono descritti da equazioni differenziali, ma da uno o più coefficienti, i cosiddetti parametri, che compaiono nelle equazioni del modello). Infatti, le costanti che il modello utilizza con vari step di calcolo non possono, per loro natura, né essere misurati in laboratorio, né essere calcolati in base a sole deduzioni teoriche, né essere tratti dalla letteratura essi possono essere quindi suscettibili di aggiustamenti tali da coincidere con il valore dei parametri misurati.

Di seguito riportiamo alcuni risultati della calibrazione svolte.



Grafici 3 e 4 - Punto di soucheres Basses alla chiusura del bacino. Temperatura e BOD



Grafici 5 e 6 - Punto Plan - Prigelato OD e PORTATA

Come emerge dai grafici proposti esiste una correlazione stretta tra i valori misurati e quelli calcolati dal modello nel punto di misura.

### Scenari Predittivi

Uno dei possibili impieghi del modello matematico fluviale semplificato (MODMASE) descritto nei capitoli precedenti consiste nella simulazione di scenari alternativi rispetto alla situazione reale riscontrata con le misurazioni in campo. Tale simulazione comporta l'introduzione di variazioni nelle condizioni ambientali e/o nelle pressioni antropiche che insistono sul corso d'acqua al fine di poter rispondere al quesito "cosa accadrebbe se..." e

poter effettuare delle previsioni. Scopo del modello fluviale infatti è quello di ottenere uno strumento in grado di fornire una descrizione, seppur semplificata, della qualità fluviale con cui poter valutare possibili scenari alternativi e fornire di conseguenza una base su cui impostare delle politiche di gestione.

Nei seguenti paragrafi vengono descritti ed analizzati i 4 scenari ipotizzati.

## SCENARIO 1

Nello scenario 1 sono state valutate le conseguenze di un aumento della presenza turistica all'interno del bacino del Torrente Chisone, limitatamente ai comuni di Pragelato e Sestriere Borgata. I parametri utilizzati nelle simulazioni stagionali estiva ed invernale sono quelli del modello semplificato calibrato sui mesi di agosto e febbraio 2004. In particolare i valori di Temperatura, BOD e Ossigeno Disciolto non sono stati variati rispetto al modello di calibrazione corrispondente, in quanto si è assunto che in anni diversi nello stesso periodo tali valori rimangano costanti.

### Simulazione ESTIVA

Nelle tabelle 4.a ed 4.b si riportano i valori dei parametri degli scarichi dei depuratori presenti lungo il corso d'acqua rispettivamente misurati ad agosto 2004 e in un ipotetico scenario estivo.

Tab. 4.a – Valori dei parametri degli scarichi dei depuratori ad Agosto 2004

MODMASE – Calibrazione AGOSTO 2004							
	<i>Altezza (m)</i>	<i>Località</i>	<i>abitanti</i>	<i>T°</i>	<i>BOD</i>	<i>COD</i>	<i>OD</i>
Scarico 1 borgata	1800	Borgata	60	13	6	21	8
Scarico 2 Duc	1766	Duc	20	13	6	21	8
Scarico 3 Rua	1506	Rua'	600	13	6	21	8
Sfioratore Ruà	1500	Rua'	2	13	6	21	8

Tab. 4.b – Valori dei parametri degli scarichi dei depuratori nello scenario

MODMASE – Simulazione estiva							
	<i>Altezza (m)</i>	<i>Località</i>	<i>abitanti</i>	<i>T°</i>	<i>BOD</i>	<i>COD</i>	<i>OD</i>
Scarico 1 borgata	1800	Borgata	<b>800</b>	13	6	21	8
Scarico 2 Duc	1766	Duc	<b>100</b>	13	6	21	8
Scarico 3 Rua	1506	Rua'	<b>1000</b>	13	6	21	8
Sfioratore Ruà	1500	Rua'	2	13	6	21	8

L'aumento della presenza turistica nei comuni di Sestriere e di Pragelato comporta un incremento del numero di abitanti collettati ai depuratori presenti sul territorio e dunque una variazione dei parametri degli scarichi che insistono sui due rami del Chisone e del Chisonetto.

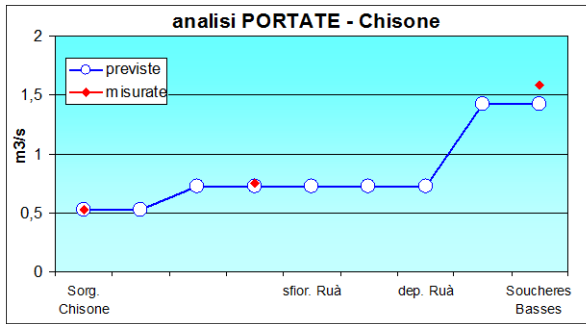


Grafico 5.a – portate Chisone ad agosto 2004

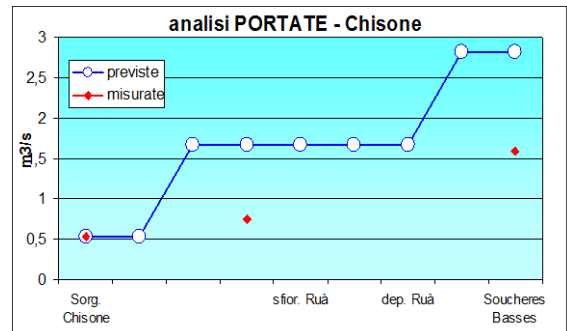


Grafico 5.b – portate Chisone nello scenario

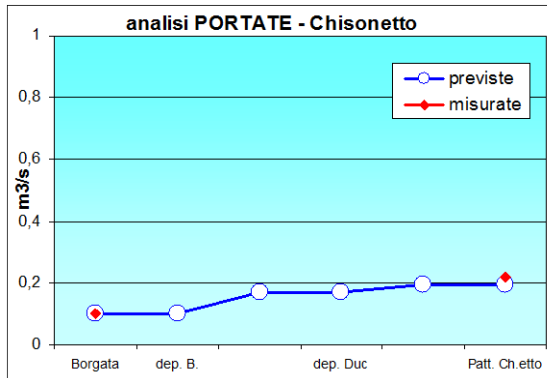


Grafico 5.c – portate Chisonetto ad agosto 2004

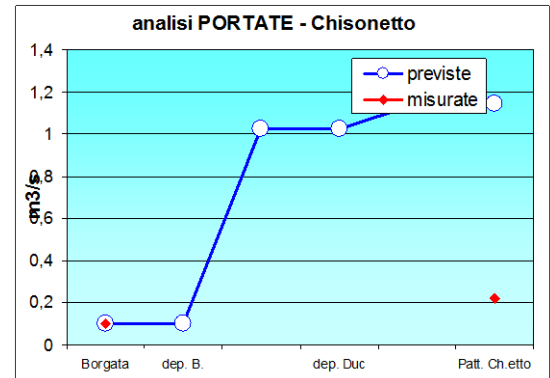


Grafico 5.d – portate Chisonetto nello scenario

Dalla comparazione dei grafici 5.a e 5.b, 5.c e 5.d emerge che le portate del Chisone e del Chisonetto aumentano in seguito al maggiore apporto idrico degli scarichi che insistono sui due torrenti. A causa del più elevato numero di abitanti collettati anche il carico inquinante subisce un incremento rilevante, come si evince dai grafici dell'andamento del BOD, sotto riportati (grafici 6.a, 6.b, 6.c, 6.d).

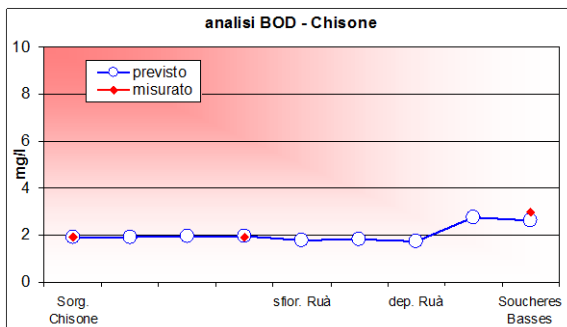


Grafico 6.a – BOD Chisone ad agosto 2004

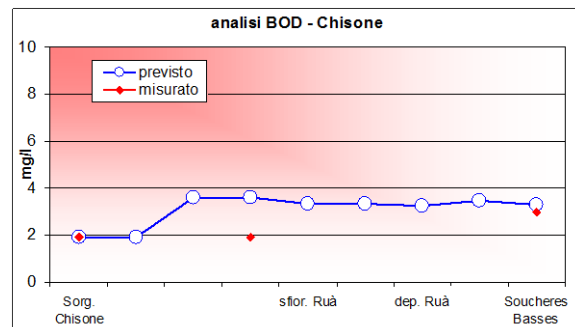


Grafico 6.b – BOD Chisone nello scenario

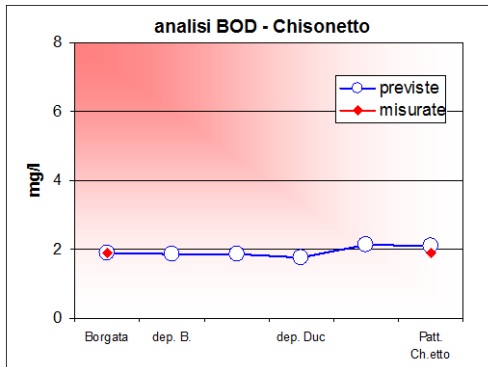


Grafico 6.c – BOD Chisonetto ad agosto

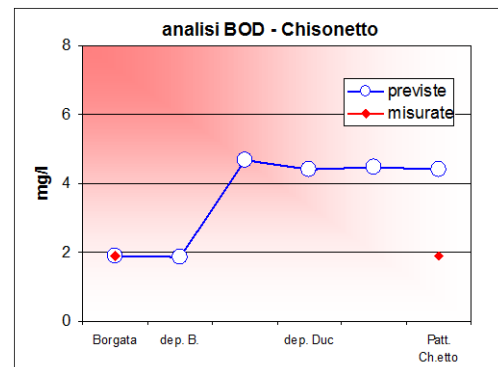


Grafico 6.d – BOD Chisonetto nello scenario

### Simulazione INVERNALE

Nelle tabelle 5.a ed 5.b si riportano i valori dei parametri degli scarichi dei depuratori presenti lungo il corso d'acqua rispettivamente misurati nel mese di febbraio 2004 e in un ipotetico scenario invernale.

Tabella 5.a – Valori dei parametri degli scarichi dei depuratori a febbraio 2004

MODMASE – Calibrazione FEBBRAIO 2004							
	Altezza (m)	Località	abitanti	T°	BOD	COD	OD
Scarico 1 borgata	1800	Borgata	60	5	13	45.5	8
Scarico 2 Duc	1766	Duc	20	5	13	45.5	8
Scarico 3 Rua	1506	Rua'	600	6	8	28	8
Sfioratore Ruà	1500	Rua'	2	6	8	28	8

Tabella 5.b – Valori dei parametri degli scarichi dei depuratori nello scenario

MODMASE – Simulazione invernale							
	Altezza (m)	Località	abitanti	T°	BOD	COD	OD
Scarico 1 borgata	1800	Borgata	<b>800</b>	5	13	45.5	8
Scarico 2 Duc	1766	Duc	<b>100</b>	5	13	45.5	8
Scarico 3 Rua	1506	Rua'	<b>1000</b>	6	8	28	8
Sfioratore Ruà	1500	Rua'	2	6	8	28	8

Analogamente alla simulazione estiva, nel periodo invernale si assiste ad un aumento delle portate (grafici 7.a, 7.b, 7.c, 7.d) e del BOD (grafici 8.a, 8.b, 8.c, 8.d).

L'incremento di questi due parametri risulta però molto maggiore rispetto alla simulazione estiva in quanto sono diverse le condizioni di partenza. Infatti nel mese di febbraio le portate di magra di Chisone e Chisonetto sono inferiori a quelle estive e pertanto l'apporto degli scarichi dei depuratori incide maggiormente sulla qualità dei corsi d'acqua.

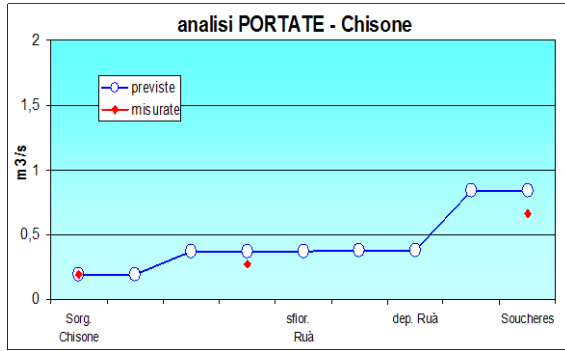


Grafico 7.a – portate Chisone a febbraio 2004

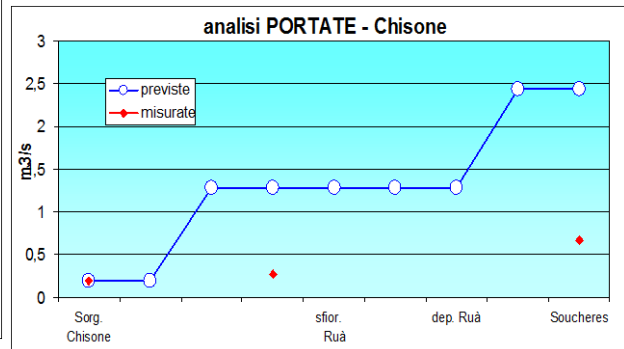


Grafico 7.b – portate Chisone nello scenario

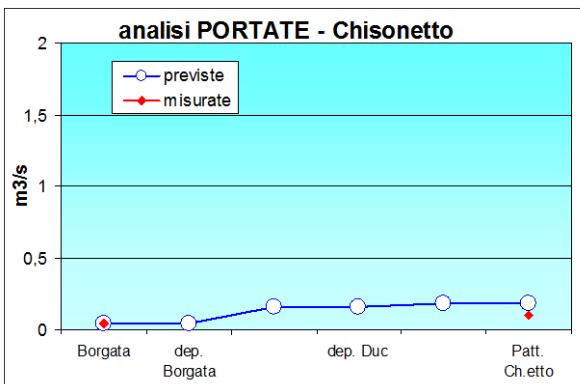


Grafico 3.c – portate Chisonetto a febbraio 2004

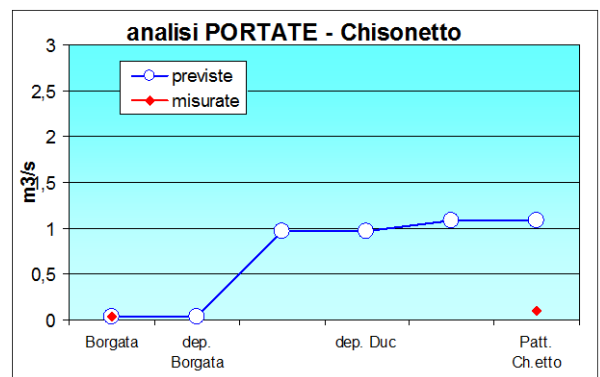


Grafico 3.d – portate Chisonetto nello scenario

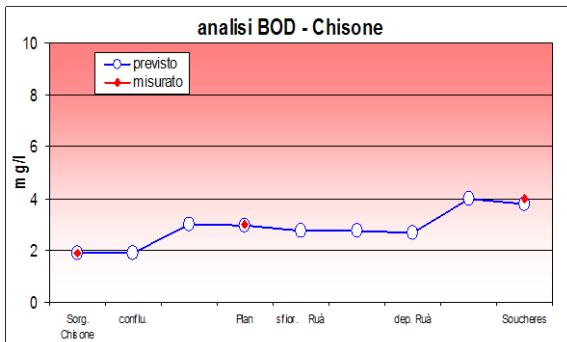


Grafico 8.a – BOD Chisone a febbraio 2004

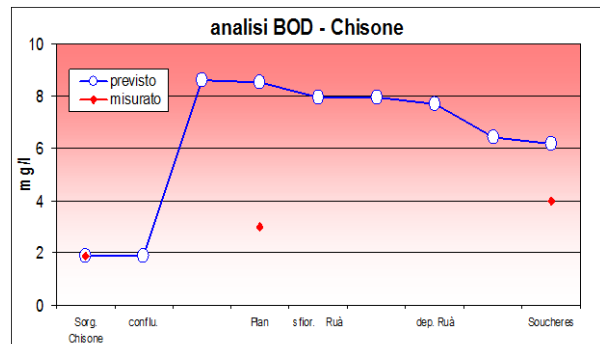


Grafico 8.b – BOD Chisone nello scenario

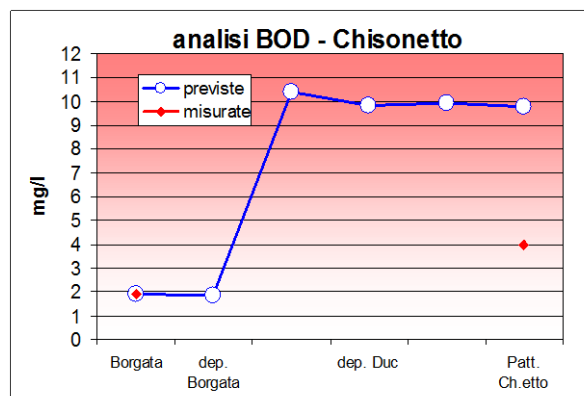
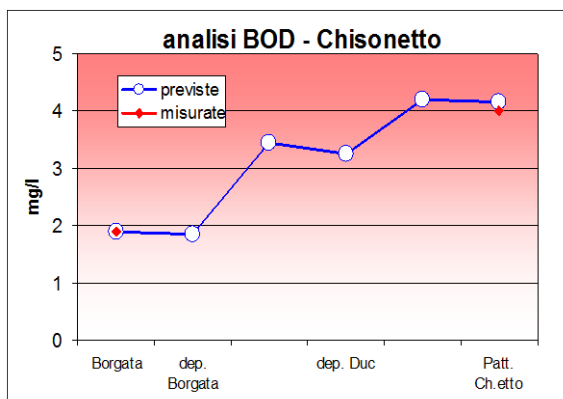


Grafico 8.c – BOD Chisonetto a febbraio 2004

Grafico 8.d – BOD Chisonetto nello scenario

## SCENARIO 2

Nel secondo scenario viene considerato un aumento della presenza turistica e contestualmente un miglioramento della capacità autodepurativa dei depuratori presenti lungo i due rami del torrente Chisone e del torrente Chisonetto. La simulazione è stata ripetuta anche in questo caso per il periodo estivo e per quello invernale prendendo come riferimento i dati dell'anno 2004. In particolare i valori di Temperatura, BOD e Ossigeno Disciolto non sono stati variati rispetto al modello di calibrazione corrispondente, in quanto si è assunto che in anni diversi nello stesso periodo tali valori rimangano costanti.

### Simulazione ESTIVA

Nelle tabb. 6 si riporta l'efficienza depurativa degli impianti presenti (espressa con un coefficiente rappresentante la percentuale di abbattimento del carico inquinante) rispettivamente nella situazione riscontrata nel mese di agosto 2004 e ipotizzata nello scenario migliorativo. L'aumento del carico di abitanti collettati è stato ipotizzato pari a quello considerato nello scenario 1 (tabb. 4.a e 4.b); tutti i parametri relativi allo scarico rimangono pertanto gli stessi dello scenario precedente.

Tab. 6 – Efficienza depurativa degli impianti presenti lungo il corso d'acqua

<i>Scarichi presenti lungo il tratto di corso d'acqua</i>	<i>Trattamento agosto 2004</i>	<i>Trattamento scenario estivo</i>
Scarico 1 borgata	0,31	0,20
Scarico 2 Duc	0,83	0,63
Scarico 3 Rua	0,63	0,20
Sfioratore Ruà	0,83	0,20

Dove si assume:

Tab. 6.a – percentuale di abbattimento reflui per ciascuna tipologia di trattamento

<i>Efficienza depurativa teorica</i>	
% abbattimento senza trattamento	0,83
% abbattimento con trattamento primario	0,63
% abbattimento con fanghi attivi	0,31
% abbattimento con trattamento secondario	0,20

Da un confronto tra la situazione verificata ad agosto 2004 e quella simulata nello scenario estivo emerge che, analogamente allo scenario 1, aumentano le portate per il contributo degli scarichi presenti (grafici 9.a, 9.b, 9.c e 9.d) ma il miglioramento della capacità depurativa degli impianti determina una sensibile diminuzione del BOD in uscita dagli scarichi e di conseguenza nel corso d'acqua (grafici 10.a, 10.b, 10.c e 10.d).

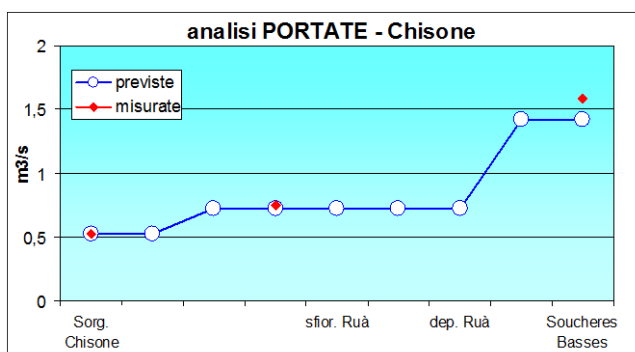


Grafico 9.a – portate Chisone ad agosto 2004

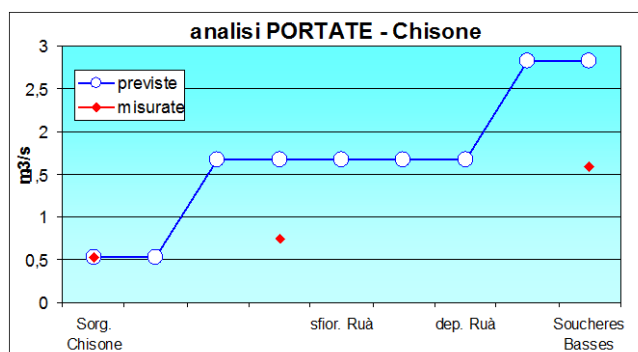


Grafico 9.b – portate Chisone nello scenario

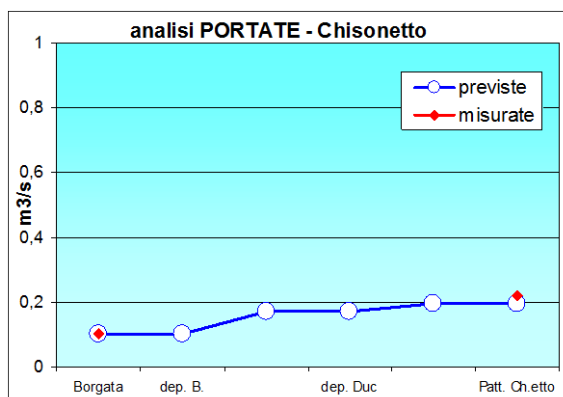


Grafico 9.c – portate Chisonetto ad agosto 2004

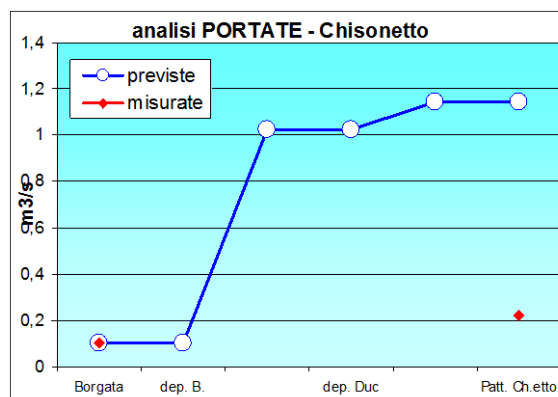


Grafico 9.d – portate Chisonetto nello scenario

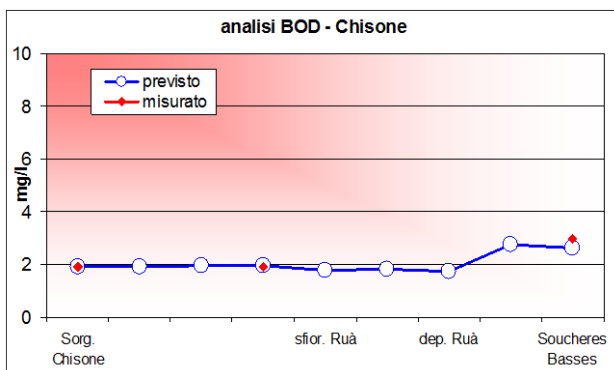


Grafico 10.a – BOD Chisone ad agosto 2004

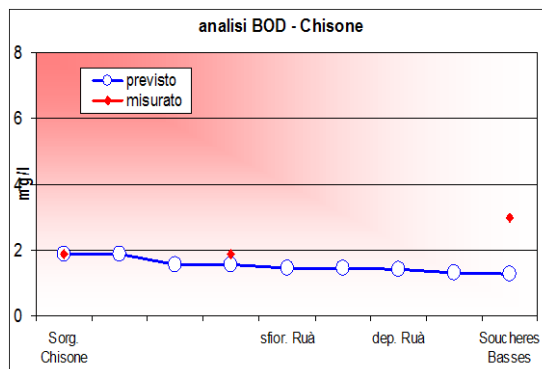


Grafico 10.b – BOD Chisone nello scenario

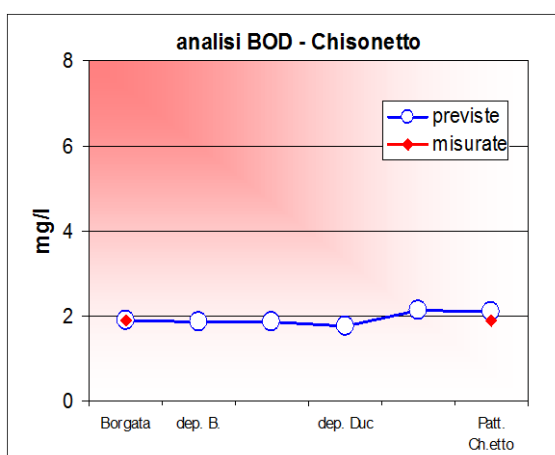


Grafico 10.c – BOD Chisonetto ad agosto 2004

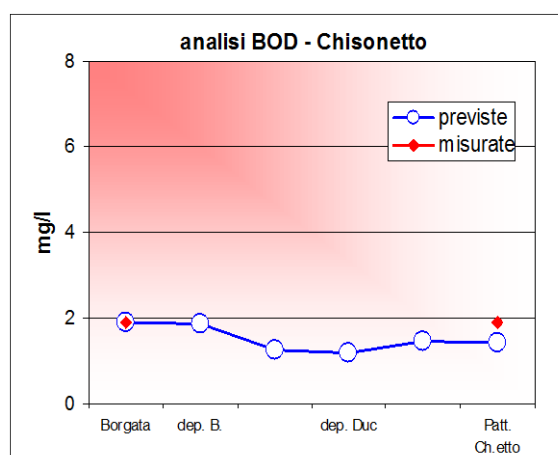


Grafico 10.d – BOD Chisonetto nello scenario

## Simulazione INVERNALE

Lo scenario invernale prende in esame le stesse variazioni considerate nello scenario estivo (tab. 3) ma i dati relativi alle portate nel corso d'acqua fanno riferimento a quelle misurate nel corso del mese di febbraio 2004.

Come prevedibile, analogamente allo scenario estivo, aumentano le portate per il contributo degli scarichi sul corso d'acqua ma diminuisce sensibilmente il carico di BOD grazie al miglioramento dell'efficienza depurativa degli impianti presenti. Come si è osservato nell'ambito dello scenario 1 invernale le portate presenti in alveo nel mese di febbraio sono prevalentemente acque di scarico.



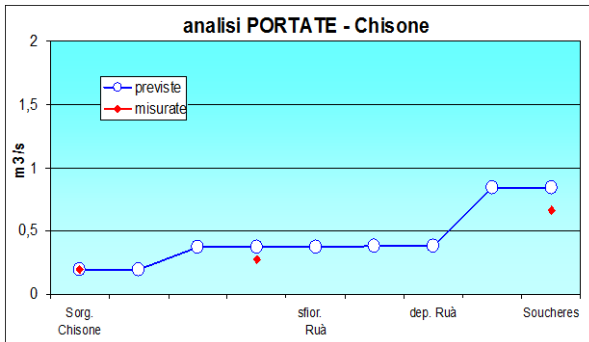


Grafico 11.a – portate Chisone a febbraio 2004

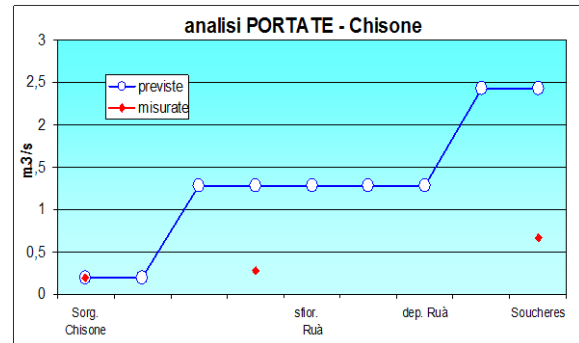


Grafico 11.b – portate Chisone nello scenario

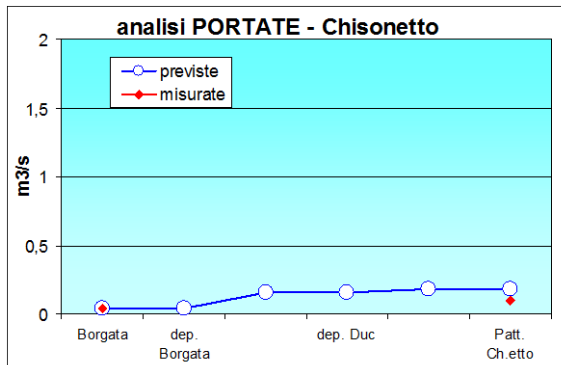


Grafico 11.c – portate Chisonetto a febbraio 2004

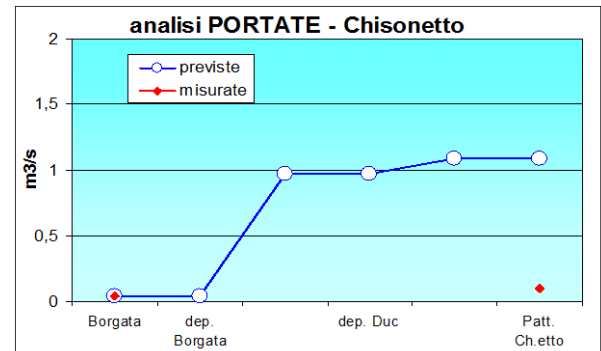


Grafico 11.d – portate Chisonetto nello scenario

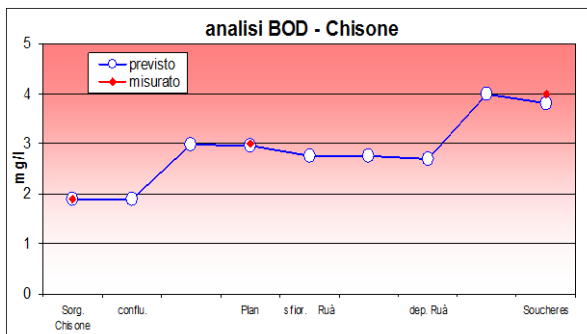


Grafico 12.a – BOD Chisone a febbraio 2004

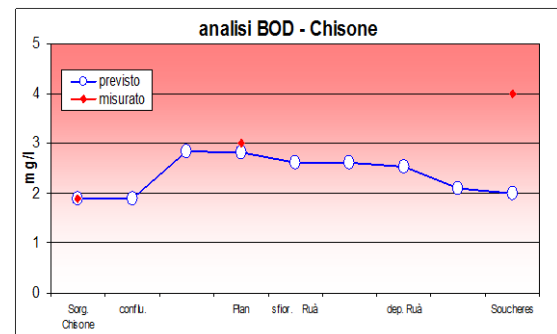


Grafico 12.b – BOD Chisone nello scenario

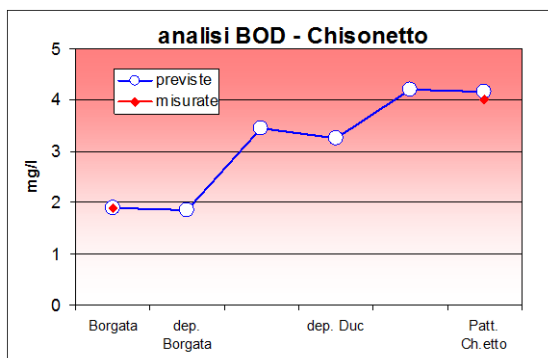


Grafico 12.c – BOD Chisonetto a febbraio 2004

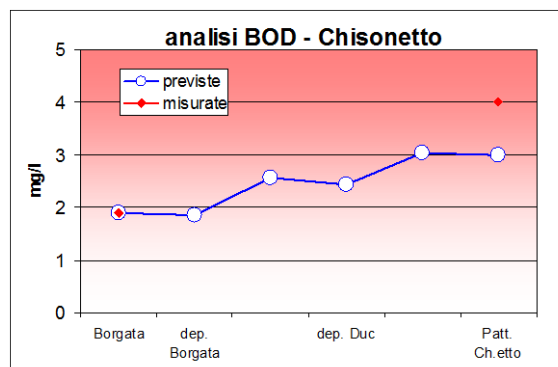


Grafico 12.d – BOD Chisonetto nello scenario

### SCENARIO 3

Il terzo scenario prende in considerazione una diminuzione delle portate sul corso d'acqua. Anche in questo caso sono stati scelti due mesi rappresentativi: il mese di agosto 2004, in cui la diminuzione delle portate è causata dalla siccità estiva, ed il mese di ottobre 2004 in cui si ipotizza si possa verificare il caricamento del bacino per l'innevamento programmato presente in località Pattendouche (comune di Pragelato). Il mese di ottobre è inoltre stato preferito al mese di febbraio, che era stato utilizzato nelle simulazioni precedenti, in quanto nel periodo autunnale la presenza turistica è decisamente inferiore a quella del periodo invernale e pertanto non va ad incidere sulle portate degli scarichi presenti lungo il corso d'acqua come invece accadrebbe nel mese di febbraio.

I dati utilizzati per le simulazioni estiva ed autunnale fanno riferimento a quelli dell'anno 2004.

#### Simulazione ESTIVA

Per lo scenario estivo è stata ipotizzata una diminuzione delle portate naturali pari al 40% sui due tratti a monte degli scarichi (Pattendouche sul Chisone e Borgata sul Chisonetto). La variazione sul ramo del Chisone consiste nel passaggio da una portata misurata ad agosto 2004 pari a  $0,527 \text{ m}^3/\text{s}$  ad una ipotizzata pari a  $0,32 \text{ m}^3/\text{s}$  mentre sul Chisonetto da  $0,1 \text{ m}^3/\text{s}$  a  $0,06 \text{ m}^3/\text{s}$ .

Per quanto riguarda gli scarichi presenti lungo il corso d'acqua si specifica che i relativi parametri sono rimasti invariati rispetto alla situazione del mese di agosto 2004, ossia :

Tab. 7 – Parametri degli scarichi di agosto 2004 ed utilizzati per lo scenario 3 estivo

MODMASE – Calibrazione AGOSTO 2004							
	Altezza (m)	Località	abitanti	T°	BOD	COD	OD
Scarico 1 borgata	1800	Borgata	60	13	6	21	8
Scarico 2 Duc	1766	Duc	20	13	6	21	8
Scarico 3 Rua	1506	Rua'	600	13	6	21	8
Sfioratore Ruà	1500	Rua'	2	13	6	21	8

Come prevedibile le portate diminuiscono sensibilmente sia sul ramo del Chisone sia su quello del Chisonetto ed in entrambi l'aumento di portata è determinato dall'apporto degli scarichi presenti a valle (Grafici 13.a, 13.b, 13.c, 13.d)

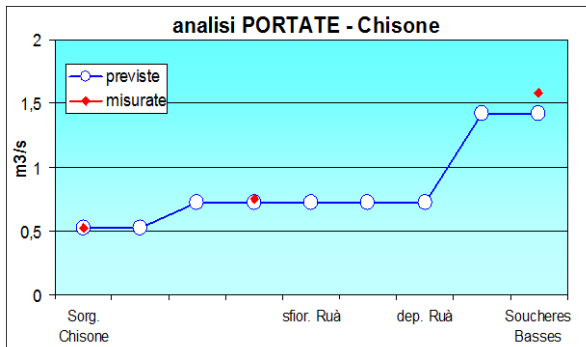


Grafico 13.a – portate Chisone ad

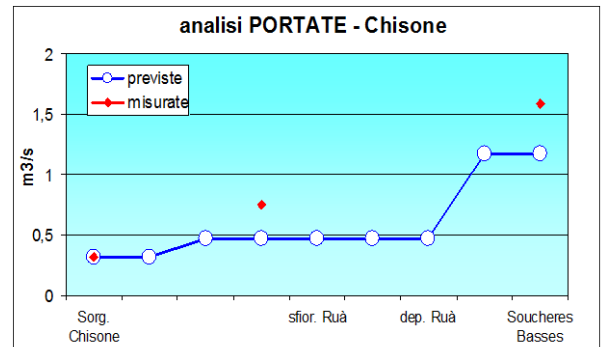


Grafico 13.b – portate Chisone nello

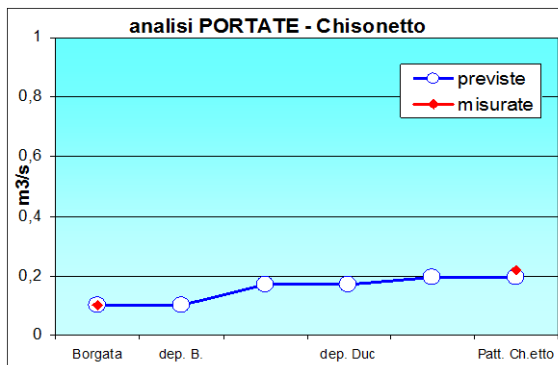


Grafico 13.c – portate Chisonetto ad

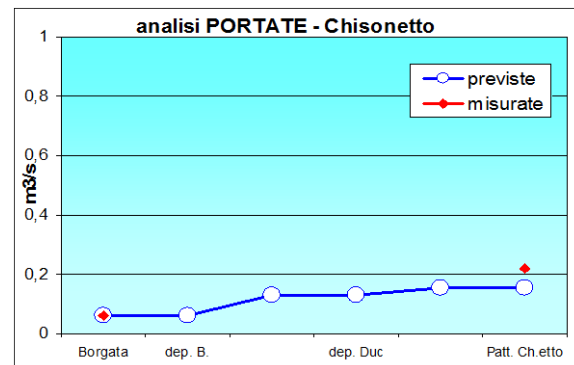


Grafico 13.d – portate Chisonetto nello

Per quanto riguarda l'andamento del BOD si osserva un aumento appena percettibile su entrambe le curve del Chisone e del Chisonetto (grafici 14.a, 14.b, 14.c, 14.d). La concentrazione di BOD infatti non subisce evidenti variazioni in corrispondenza dei punti di monitoraggio considerati in ragione della presenza di acque molto ossigenate provenienti da monte degli scarichi e di valori così bassi in uscita dagli scarichi stessi.

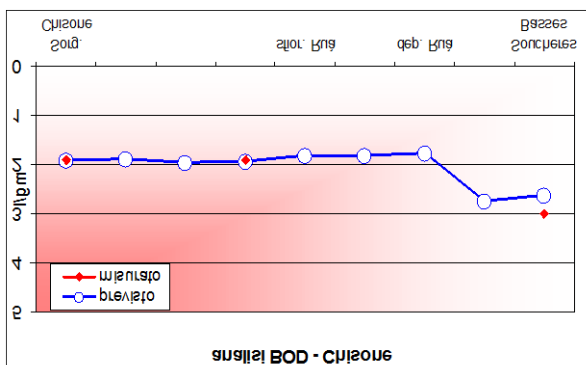


Grafico 14.a – BOD Chisone ad agosto 2004

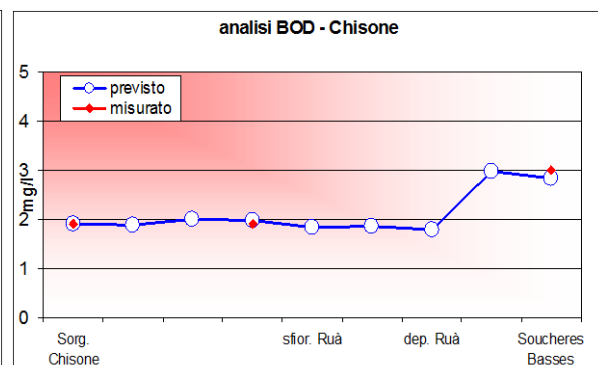


Grafico 14.b – BOD Chisone nello scenario

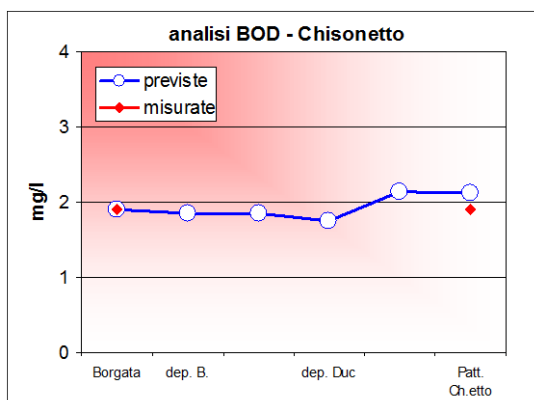


Grafico 14.c – BOD Chisonetto ad

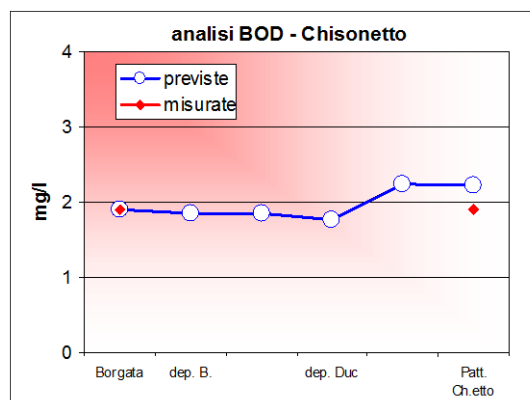


Grafico 14.d – BOD Chisonetto nello

### Simulazione AUTUNNALE

Lo scenario autunnale prende in esame una diminuzione delle portate del corso d'acqua solo sul ramo del torrente Chisone in località Pattermouche ( in comune di Prangelato) in quanto intende simulare gli effetti determinati dal prelievo di acqua per il riempimento del bacino di innervamento programmato realizzato per l'evento olimpico Torino 2006. La base dati su cui è stato costruito tale scenario fa riferimento al mese di ottobre 2003, un periodo particolare in termini meteorologici in quanto si era verificata una nevicata a seguito della quale le portate misurate sul tratto di corso d'acqua in esame erano risultate inferiori rispetto alle medie stagionali, come risulta da un confronto con l'anno precedente mostrato in tab. 8:

Tab. 8 – Confronto tra le portate misurate nel mese di ottobre degli anni 2002 e 2003

Stazioni di misura	Portata ad ottobre 2002 (m <sup>3</sup> /s)	Portata ad ottobre 2003 (m <sup>3</sup> /s)
Pattermouche Chisone	0,607	0,246
Borgata	0,078	0,039
Pattermouche Chisonetto	0,177	0,061
Trampolino/Plan	0,953	0,32
Soucheres basses	1,54	0,613

La diminuzione di portata ipotizzata sul ramo del Chisone è pari al 30%, pertanto a monte degli scarichi scorrono circa 0,18 m<sup>3</sup>/s, di conseguenza si verifica una diminuzione delle portate lungo tutto il tratto considerato (grafici 15.a, 15.b)<sup>11</sup> e, analogamente alla situazione estiva, si verifica un lieve aumento della concentrazione del BOD (grafici 16.a e 16.b) che, per quanto lieve, risulta più marcato di quello estivo a causa delle condizioni di partenza più critiche.

<sup>11</sup> Nello scenario invernale non verrà preso in considerazione il ramo del Chisonetto in quanto non sono state ipotizzate variazioni di portata

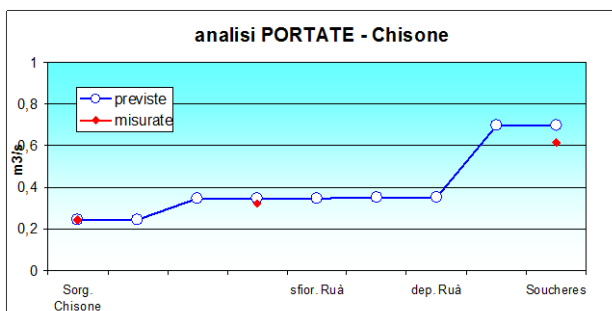


Grafico 15.a – portate Chisone ad ottobre 2003

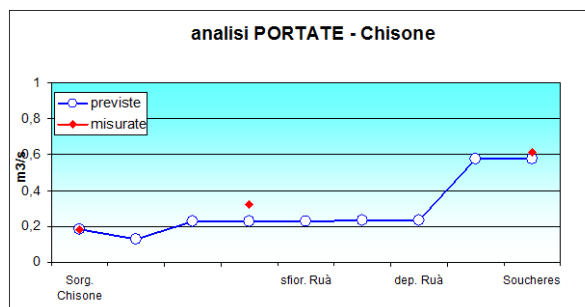


Grafico 15.b – portate Chisone nello scenario

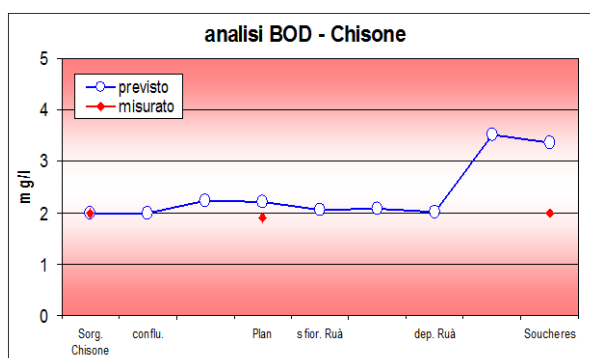


Grafico 16.a – BOD Chisone ad ottobre 2003

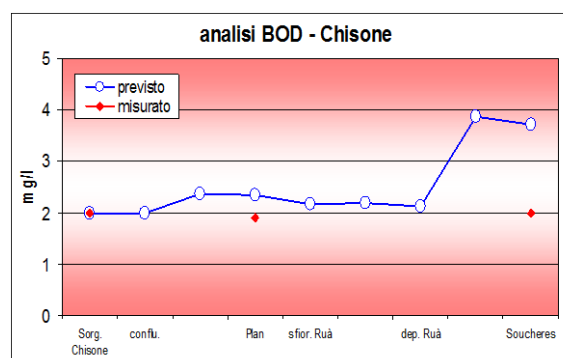


Grafico 16.b – BOD Chisone nello scenario

#### SCENARIO 4

Con il quarto scenario si intende simulare un periodo invernale, con portate di magra inferiori a quelle presenti nel periodo estivo, in cui oltre ad aumentare la presenza turistica rispetto alla situazione reale di riferimento (febbraio 2004) si ipotizza l'assenza di un sistema di depurazione lungo il tratto di corso d'acqua considerato e si assume pertanto una percentuale di abbattimento dei reflui pari a 0,83<sup>12</sup>, un valore di poco inferiore all'unità per effetto di una lieve autodepurazione del corso d'acqua.

Nelle seguenti tabelle viene confrontato il carico antropico insistente sul corso d'acqua nel mese di febbraio 2004 e nello scenario ipotizzato:

Tab. 9.a – Parametri degli scarichi di febbraio 2004

MODMASE – Calibrazione FEBBRAIO 2004							
	Località	abitanti	T°	BOD	COD	OD	trattamento
Scarico 1 borgata	Borgata	100	13	6	21	8	0,31
Scarico 2 Duc	Duc	20	13	6	21	8	0,83
Scarico 3 Rua	Rua'	400	13	6	21	8	0,63
Sfioratore Ruà	Rua'	2	13	6	21	8	0,83

Tab. 9.b – Parametri degli scarichi nello scenario 4

<sup>12</sup> Confrontare le percentuali di abbattimento degli impianti di depurazione assunte nel presente studio elencate in tab. 6.a della simulazione estiva dello scenario 2

MODMASE – Calibrazione SCENARIO							
	<i>Località</i>	<i>abitanti</i>	<i>T°</i>	<i>BOD</i>	<i>COD</i>	<i>OD</i>	<i>trattamento</i>
Scarico 1 borgata	Borgata	3000	13	6	21	8	0,83
Scarico 2 Duc	Duc	500	13	6	21	8	0,83
Scarico 3 Rua	Rua'	5000	13	6	21	8	0,83
Sfioratore Ruà	Rua'	2	13	6	21	8	0,83

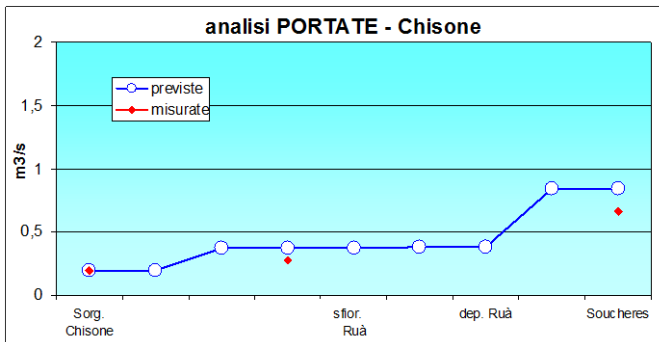


Grafico 17.a – portate Chisone a febbraio 2003

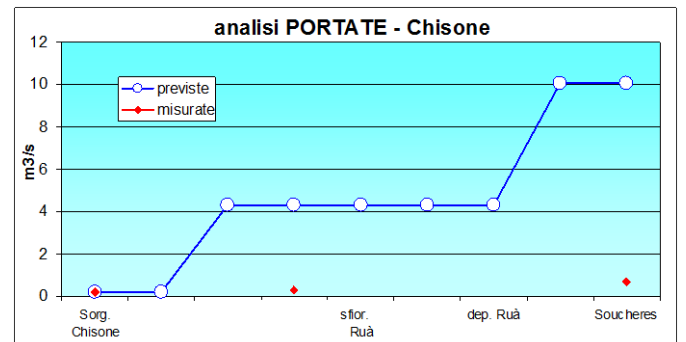


Grafico 17.b – portate Chisone nello scenario

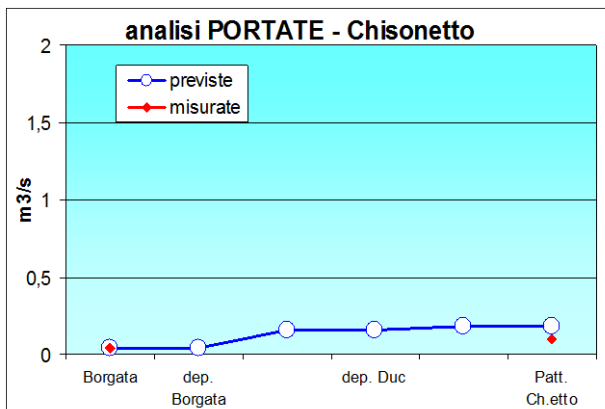


Grafico 17.c – portate Chisonetto a febbraio 2003

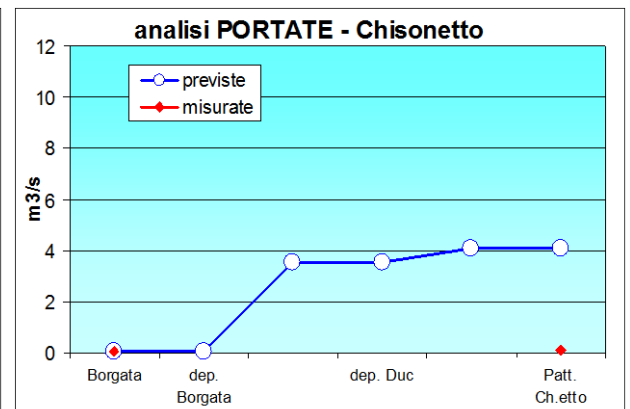


Grafico 17.d – portate Chisonetto nello scenario

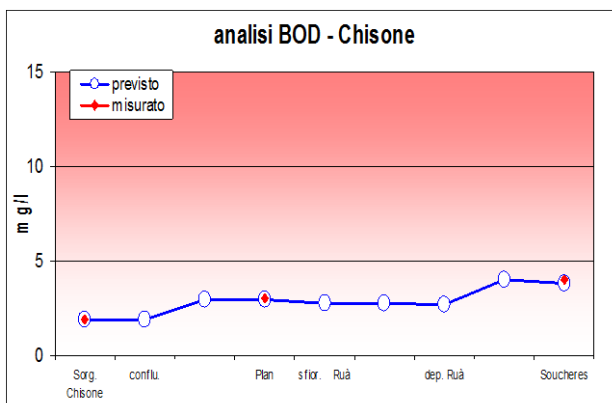


Grafico 18.a – BOD Chisone a febbraio 2003

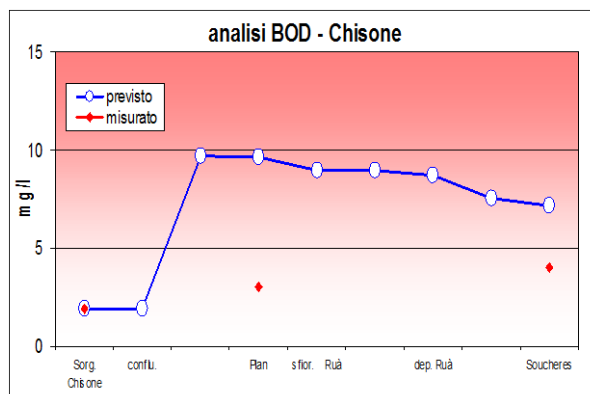


Grafico 18.b – BOD Chisone nello scenario

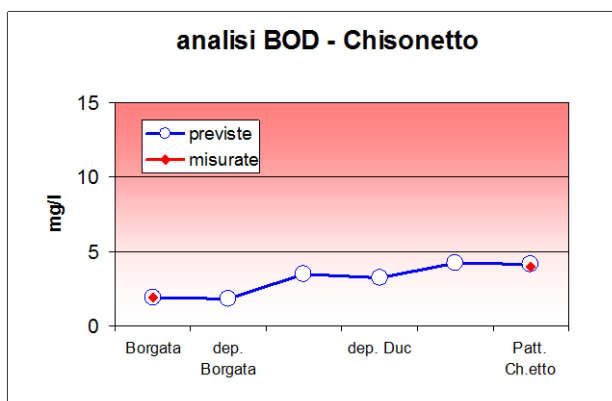


Grafico 18.c – BOD Chisonetto a febbraio 2003

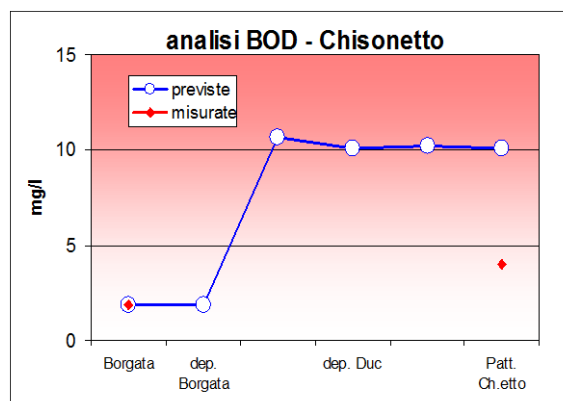


Grafico 18.d – BOD Chisonetto nello scenario

Come mostrano i risultati presentati nei grafici precedenti (17.a, 17.b, 17.c, 17.d e 18.a, 18.b, 18.c, 18.d) la situazione simulata nello scenario 4 è molto critica in quanto il notevole aumento delle portate è unicamente determinato dal contributo degli scarichi che, senza il trattamento, contribuiscono ad aumentare il carico di inquinanti in alveo (vedasi curva del BOD).

## **BIBLIOGRAFIA**

Bowie, G.L., Mills, W.B., Porcella, D.B., Campbell, C.L. Pagenkopf, J.R., Rupp, G.L., Johnson, K.M., Chan, P.W.H., Gherin, S.A., 1985. Rates, Constants, and Kinetics Formulations in Surface Water Quality Modeling (second edition), EPA/600/3- 85/040, EPA Environmental Research Laboratory, Athens, GA.

QUAL2E and QUAL2E-UNCAS: Documentation and User Manual, EPA 300/3- 87/007, EPA Environmental Research Laboratory, Athens, GA.

Chapra, S., 1997. Surface Water Quality Modelling, McGraw-Hill.

De Santo, R.S., 1978. Concepts of Applied Ecology, Springer Verlag.

Kraszewski, A., e Soncini-Sessa, R., 1986. WODA: Modelling Support System for BOD-DO Assessment in Rivers, Environmental Software 1, 90 -97.

Cardini, A., Soncini-Sessa, R., Bacci, M., 1990. Inquinamento fluviale: Realizzazione ed Uso di Modelli Matematici, uno studio di caso sull'Arno. Marsilio Editore

Odum, E.P., 1966. Ecologia, Zanichelli.

Odum, E.P., 1988. Basi di Ecologia, Piccin.

Rinaldi, S., Soncini-Sessa, S., Stehfest, H., Tamura, H., 1979. Modelling and Control of River Quality, McGraw Hill.

Tchobanoglous, G., e Schroeder, E.D., 1985. Water Quality, Addison Wesley.







## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque” con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs.152/99**

### **Sottoprogetto**

**“Criteri per la caratterizzazione e la classificazione dello studio di alcune tipologie di corpi idrici artificiali”**

**Responsabile scientifico: Dott. Antonio Dalmiglio**

**Autori: Antonio Dalmiglio**

## ABSTRACT

Esiste un gran numero di corpi idrici che sono stati sostanzialmente modificati e/o creati per supportare le esigenze legate allo sviluppo delle diverse attività umane. In taluni casi non è sicuramente un obiettivo ambientale appropriato pensare di mirare al raggiungimento, in tempi prestabiliti, del GES (“*Good Ecological Status*”<sup>(13)</sup>) per questi corpi idrici, anche se è fortemente auspicabile l’implementazione di tutta una serie di interventi di pianificazione e di gestione volti al miglioramento della loro qualità ecologica.

Il D.Lgs.152/99 e s.m.i definisce la disciplina generale per la tutela delle acque, perseguendo gli obiettivi di prevenire e ridurre l’inquinamento, risanare e migliorare lo stato delle acque, proteggere le acque destinate ad usi particolari, garantire gli usi sostenibili delle risorse e mantenere la capacità naturale di autodepurazione dei corpi idrici, necessaria a sostenere comunità animali e vegetali ampie e ben diversificate.

Partendo da quanto in esso previsto, si inseriscono gli obiettivi e le attività che costituiscono il quarto dei dieci sottoprogetti in cui si articola il progetto “*Criteri per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque, con particolare riferimento alla applicazione del decreto legislativo 152/99*” presentato al Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio dall’Agenzia per la protezione dell’ambiente e per i servizi tecnici (APAT) e affidato per il suo svolgimento ad ARPA Lombardia.

La ricerca ha per oggetto la redazione di “*Criteri per la caratterizzazione e la classificazione dello stato di alcune tipologie di corpi idrici artificiali*”.

Tale ricerca, come precisato negli obiettivi del progetto, dovrà necessariamente tenere conto delle indicazioni derivanti dalla nuova Direttiva quadro sulle acque, la Direttiva 2000/60/CE o WFD (*Water Framework Directive*).

La WFD, che istituisce il quadro di riferimento per la politica comunitaria in materia di acqua, prevede infatti una serie di misure che gli Stati Membri dovranno adottare per migliorare la protezione qualitativa e quantitativa delle acque, promuovendo un'utilizzazione sostenibile della risorsa.

In particolare per ciò che concerne i corpi idrici artificiali permette agli Stati Membri di identificare anche rilevanti corpi idrici come “*HMWB- heavily modified water body*” o come “*AWT-artificial water body*”<sup>(14)</sup> e di mirare per essi al GEP “*Good Ecological Potential*”<sup>(15)</sup> piuttosto che al buono stato delle acque superficiali (GES). Il GEP è un obiettivo meno restrittivo del GES in quanto consente di mantenere l’impatto ecologico derivante dalle alterazioni fisiche necessarie per supportare l’uso specifico e/o che sono da salvaguardare per evitare possibili effetti avversi sull’ambiente circostante.

---

<sup>(13)</sup> Allegato V 1.2. della Direttiva 2000/60/CE

<sup>(14)</sup> Articolo 2(8) e 2(9) della Direttiva 2000/60/CE

<sup>(15)</sup> Allegato V 1.2.5 della Direttiva 2000/60/CE

## INTRODUZIONE

Il d.lgs.152/99 e s.m.i definisce la disciplina generale per la tutela delle acque, perseguendo gli obiettivi di prevenire e ridurre l'inquinamento, risanare e migliorare lo stato delle acque, proteggere le acque destinate ad usi particolari, garantire gli usi sostenibili delle risorse e mantenere la capacità naturale di autodepurazione dei corpi idrici, necessaria a sostenere comunità animali e vegetali ampie e ben diversificate. Ai sensi del d.lgs.152/99 e s.m.i. sono considerati corpi idrici artificiali i laghi o i serbatoi, se realizzati mediante manufatti di sbarramento, e i canali artificiali – canali irrigui o scolanti, industriali, navigabili, ecc. – ad esclusione dei canali appositamente costruiti per allontanare le acque reflue urbane e industriali.

Le metodologie utilizzate per caratterizzare la qualità delle acque per queste tipologie di corpi idrici si possono in generale ricondurre a quelle sviluppate per tipologia simile: se per gli invasi si fa ricorso ai metodi elaborati per i laghi, per i canali si usano le metodologie implementate per i fiumi. Dunque non esiste un vero e proprio corredo metodologico per questi corpi idrici e ciò si ripercuote sul processo di caratterizzazione della qualità di queste acque: se, infatti, così facendo si è potuto ricostruire un quadro approssimativo del loro stato, va sottolineato come da un lato è fondamentale una verifica sperimentale della definizione della miglior metodologia adottabile e dall'altro la verifica quantitativa alla base della stima del numero dei corpi idrici significativi ai sensi della legge.

Alla ricerca, oggetto del presente lavoro, si è voluto dare un significato di più ampio respiro, cercando di ricostruire una base di conoscenza che contribuirà a facilitare l'applicazione della Direttiva 2000/60/CE (WFD). Le indicazioni infatti che derivano dalla nuova Direttiva sulle acque, in particolare per ciò che concerne i corpi idrici artificiali, permette agli Stati Membri di identificare anche rilevanti corpi idrici come “*HMWB- heavily modified water body*” o come “*AWB-artificial water body*” e di mirare per essi al **GEP** “*Good Ecological Potential*” piuttosto che al buono stato delle acque superficiali (**GES**).

L'art. 2(9) della WFD definisce “corpo idrico fortemente modificato (HMWB)”, un corpo idrico superficiale, la cui natura è sostanzialmente modificata a seguito di alterazioni fisiche dovute all'attività umana, come risulta dalla designazione che ne fa lo Stato Membro in base a quanto disposto nell'All. II.

L'art. 2(8) della WFD definisce “corpo idrico artificiale (AWB)”, un corpo idrico superficiale creato da un'attività umana. Ciò che differenzia sostanzialmente un AWB da un HMWB è il termine “creato”, utilizzato nella definizione dell'art. 2(8) e che può essere interpretato in due modi:

1. in riferimento alla creazione di un corpo idrico ex-novo, dove prima c'era soltanto terreno asciutto (ad esempio, la costruzione di un canale);
2. in riferimento al cambiamento della natura (ad es. un fiume diventa un lago a seguito di interruzione del flusso mediante sbarramento).

Un AWB, non è quindi l'evoluzione per alterazione fisica, spostamento o riallineamento di un preesistente corpo idrico naturale, ma un corpo idrico che può essere stato creato laddove preesistevano corpi idrici minori come stagni e fossati.

Quando un corpo idrico è stato modificato nel tracciato e/o ricollocato dove prima c'era soltanto terreno asciutto, si è in presenza di un possibile *HMWB* e non di un *AWB*.

Nell'ambito del processo di designazione di un corpo idrico, uno *step* fondamentale è valutare la naturalità del corpo stesso: se un corpo idrico è stato creato artificialmente, laddove non erano presenti WB significativi in origine, lo Stato Membro dovrà valutare se può raggiungere il GES. In questo caso il corpo idrico può essere considerato naturale, in caso contrario, in un secondo momento, dovrà essere valutata anche la possibilità che i vantaggi ottenuti modificando un WB o creandone uno, si possono ottenere con altri mezzi, che rappresentano

un'opzione ambientalmente migliore, tecnicamente realizzabile e non sproporzionatamente costosa. In altre parole, si mira ad individuare le alternative sostenibili in termini di applicabilità tecnico/economica e di impatto ambientale dell'uso specifico. Esempi tipici di corpi idrici artificiali sono i canali costruiti per la navigazione, il drenaggio, i laghetti artificiali, i porti e le darsene, gli specchi d'acqua costruiti dragando, le cave di ghiaia e i laghi di cava, i bacini di riserva - qualora si ricorra all'acqua stoccata nel bacino soltanto in caso di picchi di produzione di energia idroelettrica, i corpi idrici creati da attività antropiche pregresse.

La designazione di *HMWB* e *AWB* ha come obiettivo generale la tutela di un contesto ambientale più ampio, che tenga conto non soltanto dello stato ecologico delle acque, ma anche di ciò che lo stato modificato del corpo idrico, o il *AWB*, ha creato nel tempo intorno a sé: certa biodiversità, una diversa fisionomia del paesaggio, tradizioni storiche e culturali dell'area, ecc.

All'art.4, comma 3, della Direttiva 2000/60/CE si afferma che *“Gli Stati membri possono definire un corpo idrico artificiale o fortemente modificato quando:*

- a. le modifiche delle caratteristiche idromorfologiche di tale corpo, necessarie al raggiungimento di un buono stato ecologico, abbiano conseguenze negative rilevanti:*
  - i) sull'ambiente in senso più ampio,*
  - ii) sulla navigazione, comprese le infrastrutture portuali, o il diporto;*
  - iii) sulle attività per le quali l'acqua è accumulata, quali la fornitura di acqua potabile, la produzione di energia o l'irrigazione,*
  - iv) sulla regolazione delle acque, la protezione dalle inondazioni o il drenaggio agricolo, o su altre attività sostenibili di sviluppo umano ugualmente importanti;*
- b. i vantaggi cui sono finalizzate le caratteristiche artificiali o modificate del corpo idrico non possano, per motivi di fattibilità tecnica o a causa dei costi sproporzionati, essere raggiunti con altri mezzi i quali rappresentino un'opzione significativamente migliore sul piano ambientale. Tali designazioni e la relativa motivazione sono esplicitamente menzionate nei piani di gestione dei bacini idrografici prescritti dall'articolo 13 e sono riesaminate ogni sei anni.”*

Allo stesso articolo, comma 1.iii, si legge che nel rendere operativi i programmi di misure specificate nei piani di gestione dei bacini idrografici per le acque superficiali *“gli Stati membri proteggono e migliorano tutti i corpi idrici artificiali e quelli fortemente modificati, al fine di raggiungere un buono stato delle acque superficiali in base alle disposizioni di cui all'allegato V entro 15 anni dall'entrata in vigore della presente direttiva, salve le proroghe stabilite a norma del paragrafo 4 e l'applicazione dei paragrafi 5, 6 e 7, e salvo il paragrafo 8”*.

## **OBIETTIVI**

Obiettivo principale del progetto è raccogliere una notevole mole di informazioni relative agli *HMWB* e *AWB* e sintetizzare le differenti esperienze derivate dai casi studio per costruire una base empirica per una linea guida su *HMWB* e *AWB*.

Gli scopi della ricerca si possono quindi così riassumere:

- 1) acquisire informazioni necessarie al dimensionamento dello stato della risorsa in termini quantitativi e qualitativi;
- 2) identificare le problematiche comuni e le differenze nell'approccio al processo di identificazione e designazione di *HMWB* e *AWB*;

- 3) identificare le più idonee metodologie per classificare i corpi idrici artificiali in termini di qualità;
- 4) definire i criteri per valutare il massimo potenziale ecologico di queste acque.

Per il conseguimento dell'obiettivo ci si basa sul concetto di **stato ecologico** che, come si evince dalla Direttiva 2000/60/CE e dal d.lgs.152/99 e s.m.i., è espressione della struttura e del funzionamento (complessità) degli ecosistemi acquatici, della natura fisica e chimica delle acque e dei sedimenti, delle caratteristiche del flusso idrico e della struttura fisica del corpo idrico, considerando comunque prioritario lo stato degli elementi biotici dell'ecosistema. È chiaro che la definizione si riferisce ai corpi idrici superficiali naturali per i quali nelle stesse leggi sopra citate si propone una classificazione in cinque classi; il concetto di **potenziale ecologico** (suddiviso in sole quattro classi) discende direttamente da quello di stato ecologico prendendo in considerazione però quei corpi idrici alterati fisicamente dall'attività antropica, sostanzialmente cambiati nella natura e che sono stati designati come HMWB o AWB seguendo l'opportuna procedura di designazione a *steps*.

## **METODOLOGIA**

I risultati dell'analisi comparativa dei differenti casi studio e le principali conclusioni sono state sintetizzate focalizzando i vari *step* dei processi di identificazione e designazione per HMWB e AWB (Fig.1 e 2). Le varie informazioni sono state inoltre utilizzate per sviluppare proposte per le differenti categorie d'acqua e, ove possibile, per le diverse categorie d'uso specifico dell'acqua.

### Descrizione della procedura e degli strumenti utilizzati

La procedura utilizzata si è articolata in tre fasi alla fine delle quali era previsto il raggiungimento degli obiettivi.

Nella *prima fase* si è proceduto ad attuare il processo informativo, ad organizzare il flusso dei dati in ingresso e a stabilire un'adeguata e rappresentativa rete di monitoraggio.

Nella *seconda fase* l'attenzione si è focalizzata sull'implementazione di nuovi indici basati su elementi qualitativi per classificare lo **stato ecologico** di canali artificiali e invasi. Per l'occasione si sono eseguite varie prove utilizzando indici basati su elementi biologici, indici di funzionalità dei sistemi fluviali (IFF), test ecotossicologici da applicare in stazioni scelte in relazione anche alle fonti di impatto antropico.

#### *a) Definitiva organizzazione della base informativa*

Per ciascuna tipologia di corpo idrico artificiale si sono implementate opportune schede di registrazione dati in grado di fornire la base per la raccolta e il trasferimento delle informazioni tra i detentori delle stesse e l'operatore responsabile della loro acquisizione ed elaborazione. Per la creazione delle schede si è tenuto presente quanto stabilito dal Decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio del 19 agosto del 2003 "*Modalità di trasmissione delle informazioni sullo stato di qualità dei corpi idrici e sulla classificazione delle acque*". Le schede implementate per AWB e HMWB sono composte di varie parti: 1) Individuazione, 2) Caratteristiche, 3) Idrologia e/o regolazione, 4) Monitoraggio dati grezzi, 5) Monitoraggio dati aggregati, 6) Pressioni.

b) *Completamento dell'implementazione della banca dati (database) e suo aggiornamento con i dati pervenuti.*

Poter disporre di una banca dati di facile accesso contenente tutte le informazioni e i dati disponibili sui corpi idrici artificiali e fortemente modificati è una condizione di importanza basilare.

Nel nostro caso il sistema di gestione ed elaborazione dati è costituito da due *database* realizzati in Access 2000<sup>®</sup>:

ACQUE\_SUPERFICIALI\_DB.MDB (database di back-end contenente tabelle dati);

ACQUE\_SUPERFICIALI\_PR.MDB (database di front-end all'interno del quale è contenuta la parte di presentazione ed elaborazione (interfaccia utente, report e programmi di elaborazione)).

Risulta chiara la stretta interconnessione tra i due database: il *database di back-end* rappresenta la base logico-strutturale su cui si appoggia il *database di front-end* composto da maschere facilmente richiamabili con tasti interattivi che permettono all'operatore di richiamare informazioni, inserire nuovi dati, rettificarli, modificarli, consultarli ed elaborarli.

Il Sistema Informativo così implementato, che deriva da una rielaborazione del *database* messo a punto da ARPA Emilia-Romagna e CTN-AIM, ha una base informativa riorganizzata con nuove tabelle e nuove relazioni atte a riconvertire il *database* originale in un *database* dedicato a HMWB e AWB, in grado di essere utilizzato come base a livello nazionale.

I dati pervenuti dalle Regioni interessate al Progetto sono stati successivamente caricati nel *database* rispettando un ordine prefissato:

1) "TAB\_CORPI\_IDRICI", 2) "STAZIONI\_ACQUE\_SUP", 3) "PRELIEVI", 4) "VALORI\_IBE", 5) "VALORE\_ANALITICO".

## **Struttura del progetto**

Lo studio è stato suddiviso in tre fasi, più una fase intermedia necessaria per l'inquadramento generale del progetto e il raggiungimento dell'obiettivo preliminare:

### Definizione di criteri per la creazione di una rete di monitoraggio rappresentativa.

Gli obiettivi progettuali si sono articolati sulla base di più attività generali e specifiche che prevedevano:

- censimento e georeferenziazione delle acque artificiali significative (invasi e canali) a livello nazionale:
  - attivazione presso i diversi Enti per raccogliere le informazioni generali relative ai corpi idrici artificiali:
    - predisposizione di un questionario in formato elettronico;
    - scelta dei siti di intervento e loro georeferenziazione;
    - raccolta, verifica e analisi dei dati pervenuti;
  - definizione del database e dell'interfaccia compatibile con l'architettura APAT;
  - verifica e definizione della miglior metodologia adottabile per le differenti tipologie d'acqua;
- classificazione per tipologia e significatività, delimitazione finalizzata alla georeferenziazione:
  - inserimento dei dati nel *database*, sviluppo dei Metadata;
  - studio e identificazione del modello di distribuzione dati per via telematica;
  - prima valutazione delle informazioni per la scelta dei modelli di riferimento per il monitoraggio e la classificazione, per gli aspetti biologici ed ecotossicologici;
- acquisizione dei dati, informazioni e studi di caratterizzazione per definire più avanzati criteri di:



- elaborazione, anche statistica, dei dati – valutazione delle metodologie e dei risultati ottenuti finalizzati alla costruzione delle linee guida sotto indicate:
  - rapporto finale con produzione di un database telematico sulle acque artificiali e loro georeferenziazione;
  - linee guida per il monitoraggio e la classificazione;
  - linee guida per gli aspetti biologici ed ecotossicologici;
- pubblicazione e divulgazione, con i metodi più opportuni, dei rapporti finali.

Considerando il censimento a livello nazionale dei corpi idrici artificiali significativi (Fase I) e la creazione dei presupposti per la verifica e la definizione della miglior metodologia adottabile per le differenti tipologie d'acqua utilizzate per la caratterizzazione ecobiologica degli ecosistemi artificiali (Fase II), l'obiettivo progettuale della terza fase del progetto si articola nella definizione dei criteri di valutazione del **Massimo Potenziale Ecologico (MEP: *Maximum Ecological Potential*)** delle acque artificiali censite e caratterizzate oltre alla loro classificazione in termini di qualità ambientale.

In base alle finalità proposte in stesura di Progetto, agli sviluppi dello stesso e alle attività svolte nelle prime due fasi, si sono potute considerare effettivamente realizzabili nella terza fase le sotto elencate attività basate su una disamina delle potenzialità e delle prospettive:

1. definitiva organizzazione della base informativa;
2. completamento dell'implementazione della banca dati (**database**) e suo aggiornamento con tutti i dati pervenuti;
3. descrizione delle principali caratteristiche delle diverse tipologie di AWB e HMWB:
  - guida per designare i corpi idrici naturali, artificiali e fortemente modificati;
  - proposta di un metodo di dettaglio per l'identificare i corpi idrici significativi e i relativi elementi idrici significativi;
  - implementazione di una proposta di schema applicativo per procedere alla caratterizzazione e classificazione dei corpi idrici superficiali e degli elementi idrici che da essi possono essere estratti con particolare riguardo per i corpi idrici artificiali e fortemente modificati;
  - definizione dello Stato Ecologico;
  - definizione di Massimo Potenziale Ecologico (MEP).
4. Verifica e definizione della miglior metodologia adottabile per differenti tipologie d'acqua:
  - suddivisione per tipologia d'uso dei vari parametri chimico-fisici e biologici da considerare nel monitoraggio dei corpi idrici artificiali e fortemente modificati;
  - stato di fatto dell'applicazione degli indicatori di salubrità ambientale ai casi studio;
  - formulazione di ipotesi sull'applicabilità dei diversi parametri indicatori di salubrità ambientale con particolare riguardo verso gli elementi qualitativi utilizzabili per classificare lo Stato Ecologico;
  - proposta di criteri per valutare il massimo potenziale ecologico (MEP – *Maximum Ecological Potential*).

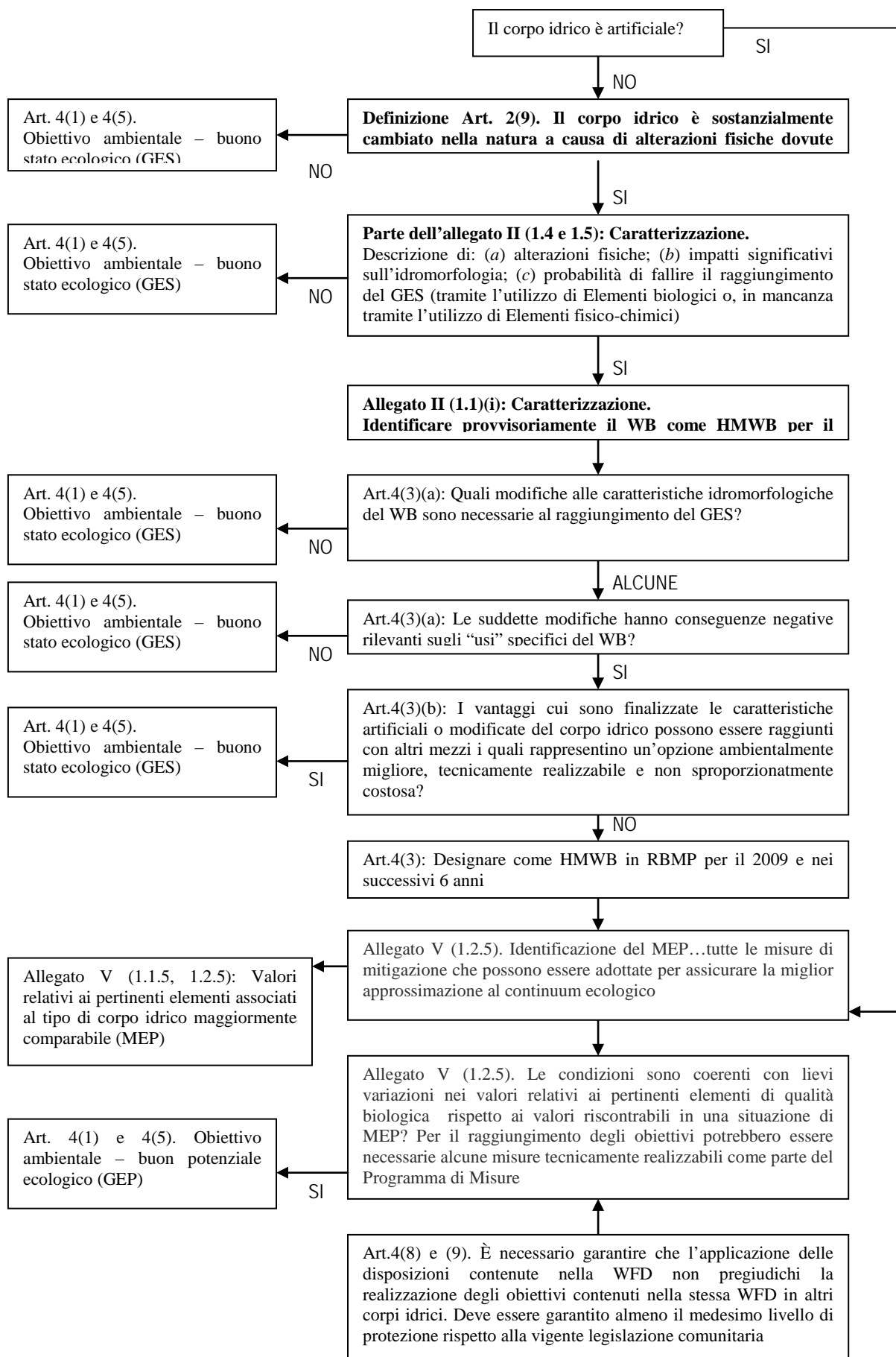


Fig.1 – Fasi metodologiche per identificare e designare gli HMWB e gli AWB.

## Guida per designare AWB e HMWB

Un corpo idrico artificiale (AWB), definito dall'art. 2.8 della WFD, è un “*un corpo idrico superficiale creato dall'attività umana*”; un corpo idrico fortemente modificato (HMWB) (art. 4(3) della WFD) è “*un corpo idrico superficiale la cui natura, a seguito di alterazioni fisiche dovute ad attività umana, è sostanzialmente modificata*”.

Ciò che differenzia sostanzialmente un AWB da un HMWB è il termine “creato” utilizzato nella definizione dell'art. 2(8) e che può essere interpretato in due modi:

1. in riferimento alla creazione di un WB ex-novo, dove prima c'era soltanto terreno asciutto (ad esempio, la costruzione di un canale), oppure
2. in riferimento al cambiamento della natura (ad esempio, un fiume diventa un lago in seguito all'interruzione del flusso mediante uno sbarramento).

In accordo con queste definizioni e considerato che in Europa molti WB hanno subito grosse alterazioni fisiche per consentire particolari usi della risorsa idrica, un corpo idrico per essere designato HMWB deve essere:

- alterato fisicamente dall'attività antropica;
- sostanzialmente cambiato nella natura;
- designato dallo Stato Membro secondo le disposizioni dell'art. 4(3) come ricordato al punto c) di Metodologia.

E' quindi da sottolineare che i cambiamenti idromorfologici subiti dal WB devono essere tali da provocare un cambiamento sostanziale delle caratteristiche naturali originarie, come ad esempio quando un fiume viene modificato nell'estensione per favorire la navigazione oppure un lago viene modificato per migliorare l'accumulo d'acqua.

Per giustificare allora l'applicazione del test di designazione, un WB deve risultare modificato in modo **evidente** e **permanente** e presentare, se si considera l'uso specifico definito dall'art. 4(3), un sostanziale, esteso, profondo e molto evidente cambiamento nella idromorfologia.

Quando il WB, identificato come significativo, presenta caratteristiche che possono far ritenere di essere in presenza di un corpo idrico totalmente o parzialmente alterato dall'attività antropica, si procede con il test di designazione che, *step-by-step*, consente di stabilire se il WB è *artificiale* (AWB), *fortemente modificato* (HMWB) o *naturale*. In tutti i casi è necessario attribuire al WB lo Stato Ecologico, gli obiettivi da raggiungere e gli interventi necessari per questo scopo.

Per evitare infine l'applicazione dell'intero processo di designazione di tutti i WB, è altamente auspicabile escludere, a partire dallo stadio iniziale, quei WB che, secondo una metodologia applicabile in un nuovo *step* (3/bis) “*Screening ulteriore degli HMWB*”, non presentano le caratteristiche di HMWB (Fig.3).

L'identificazione provvisoria di HMWB si ha quando il WB risponde ai seguenti requisiti:

1. il GES non è raggiungibile perché il WB ha sostanzialmente cambiato la propria natura; è chiaramente soggettivo stabilire se un WB ha cambiato la propria natura soltanto significativamente o sostanzialmente.
2. si osservi che:  
*il cambiamento della natura può essere in estensione, larghezza o profondità e tipicamente comporta sostanziali cambiamenti sia nella morfologia sia nell'idrologia;*  
*il cambiamento è permanente, non temporaneo né intermittente: molte alterazioni delle caratteristiche geomorfologiche non sono associate a cambiamenti morfologici e possono talvolta essere facilmente reversibili, quindi non si tratta di cambiamenti sostanziali della natura;*  
*le modificazioni geomorfologiche devono essere “in scala” col cambiamento provocato dagli usi specifici elencati all'art. 4(3)(a): un fiume incanalato, un porto, un fiume arginato dalle protezioni per le inondazioni, un fiume interrotto da una diga o un lago.*

3. il cambiamento della natura deve essere il risultato di usi specifici o di attività ritenute importanti per lo sviluppo socio-economico dell'area circostante (sole o combinate).

Il metodo *step-by-step*, schematizzato in Fig.1 e descritto nei punti che seguono, agli steps obbligatori da 1 a 3 consente di identificare i corpi idrici e discriminare compiutamente i corpi idrici "naturali" e gli AWB [STADIO 1]:

#### Step 1 – Identificazione dei WB superficiali significativi

Si attua la procedura di identificazione dei WB significativi: si compone delle 3 fasi □ubionate e puntualmente descritte (1-individuazione corpo idrico, 2-categorizzazione corpo idrico, 3-caratteristiche corpo idrico) nel successivo *step 2* per specificare e differenziare i WB da considerare unità territorialmente e funzionalmente differenti. A tali unità si dovrà attribuire lo *stato ecologico*, gli *obiettivi* da raggiungere e gli *interventi* necessari a questo scopo.

#### Step 2 – Il WB è artificiale?

La WFD applica due definizioni distinte per AWB e HMWB [art. 2(8) e art. 2(9) rispettivamente]. In questo secondo *step* si identifica se il WB considerato è stato creato da attività umana. Se la designazione prevede di arrivare ad un AWB, il primo test di designazione (*step 7*) non è rilevante e il corpo idrico deve continuare il procedimento di designazione passando direttamente al secondo test di designazione (*step 8*).

#### Step 3 – Screening: ci sono cambiamenti nell'idromorfologia?

Si propone un processo di *screening* per ridurre gli sforzi e il tempo necessari a identificare i WB che non devono affrontare i test di designazione per HMWB. Tra questi si collocano quei corpi idrici che probabilmente **non** realizzano l'obiettivo GES, ma non mostrano cambiamenti idromorfologici. Lo *step* è nell'Allegato II (1.4) relativo alla definizione delle pressioni.

Lo *step 3/bis* è stato aggiunto per poter escludere, in fase precoce [STADIO 2], i corpi idrici dalla procedura di designazione HMWB:

#### Step 3/bis – Screening ulteriore degli HMWB

Per decidere se applicare il test di designazione completo si valuta la soddisfazione delle seguenti condizioni:

- presenza di elevate percentuali di tratti del WB costituite da canali scolmatori di piena;
- presenza di dighe e chiuse con frequenza maggiore di 0,3 / Km o quando influenzano fortemente la regolazione del livello delle acque per lunghi tratti del WB stesso;
- presenza di tratti canalizzati o riallineati per più del 25% della lunghezza del WB;
- il corpo idrico è regolato per la maggior parte del percorso.

La decisione di procedere con la designazione non è relativa ad ogni singolo elemento del corpo idrico considerato, ma deve essere applicata all'intero corpo idrico. Se solo un elemento non può essere incluso come possibile candidato per la designazione quale HMWB, l'intero corpo idrico dovrebbe essere sottoposto ugualmente ai test di designazione. Se, in ogni caso, c'è una grande divergenza di risultati tra i diversi elementi, si devono fare le opportune considerazioni sulla possibilità di cambiare i confini del corpo idrico considerato o di suddividerlo in più corpi idrici considerando la sua non omogeneità.

Gli *steps* da 4 a 6 portano all'identificazione provvisoria di HMWB [STADIO 3]:

#### Step 4 – Cambiamenti significativi dell'idromorfologia

Per ogni WB con cambiamenti idromorfologici, si devono identificare e descrivere gli usi specifici, le pressioni antropiche significative e i relativi impatti; ciò include la descrizione dei cambiamenti idromorfologici significativi e la valutazione degli impatti che ne derivano.

### Step 5 – Probabilità di fallire il GES

In base alle informazioni raccolte allo *step* precedente e alla stima dello Stato Ecologico, si dovrebbe poter valutare la probabilità del WB di raggiungere quello che, in base alle attuali conoscenze, si stima essere il GES. Lo *step* richiede di stabilire se i motivi che rendono irraggiungibile questo obiettivo siano le modifiche idromorfologiche o altri tipi di pressione (presenza di sostanze tossiche, altri problemi di qualità).

### Step 6 – Identificazione provvisoria di HMWB

Questo passaggio mira a definire se il WB abbia sostanzialmente cambiato la sua natura a causa delle alterazioni fisiche dovute all'attività umana. I WB, in cui i cambiamenti dell'idromorfologia hanno comportato un cambiamento sostanziale della loro natura originaria, sono identificati provvisoriamente HMWB. I WB che non mostrano sostanzialmente cambiata la propria natura, non potranno essere riconosciuti come HMWB; saranno designati come *naturali* e il loro obiettivo ambientale rimarrà il raggiungimento del GES entro il 2015.

Gli *steps* da 7 a 9 conducono alla designazione degli HMWB [STADIO 4]:

### Steps 7-8-9 - Test di designazione

Il test di designazione si compone di due parti: la prima riservata agli HMWB (*step* 7, in accordo con l'art. 4(3)(a)), la seconda che si applica separatamente per AWB e HMWB (*step* 8, in accordo con l'art. 4(3)(b)).

Il test di designazione per gli HMWB (*step* 7) ha lo scopo di identificare le misure di ripristino ambientale necessarie per raggiungere il GES e valutare gli eventuali effetti negativi che potrebbero ricadere o sull'ambiente circostante o sull'uso specifico. Se, in base a questo test (*step* 7), si ritiene che gli interventi di ripristino ambientale proponibili possano provocare effetti significativamente negativi sull'uso specifico oppure sull'ambiente circostante, si procede con il secondo test (*step* 8).

Lo *step* 8 mira a individuare le alternative sostenibili, in termini di applicabilità tecnico/economica e di impatto ambientale dell'uso specifico.

Al test di designazione dello *step* 8 accedono tutti gli AWB e i WB identificati provvisoriamente come HMWB. Il test è finalizzato ad assicurare che siano designati HMWB e AWB soltanto quei WB che non presentano ragionevoli opportunità di raggiungere il GES entro il 2015. Questo secondo test di designazione (*step* 8), che risponde alle richieste dell'art. 4(3)(b), si applica separatamente a HMWB e AWB; si suddivide in tre sotto-test che valutano se le alternative siano: a) tecnicamente fattibili, b) opzioni ambientalmente migliori, c) non sproporzionatamente costose. Se anche uno solo dei sotto test a), b), c) è negativo:

- il WB può essere designato *artificiale* (*step* 9) perché non si può applicare una metodologia diversa da quella fin ad ora utilizzata per raggiungere i benefici dell'uso specifico e per cui è stato creato il WB;
- il WB può essere designato *fortemente modificato* (*step* 9) perché non si può applicare una metodologia diversa da quella fin ad ora utilizzata per raggiungere i benefici dell'uso specifico che ha fisicamente alterato il WB.

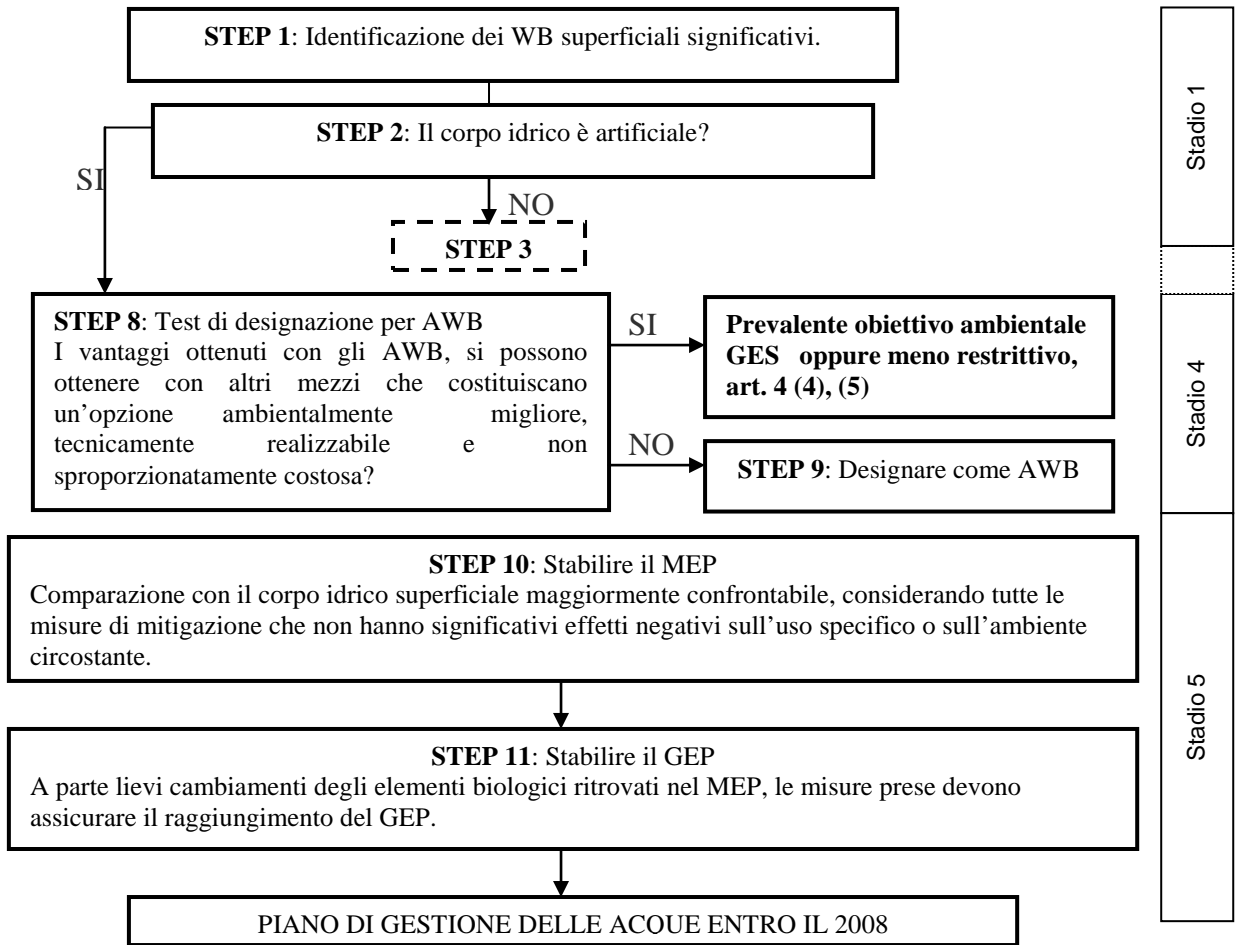
Se invece esistono misure di mitigazione prive di effetti significativamente negativi (*step* 7) oppure alternative che soddisfano i criteri a), b), c) (*step* 8), il WB non deve essere designato HMWB e AWB e l'obiettivo ambientale deve essere il GES, al più con deroghe ai sensi degli artt. 4 e 5 della WFD.

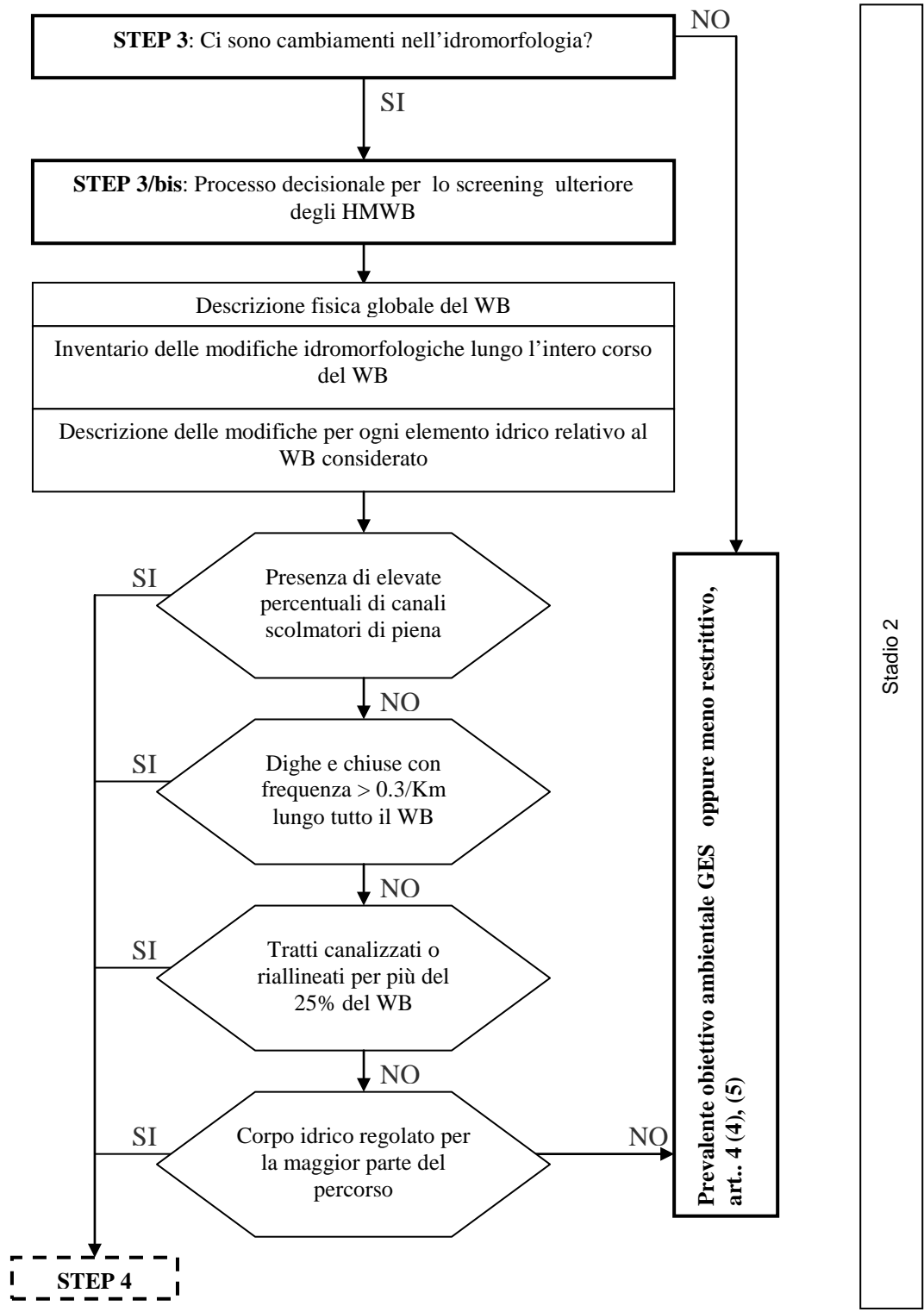
Gli *step* da 10 a 11 definiscono le condizioni di riferimento e gli obiettivi di qualità ambientale [STADIO 5]:

### Step 10-11 – Massimo potenziale ecologico (MEP) buon potenziale ecologico (GEP)

Gli ultimi due *step* non fanno parte del processo di designazione, ma riguardano la definizione delle condizioni di riferimento e la predisposizione degli obiettivi di qualità ambientale per

HMWB ed AWB. Nello *step* 10 si definiscono le condizioni di riferimento per HMWB e AWB e il MEP che permette di definire anche il GEP (*step* 11).





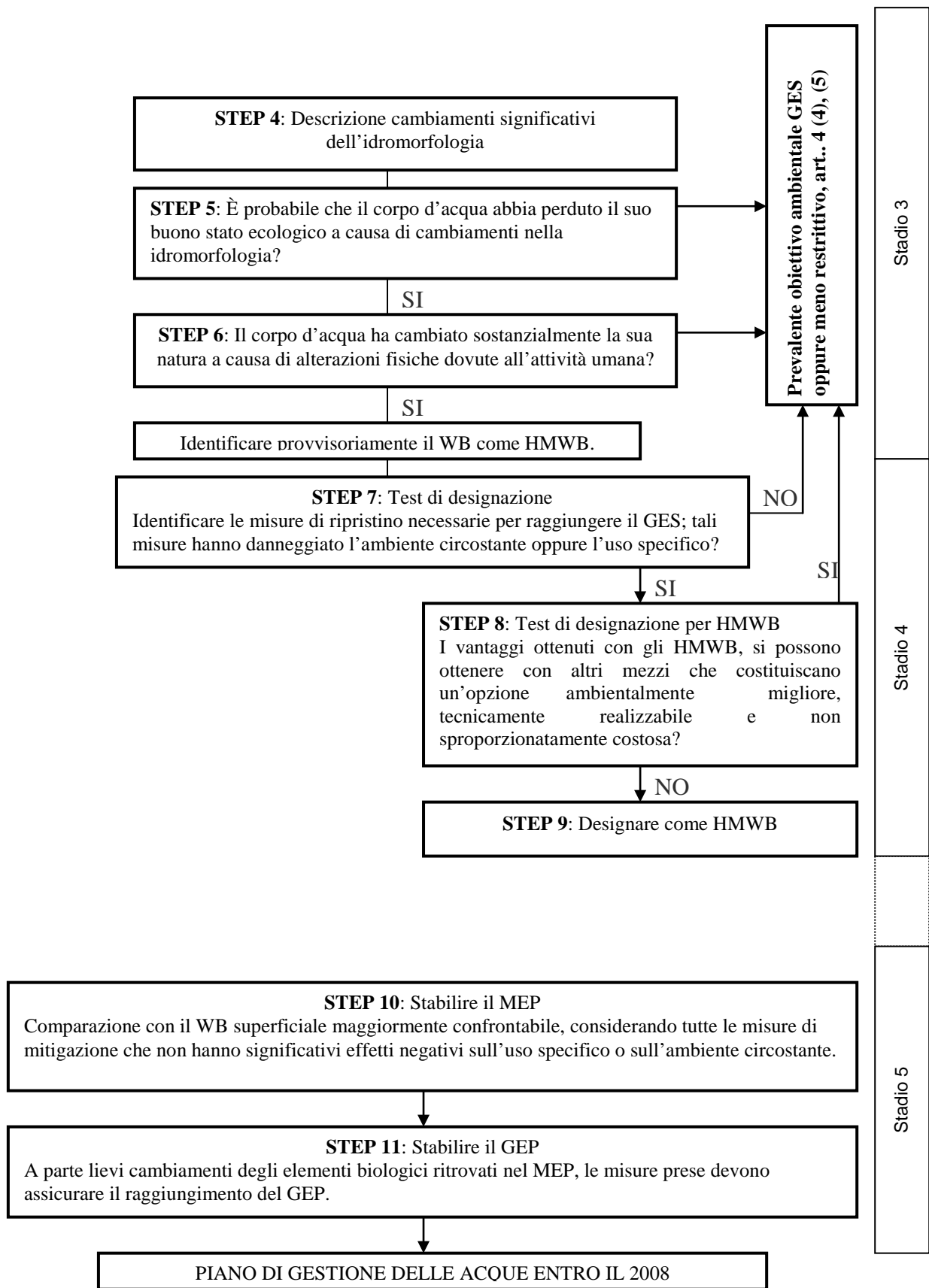


Fig.2 – Processo per identificare e designare gli HMWB e AWB (da WFD CIS Guidance Document N.4, 2003)



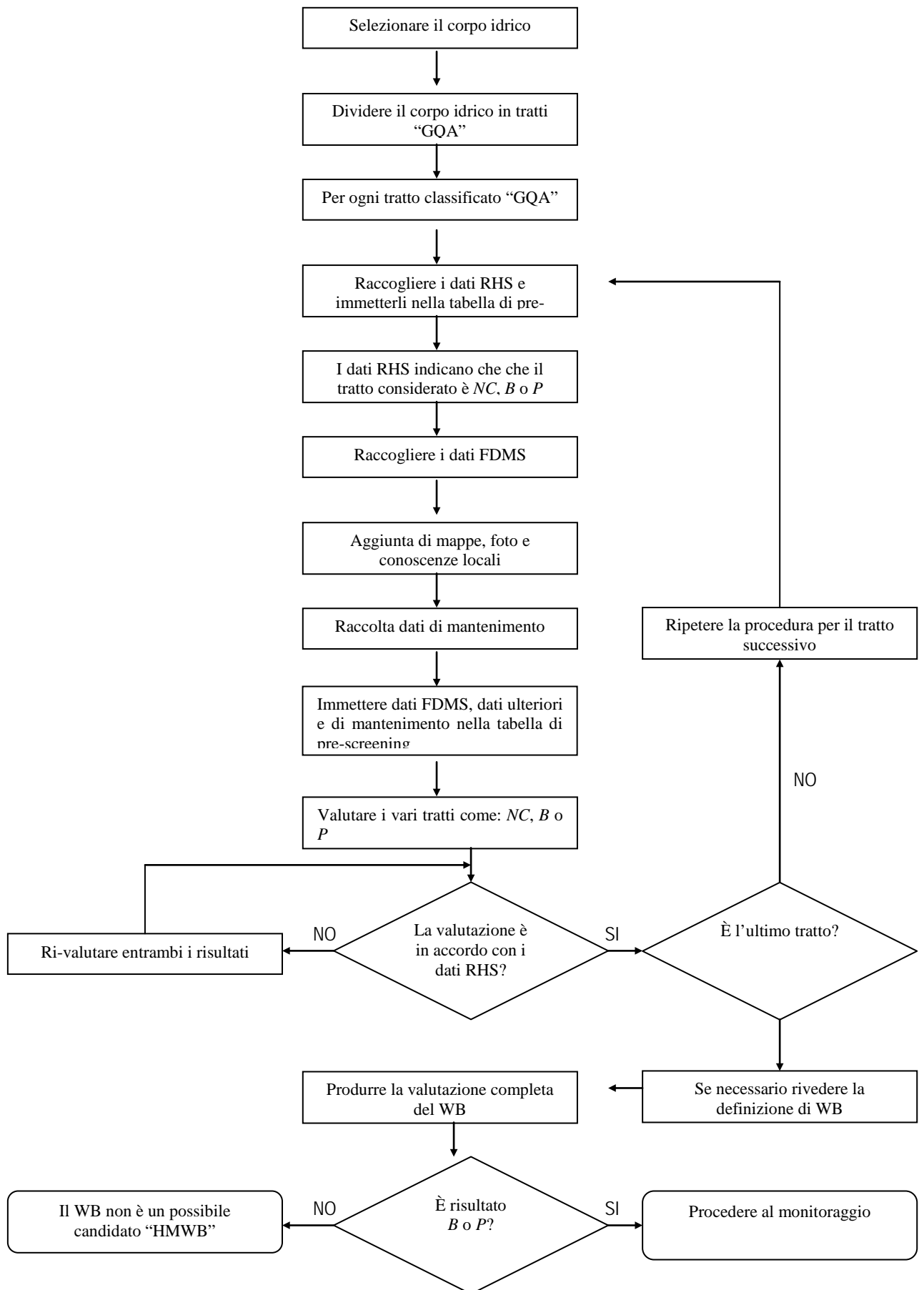
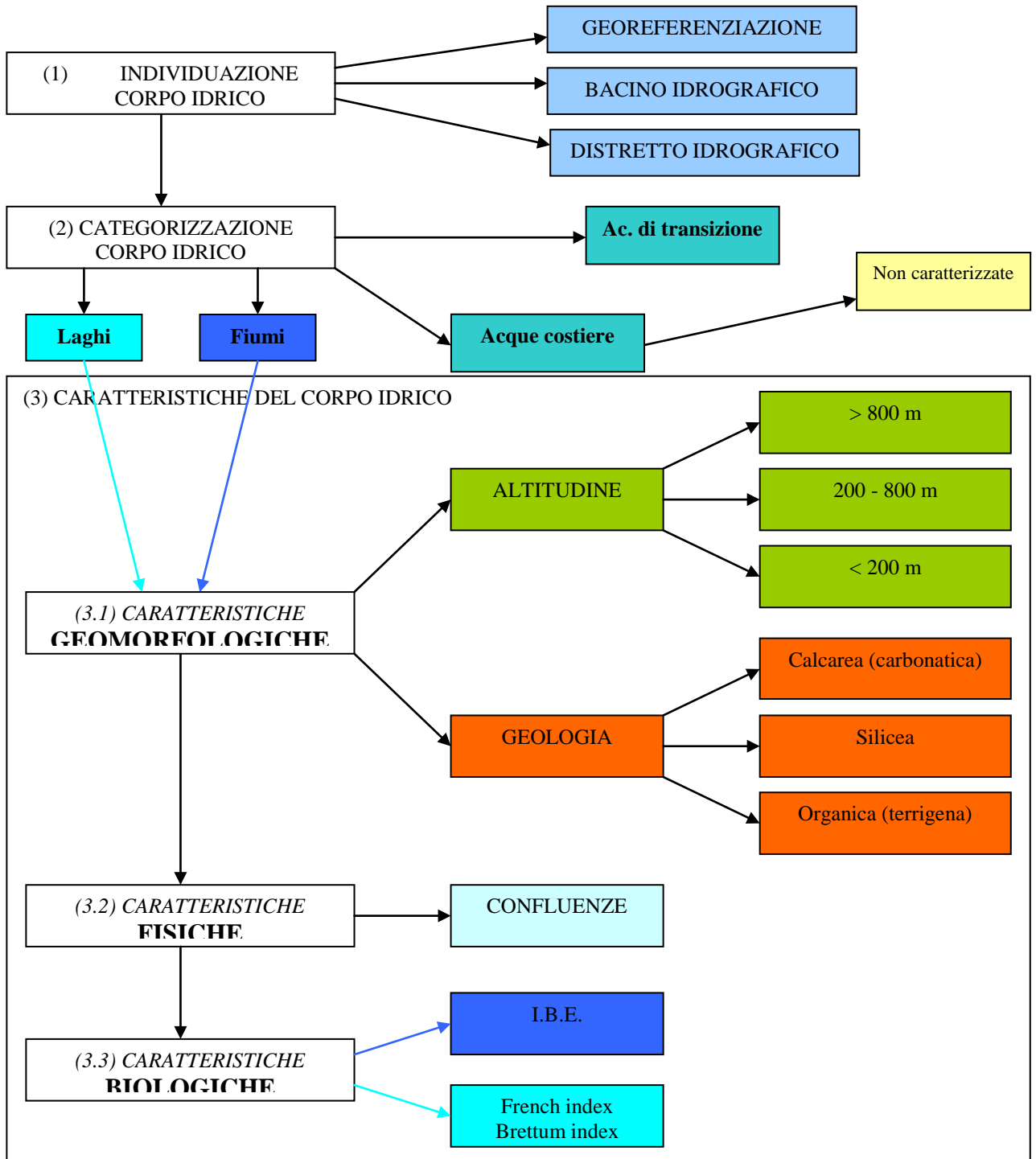


Fig.3 – Diagramma del processo di pre-screening UK-EW.  
 Nota: NC=non candidato; B=borderline; P=potential

## Identificazione dei corpi idrici



## Individuazione del corpo idrico

Un WB si individua georeferenziandolo e stabilendo in via preliminare i suoi confini; per un completo inquadramento territoriale è indispensabile rilevare il bacino idrografico di appartenenza e le relative dimensioni. E' anche importante, per una preliminare classificazione all'interno del territorio, inquadrare geograficamente e amministrativamente il corpo idrico considerato nel distretto idrografico.

## **Categorizzazione del corpo idrico**

Si attribuisce al WB individuato una delle 4 categorie previste dalla WFD: fiumi, laghi, acque di transizione, acque costiere.

Un fiume è definito come un corpo idrico interno che scorre prevalentemente in superficie, ma che può essere parzialmente sotterraneo. Per categorizzare un WB come “fiume” si deve essere in presenza di un corpo idrico lotico e, perché possa essere considerato significativo, di un bacino idrografico di almeno 10 km<sup>2</sup>.

Un lago è come un corpo idrico superficiale interno fermo. Per categorizzare un corpo idrico come “lago” si deve essere in presenza di un corpo idrico lentico la cui area è almeno 0,2 km<sup>2</sup>.

Nell’ambito del progetto non si è effettuata la sperimentazione del processo di caratterizzazione delle acque di transizione e delle acque costiere.

La WFD introduce altre due categorie di corpi idrici superficiali: corpi idrici artificiali (AWB) e corpi idrici fortemente modificati (HMWB) la cui classificazione si effettua secondo i descrittori relativi ad una delle categorie di acque superficiali che maggiormente si avvicina al corpo idrico artificiale o fortemente modificato.

## **Caratteristiche del corpo idrico**

Si discrimina il WB da identificare in più WB significativi (elementi) caratterizzati da omogeneità geomorfologica, fisica e biologica.

### ***C1) Caratteristiche geomorfologiche***

Per fiumi e laghi, le caratteristiche considerate discriminanti nell’identificare i diversi elementi idrici superficiali sono: l’altitudine e la geologia del territorio.

Per quanto riguarda l’altitudine i corpi idrici sono stati discriminati considerando tre fasce:

- oltre 800 m s.l.m.
- tra 200 e 800 m s.l.m.
- sotto 200 m s.l.m.

Le soglie 800 m e 200 m s.l.m. segnano i confini tra due elementi idrici significativi adiacenti, discriminati sulla base della geologia del territorio (carbonatica, silicea e terrigena).

### ***C2) Caratteristiche fisiche***

Gli elementi idrici significativi ricavati dal punto (3.1) sono ulteriormente suddivisi in prossimità di confluenze con altri corpi o elementi idrici, il cui bacino imbrifero è maggiore di 10 km<sup>2</sup>, che influenzano le caratteristiche dell’ecosistema acquatico e la sua vulnerabilità.

L’unico fattore discriminante è quindi rappresentato dalle intersezioni fluviali.

### ***C3) Caratteristiche biologiche***

L’ultimo fattore considerato riguarda lo stato di qualità biologico delle acque. Si possono applicare diversi indici a seconda che il WB in questione sia stato categorizzato come “fiume” o come “lago” dal punto (2). Per un fiume l’indice utilizzabile è l’IBE (Indice Biotico Esteso), per un lago gli indici potenzialmente utilizzabili nel Distretto alpino sono il *French Index* o il *Brettum Index*.

## **Principali caratteristiche delle diverse tipologie di AWB e HMWB**

I WB, secondo la WFD art. 2 (9), per essere designati come HMWB devono presentare:

- alterazione fisica da attività antropica;
- sostanziale cambiamento nella natura;

- la designazione secondo l’art. 4 (3) che riporta l’elenco di attività, definite *usi specifici*:
  - a) navigazione, inclusi porti e diporti;
  - b) attività per le quali è necessario l’accumulo d’acqua:
    1. distribuzione d’acqua potabile;
    2. generazione di energia elettrica;
    3. irrigazione;
  - c) regimazione delle acque:
    1. protezione dalle inondazioni;
    2. drenaggio agricolo;
  - d) altre attività ritenute importanti per lo sviluppo socio-economico dell’area circostante.

Gli *usi specifici* causano nel corpo idrico cambiamenti idromorfologici tali da far ritenere il GES non raggiungibile nemmeno dopo il 2015, a meno di rinunciare allo sfruttamento della risorsa idrica. La definizione, fornita dall’art. 2 (9), sottolinea che gli HMWB sono soggetti ad alterazioni fisiche provocate dall’attività antropica; l’art. 4 (3) indica invece che le alterazioni fisiche rilevanti sono quelle che causano i cambiamenti idromorfologici su cui intervenire per raggiungere il GES.

E’ necessario sottolineare che i cambiamenti idromorfologici subiti dal WB devono essere **evidenti e permanenti** e provocare un cambiamento sostanziale delle sue caratteristiche naturali come

- modificazioni artificiali del letto e/o delle sponde
- deviazioni parziali o totali del corso d’acqua
- continui ostacoli che collegano le due sponde
- modificazioni a carico dei volumi d’acqua caratteristici del corpo idrico;
- cambiamenti nelle superfici di deflusso e di scorrimento;
- riduzioni a carico delle fasce fluviali.

Cioè modificazioni che si possono descrivere e quantificare con indicatori che appartengono a tre categorie principali: qualità idrologica, continuità fluviale, morfologia fluviale.

Queste modificazioni devono essere valutate per ciascun WB e, se presenti, andranno evidenziate e registrate sul foglio diagnostico usato nel processo decisionale per definire sezioni, tratti, interi corpi idrici da considerare come precandidati HMWB. Emerge che la valutazione di quali WB possano diventare precandidati è affidata alla valutazione soggettiva di esperti che abbiano un quadro sintetico, ma efficace e completo dei WB di una data regione. La valutazione però è anche guidata da principi che consentono di designare un WB come HMWB per le sue caratteristiche fisiche, l’attività antropica che su di esso si esercita, l’impatto negativo sul suo equilibrio naturale morfodinamico solo se modificato in modo significativo, palese e irreversibile. Per quei WB che mostrano questo tipo di alterazioni si dovranno investigare le pressioni e gli impatti risultanti.

### ***Canali artificiali***

I canali artificiali sono corpi idrici interni che scorrono più o meno velocemente in superficie (lotici). Le funzioni che tradizionalmente svolge il reticolo idrografico artificiale sono essenzialmente due: contribuire alla difesa idraulica del territorio favorendo lo scolo delle acque meteoriche in occasione di piogge di forte intensità, fornire un’adeguata provvista idrica per l’uso irriguo e altri usi (produzione di forza motrice, raffreddamento, navigazione, ecc).

Tra le funzioni tradizionali quella che però ha fino ad ora largamente determinato lo sviluppo delle reti risulta sicuramente l’irrigazione, anche se ha subito negli ultimi tempi un ridimensionamento a favore della difesa idraulica.

Il sistema irriguo, attraverso la capillare circolazione idrica e i tradizionali metodi di irrigazione, ricarica le falde acquifere sotterranee utilizzate per l'approvvigionamento idrico civile e industriale dell'intero territorio. Negli ultimi anni la nascita di nuove esigenze legate ad aspetti di valorizzazione ambientale e paesaggistica del territorio hanno ampliato le funzioni che il reticolo idrografico artificiale deve soddisfare.

### ***Laghi artificiali (serbatoi)***

I serbatoi sono corpi idrici formati o modificati dall'attività umana per scopi specifici e per fornire una risorsa certa e controllabile. Le loro utilizzazioni principali includono l'uso potabile, industriale, energetico, irriguo, ricreativo, di laminazione delle piene, la navigazione. Risulta pertanto fondamentale in un processo di analisi interpretativa e di previsione del comportamento fisico-chimico e biologico di un lago artificiale comprendere le influenze naturali e artificiali più comuni indotte dai differenti usi.

I serbatoi generalmente sono localizzati nelle zone di scarsità e/o di abbondanza d'acqua, o laddove esistono esigenze di controllo dei flussi idrici sia per motivi agricoli che industriali.

I serbatoi mostrano una certa spiccata conformità ai requisiti di qualità dell'acqua in funzione dell'uso per cui sono stati progettati; è la variazione nel modo di progettare e gestire le opere di regolazione che più rappresenta gli elementi di maggior flessibilità e potenzialità in relazione all'obiettivo qualità dell'acqua. Tuttavia, la natura dell'intervento e/o della tipologia di controllo può complicare tanto la realizzazione e l'efficacia del programma di sorveglianza della qualità dell'acqua, quanto l'interpretazione dei risultati. Per i serbatoi, quindi, qualsiasi processo di controllo deve tener conto delle influenze dirette legate alla gestione del WB.

L'ampia gamma di variazione nelle dimensioni e nell'uso dei serbatoi fa dei serbatoi una tipologia di corpo idrico intermedio tra fiumi e laghi naturali.

### ***Corpi idrici fortemente modificati***

I HMWB possono essere ascrivibili a "fiumi" o a "laghi".

La caratteristica che li contraddistingue è la natura sostanzialmente modificata: alterazioni fisiche dovute all'attività umana, usi differenti della risorsa idrica.

I HMWB devono quindi essere trattati a seconda dei casi come la categoria che più si avvicina alle loro caratteristiche: acque lotiche "fiumi"; acque lentiche "laghi".

Per classificare le acque, la Comunità Europea e la normativa italiana (d.lgs.152/99 e s.m.i.) privilegiano la definizione di Stato Ambientale dei corpi idrici, vale a dire lo stato di salute dell'ecosistema acquatico, a prescindere dalla destinazione e dall'uso della risorsa (potabile e civile, balneazione, irriguo, ecc.).

La classificazione si basa su un numero ristretto di parametri che non sempre permettono di stabilire l'idoneità dell'acqua per un uso specifico. Si è quindi stabilito di valutare l'idoneità dell'acqua captata utilizzando una classificazione ad hoc che si avvale di tutti i parametri necessari ad individuare le possibili conseguenze connesse all'uso stesso. In Italia, questi criteri (d.lgs.152/99 e s.m.i., Allegato 2) sono stati adottati per le acque superficiali destinate all'approvvigionamento idropotabile, acque dolci che richiedono protezione e miglioramento per essere idonee alla vita dei pesci, acque destinate alla molluschicoltura.

Per la qualità delle acque da destinare all'uso agricolo, i Paesi che hanno fissato standard ufficiali sono pochi; si è rivolta particolare attenzione ai microinquinanti inorganici, poco o niente ai microinquinanti organici, alla componente microbica, alle variabili che caratterizzano il tipo di terreno, le caratteristiche della coltura e i diversi metodi irrigui.

Molti autori e istituzioni hanno proposto, nel corso degli ultimi decenni, differenti criteri per classificare le acque naturali da utilizzare in ambito agricolo cercando di superare la complessità dell'argomento che ha un carattere di estrema variabilità in quanto funzione del

tipo di suolo da irrigare, della tolleranza delle colture alle diverse sostanze, del regime delle piogge, del metodo irriguo e delle tecniche colturali e agronomiche adottate.

## **Proposta di schema applicativo per caratterizzare e classificare i WB, gli AWB, i HMWB e gli elementi idrici che da essi possono essere estratti (MEP e GEP).**

La WFD e le linee guida ad essa collegate si riferiscono ad unità geografiche e amministrative di varie dimensioni e livello tra le quali spiccano (dalla più grande alla più piccola):

- 1) Distretti idrografici: *“Area di terra e di mare, costituita da uno o più bacini idrografici limitrofi e dalle rispettive acque sotterranee e costiere che, a norma dell’art. 3, par. 1, è definita la principale unità per la gestione dei bacini idrografici”*, (art. 2.15);
- 2) Bacini idrografici: *“Territorio nel quale scorrono tutte le acque superficiali attraverso una serie di torrenti, fiumi ed eventualmente laghi per sfociare al mare in un’unica foce, a estuario o delta”*, (art. 2.12);
- 3) Corpi idrici (WB): *“Sotto-unità coerenti del bacino idrografico alle quali devono essere applicati gli obiettivi della WFD”*.

Visto il ruolo fondamentale che i WB assumono nel perseguimento degli obiettivi di qualità, risulta determinante identificare in modo non arbitrario le acque superficiali dei corpi idrici, basandosi su criteri di discretizzazione e di significatività. In particolare, nel processo di identificazione dei corpi idrici significativi, la direttiva pone alcuni **vincoli** quali:

- il WB deve essere sia distinto sia significativo;
- il WB non deve presentare sovrapposizioni con altri corpi idrici;
- il WB non deve essere composto di parti che non siano contigue;
- nello stesso WB non devono essere presenti differenti categorie di acque;
- il WB deve rientrare in un’unica categoria;
- il confine del WB è situato necessariamente dove due diverse categorie entrano in contatto.

La linea guida *“Identification of Water Bodies”* suggerisce per l’identificazione dei WB un procedimento generale di tipo gerarchico:

1. elemento distinto e significativo: suddividere lo spazio secondo unità di analisi, controllo e pianificazione che siano il più possibile omogenee al loro interno tenendo in considerazione i vincoli su esposti; stabilire quindi preliminarmente i distretti idrografici all’interno dei quali sono contenuti i bacini idrografici contenenti i corpi idrici significativi da identificare;
2. categorie delle acque superficiali: stabilire i confini delle diverse categorie di acque superficiali (fiumi, laghi, acque di transizione e acque costiere);
3. tipologia: stabilire i confini delle diverse tipologie di WB facendo riferimento al criterio geomorfologico (sistema A) e chimico-fisico (sistema B) riportato nell’Allegato II, punto 1.1 della WFD;
4. caratteristiche fisiche che individuano gli elementi distinti e significativi: stabilire i confini sulla base delle caratteristiche fisiche, significative per gli ecosistemi acquatici (confluenza tra due fiumi o intersezione fiume-lago);
5. identificare i confini dei WB considerando lo stato ecologico, le pressioni e gli impatti, le aree protette.

Il primo punto sottolinea l’importanza dell’elemento distinto e significativo che si evince anche dalla definizione della WFD; l’art. 2.10 definisce infatti quale “corpo idrico superficiale” un elemento distinto e significativo di acque superficiali, quale lago, bacino artificiale, torrente, fiume o canale, parte di torrente, fiume o canale, acque di transizione o tratto di acque costiere”. L’utilizzo dei termini “distinto” e “significativo” implica che la suddivisione delle acque superficiali in corpi idrici (WB) non possa essere arbitraria, ma che

si debba basare su criteri di *discretizzazione* e *significatività*. Tali criteri devono essere considerati la guida fondamentale per identificare i corpi idrici significativi che si estrinsecano nei primi tre vincoli sopra indicati di cui bisogna tener conto durante tutto il processo di identificazione.

Un ulteriore vincolo da applicare, data la sua importanza per prevenire un'eccessiva frammentazione del corpo idrico in elementi talmente piccoli da non permetterne un'adeguata gestione, è il vincolo dimensionale; la soglia minima dei bacini idrografici all'interno dei quali sono compresi i corpi idrici e che si desume dall'All. II, punto 1.2 (10 Km<sup>2</sup>).

Qualora, nonostante il vincolo, le dimensioni dei vari elementi risultassero comunque troppo piccole per la suddetta gestione si può:

- se possibile, includere l'elemento piccolo in un corpo idrico più grande che sia adiacente e che abbia caratteristiche ecologiche il più simili possibile; quanto meno che appartenga alla stessa categoria;
- identificare solo quei corpi idrici che sono significativi ai sensi della WFD (cioè quei corpi idrici caratterizzati da una certa importanza ecologica, da obiettivi per le Aree Protette, o in grado di provocare impatti negativi rilevanti su altri corpi idrici superficiali); in ogni caso piccoli elementi aventi caratteristiche ecologiche il più simili possibile o che appartengano almeno alla stessa categoria, che siano sottoposti alle stesse pressioni e che abbiano influenza su altri WB ben delimitati, possono essere raggruppati per le fasi di valutazione e reporting;
- proteggere e migliorare tutti i piccoli elementi, anche se non identificati come *corpi idrici significativi*, affinché sia possibile raggiungere gli obiettivi della WFD per quei WB direttamente o indirettamente connessi.

Inoltre, essi possono essere raggruppati per il monitoraggio, il reporting alla Commissione Europea e la gestione, in modo tale da ridurre il carico alle amministrazioni, a patto che sia garantito un accettabile livello di confidenza e precisione.

Sulla base delle indicazioni della linea guida "*Identification of Water Bodies*" si è sviluppato un processo a *step*, schematizzato nel paragrafo precedente e finalizzato all'identificazione dei corpi idrici significativi.

### **Usi, parametri chimico-fisici e biologici per monitorare AWB e HMWB.**

Le definizioni *uso specifico*, *pressione*, *alterazione fisica*, *impatto* sono riprese dal documento WFD CIS Guidance Document No. 4, 2003.

In Tab.1 si riportano i più importanti usi delle acque dei corpi idrici superficiali, le alterazioni fisiche ad essi connesse e gli impatti sull'idromorfologia o sullo stato biologico.

A livello europeo i casi studio sui corpi d'acqua artificiali o fortemente modificati hanno messo in luce che l'uso prevalente è la navigazione e l'idroelettrico; in Italia è prevalente invece l'uso agricolo e idroelettrico, ma è in aumento il prelievo d'acqua per uso potabile.

La qualità dell'acqua di un qualunque corpo idrico dipende dalle pressioni esercitate dal territorio, ma anche dalle caratteristiche geologiche, biologiche e climatologiche locali che controllano la qualità minerale, l'equilibrio ionico e i cicli biologici del corpo idrico.

Per conservare o migliorare lo stato dell'ambiente acquatico, è necessario quindi conoscere gli equilibri naturali per programmare il monitoraggio e per valutare l'idoneità dell'acqua a particolari usi. Se l'acqua è prelevata per usi differenti e plurimi, il piano di monitoraggio va pensato in funzione dell'uso che richiede una qualità d'acqua più elevata.

Gli indicatori utilizzati per segnalare la salubrità degli ecosistemi idrici si possono suddividere in componenti di tipo fisico – chimico, biologico (periphyton, macrofite acquatiche,



macroinvertebrati, pesci), ecologico (zona ripariale , habitat di alveo incluso il substrato), ecotossicologico.

Acquisisce importanza a sostegno dei parametri biologici valutare anche gli elementi idromorfologici come il regime idrologico, la continuità fluviale, le condizioni morfologiche per gli ecosistemi lotici; il regime idrologico e le condizioni morfologiche per i laghi e gli invasi.

**Tab.1 - Principali usi, alterazioni fisiche, impatti**

	Navigazione	Protezione dalle inondazioni	Produzione di energia elettrica	Agricoltura, piscicoltura, forestali	Fornitura d'acqua	Ricreazione	Urbanizzazione
<b>Alterazioni fisiche (pressioni)</b>							
Dighe e sbarramenti	X	X	X	X	X	X	
Manutenzione di canali,dragaggio,rimozione di materiale	X	X	X	X		X	
Canali navigabili	X						
Canalizzazione, rettificazione	X	X	X	X	X		X
Rinforzo delle banchine, argini	X	X	X		X		X
Drenaggio dei suoli				X			X
Cave				X			X
Creazione di acque di riflusso ( o stagnanti) tramite argini	X					X	X
<b>Impatti su idromorfologia e stato biologico</b>							
Interruzione della continuità del fiume e trasporto solido	X	X	X	X	X	X	
Cambiamento del profilo del fiume	X	X	X	X			X
Distacco di sponde	X	X	X	X	X		X
Laghi e zone umide							
Restrizioni, perdita dei piani per alluvioni		X	X				X
Riduzioni dei flussi			X	X	X		
Compromissione meccanica diretta della flora o della fauna	X		X			X	
Cambiamento artificiale del regime del flusso		X	X	X	X		X
Cambiamento del livello acquifero			X	X			X
Erosione del suolo, insabbiamento	X		X	X			X

Nei differenti corpi idrici considerati gli organismi acquatici reagiscono in modo differente alle caratteristiche fisiche e chimiche delle acque (Tab.2). La disponibilità di ossigeno, la presenza più o meno elevata di elementi nutritivi e l'assenza di prodotti chimici tossici sono fattori essenziali per lo sviluppo e la riproduzione delle diverse specie animali e vegetali.

Tab.2 - Tipologia d'uso dei parametri chimico-fisici e biologici per monitorare AWB e HMWB

<b>Uso prevalente</b>	<b>Parametri chimico-fisici di base</b>	<b>Metodi biologici</b>
<b>Potabile</b>	temperatura, ossigeno disciolto, colore, torbidità, solidi sospesi, odore, pH, composto organici, metalli, nitrati, fosforo	Coliformi, patogeni, fitoplancton, clorofilla-a
<b>Industriale</b> <sup>(2)</sup>	temperatura, pH, durezza, solidi sospesi e disciolti, ioni principali, ossigeno disciolto, fosforo	patogeni
<b>Produzione di energia</b>	conducibilità, solidi sospesi e disciolti, ioni principali, ossigeno disciolto, fosforo	clorofilla-a
<b>Irriguo</b>	pH, solidi totali disciolti, sodio, cloruri, magnesio, ossigeno disciolto, fosforo	clorofilla-a
<b>Pesca e ricreativo</b>	solidi sospesi, ossigeno disciolto, BOD, ammoniaca, fosforo	clorofilla-a, fitoplancton, biomassa acquatica
<b>Acquacoltura</b>	temperatura, solidi sospesi, ossigeno disciolto, ammoniaca, pesticidi, fosforo	clorofilla-a
<b>Laminazione</b>	solidi sospesi, torbidità, ossigeno disciolto, fosforo	clorofilla-a

(1) In funzione delle variabili considerate e di quanto fissato dalle normative vigenti

(2) Requisiti che variano in funzione del particolare uso industriale

## Stato Ecologico

Come indicato in WFD e nel d.lgs. 152/99 e s.m.i. lo **stato ecologico (SE)** è espressione della qualità della struttura e del funzionamento (complessità) degli ecosistemi acquatici, della natura fisica e chimica delle acque e dei sedimenti, delle caratteristiche del flusso idrico e della struttura fisica del corpo idrico. Lo stato degli elementi biotici dell'ecosistema è comunque prioritario.

Lo **SE**, espressione dell'allontanamento dalla condizione naturale, dovrebbe evidenziare lo scostamento da una situazione naturale nella quale a valori chimico-fisici e idromorfologici incontaminati corrisponde una determinata comunità biologica di riferimento. I descrittori della qualità dei WB, elencati nell'Allegato II della WFD, includono: (i) elementi biologici, (ii) elementi chimici e fisico-chimici di supporto agli elementi biologici, (iii) elementi idromorfologici di supporto agli elementi biologici. Gli elementi specifici differiscono a seconda della categoria di corpo idrico di volta in volta considerata.

Nell'Allegato V<sub>1.1</sub> della WFD sono elencati gli elementi qualitativi per classificare lo SE nelle 4 categorie di corpi idrici: 1) fiumi, 2) laghi, 3) acque di transizione, 4) acque costiere.

Per i "fiumi" è previsto l'utilizzo di elementi di qualità biologica come:

- composizione e abbondanza della flora acquatica (macrofite/fitobentos, fitoplancton);
- composizione e abbondanza dei macroinvertebrati bentonici;
- composizione, abbondanza e struttura d'età della fauna ittica;

per i "laghi", oltre a quanto sopra riportato, è previsto l'utilizzo della:

- composizione, abbondanza e biomassa del fitoplancton.

La valutazione dello SE per gli HMWB nei casi studio si è dimostrata complessivamente di difficile applicazione per la difficoltà di definire i limiti tra le classi di SE, vagamente definite nella WFD.

Tuttavia anche se non sorrette da un'analisi scientifica robusta, le definizioni della WFD danno una chiara classificazione qualitativa di elevato, buono, sufficiente, scarso, pessimo. Al momento però la selezione delle condizioni di riferimento, fase cruciale del processo di identificazione, unito all'instabilità dello SE di certi WB produrrà discrepanze nella classificazione dello SE anche per la variabilità tra le differenti opinioni degli esperti.

### **Ipotesi sull'applicabilità dei diversi parametri indicatori di salubrità ambientale, in particolare per gli elementi qualitativi utilizzabili per classificare lo SE.**

L'applicazione di opportuni indicatori di qualità ambientale a vari casi studio ha permesso di testarne l'efficacia. Gli indicatori biologici infatti dovrebbero essere in grado di consentire una valutazione dell'ambiente del corpo idrico nella sua globalità, comprensivo quindi di tutte le matrici di cui è composto: acqua, materiale solido (solidi sospesi e sedimenti), biota.

Per l'occasione sono stati implementati vari indici che hanno mostrato diversi livelli di capacità di descrizione dell'ambiente considerato (HMWB e AWB). In particolare analizzando punto per punto gli elementi di qualità biologica presenti nell'Allegato V della WFD si possono trarre le seguenti conclusioni generali:

- Indici basati sulla composizione della flora acquatica
  - Fitoplancton: se ne considera la composizione e l'abbondanza, la biomassa media e le fioriture. Mostra elevate capacità di descrivere la qualità degli ambienti **lentic** nella loro globalità (acqua, materiale solido e biota). Tra i vari indici implementati a livello europeo il *French Index* e il *Brettum Index*, di cui si stanno ancora testando efficacia e possibilità di applicazione con opportune modifiche anche in Italia, sembrano avere adeguate caratteristiche di applicabilità.

- Macrofite: se ne considera la composizione tassonomica. Mostra capacità di descrivere il livello trofico di ambienti lotici. A livello europeo si sono implementati vari indici, ma le restrittive condizioni di applicabilità, la scarsa capacità descrittiva dell'ambiente nella sua globalità, la grande conoscenza tassonomica richiesta e l'elevato grado di soggettività ne rendono difficoltoso e non determinante l'utilizzo per indicare il livello di qualità ambientale.
- Fitobentos: se ne considera la composizione tassonomica. Mostra capacità di descrivere la qualità degli ambienti lotici nella loro globalità (acqua, materiale solido e biota).  
Anche in Italia si è implementato un indice di eutrofizzazione/polluzione (EPI-D) di cui si sta ancora testando l'efficacia e la possibilità di applicazione che non risulta di facile utilizzo, è però abbastanza standardizzata. L'applicabilità dell'indice è ristretta agli ambienti lotici con substrati ciottolosi (inutilizzabile con substrati limosi).

▪ Indici basati sulla composizione dei macroinvertebrati bentonici

Se ne considera la composizione e l'abbondanza tassonomica, il rapporto tra taxa sensibili e taxa tolleranti e il livello di diversità dei taxa. Sui macroinvertebrati bentonici sono stati implementati molti indici in grado di descrivere piuttosto bene la qualità degli ambienti lotici nella loro globalità (acqua, materiale solido e biota). In Italia si utilizza l'IBE (Indice Biotico Estesio) per valutare lo stato ecologico dei corsi d'acqua. L'utilizzo di tale indice presenta molti vantaggi tra cui: elevato livello di standardizzazione, semplicità di utilizzo, buon livello di descrizione ambientale, ampia applicabilità.

▪ Indici basati sulla fauna ittica

Se ne considera la composizione e l'abbondanza di specie, la presenza di tutte le specie sensibili e la struttura d'età delle comunità ittiche. Sulle comunità ittiche sono stati implementati vari indici a livello europeo capaci di descrivere piuttosto bene la qualità degli ambienti lentic e lotici nella loro globalità (acqua, materiale solido e biota). In Italia non è stato testato alcun indice ittiologico nonostante gli indubbi vantaggi degli stessi: buon livello di descrizione ambientale e l'ampia applicabilità; in questo caso il basso livello di standardizzazione e la difficoltà d'uso ne hanno precluso l'utilizzo.

## **Maximum Ecological Potential (MEP),**

Come indicato nel processo di designazione di HMWB e AWB è necessario identificare appropriate condizioni di riferimento e obiettivi ambientali (*step* 10 e 11 di Fig.2); mentre per le acque naturali il riferimento è l'*Hight Ecological Status (HES)*, per HMWB e AWB è il *Maximum Ecological Potential (MEP)* definito allo *step* 10 in Fig.2.

In accordo con la WFD, si definisce il MEP come lo stato in cui “i valori relativi ai pertinenti elementi di qualità biologica riflettono, nella misura del possibile, quelli associati al tipo di corpo idrico maggiormente comparabile, tenuto conto delle condizioni fisiche risultanti dalle caratteristiche artificiali o fortemente modificate del WB” (Allegato V, 1.2.5).

Le condizioni idromorfologiche, chimico-fisiche e biologiche sono altrettanto importanti per definire il MEP e devono “corrispondere totalmente o quasi alle condizioni inalterate associate al tipo di WB maggiormente comparabile al AWB o HMWB in questione”.

La definizione di MEP è certamente complessa e incerta, ma si può ricondurre sostanzialmente a due differenti approcci: il primo che si basa su condizioni di riferimento simili alla definizione di HES per le acque naturali, il secondo che enfatizza le misure di mitigazione e la loro identificazione come “*best environmental practice*” per differenti tipi di modificazioni relative ai diversi usi.

Linee guida inglesi suggeriscono una metodologia generale per selezionare i siti per il potenziale ecologico (o per lo stato ecologico); in pratica, considerati i numerosi casi studio

indagati, è estremamente difficile trovare corpi idrici confrontabili, quindi l'HES e il MEP vanno integrati per assicurare una stretta linea di demarcazione da non superare.

### Proposta di criteri per valutare il massimo potenziale ecologico (MEP)

La necessità di proporre criteri oggettivi per valutare il MEP si scontra con la mancanza di indici biologici ed ecotossicologici standardizzati e sufficientemente testati che possano essere utilizzati per descrivere la qualità degli ambienti idrici nel senso più ampio del termine.

In questa sede si proporrà un criterio metodologico utilizzabile per l'applicazione di indici che potrebbero essere definiti e standardizzati in un prossimo futuro per permettere l'assegnazione del MEP ai HMWB e AWB di volta in volta considerati.

- 1) si segue la procedura di identificazione, di designazione e di categorizzazione del WB considerato; se il corpo idrico non viene designato HMWB o AWB non si continua a seguire la procedura.
- 2) in base a come è stato designato e a quale categoria appartiene il corpo idrico considerato si individua il WB di riferimento, il relativo MEP e i relativi indici biologici.
- 3) si applicano al WB considerato gli stessi indici biologici utilizzati per il WB di riferimento per valutare lo stato ecologico; se si raggiunge la classe corrispondente al GEP non si segue più la procedura.
- 4) si descrivono gli elementi di qualità idromorfologica e fisico-chimica del WB per una migliore caratterizzazione dello stesso e per l'individuazione della matrice ambientale che fa rientrare il WB in una categoria di qualità ecologica più bassa.
- 5) si individuano indicatori biologici relativi alla matrice che sembra implicata nel non raggiungimento del GEP: acqua, materiale solido (solidi sospesi e sedimenti), biota sul quale si riapplicano test ecotossicologici.
- 6) in base ai test ecotossicologici effettuati si accerta la matrice ambientale che fa rientrare il WB in una categoria di qualità ecologica più bassa e l'entità dello scostamento.
- 7) si attuano le misure di ripristino ambientale necessarie.

### **Good Ecological Potential (GEP)**

Una volta definite le condizioni di riferimento con lo **stato ecologico elevato (HES)** e il **Massimo Potenziale Ecologico (MEP)**, uno degli obiettivi della WFD è il raggiungimento a dicembre 2015 del **GES** (*good ecological state*) per i corpi idrici naturali o del **GEP** (*good ecological potential*) per i corpi idrici designati HMWB o AWB.

Il **GEP** è definito come: *“Stato di qualità in cui sono consentiti lievi variazioni nei valori relativi ai pertinenti elementi di qualità biologica rispetto ai valori riscontrabili in una situazione di massimo potenziale ecologico; dove vi sono valori relativi agli elementi idromorfologici aventi condizioni coerenti con il raggiungimento dei valori sopra precisati per gli elementi di qualità biologica dove i valori degli elementi fisico-chimici della temperatura, del pH e delle concentrazioni di nutrienti non superano i livelli fissati per assicurare il funzionamento dell'ecosistema e il raggiungimento dei valori sopra precisati per gli elementi di qualità biologica.”*

Anche per il GEP esistono due differenti approcci: il primo basato sulla definizione di “piccolo cambiamento” del GEP rispetto al MEP soprattutto per i parametri biologici di qualità, il secondo basato su una selezione di misure di mitigazioni necessarie a mantenere il MEP entro valori di praticabilità e di realizzazione. Queste ultime misure sono considerate come la base per il Programma di Misure (POM) che incide, a volte notevolmente, sull'aspetto economico sia perché coinvolgono *stakeholders* sia perché promotrici di *good practice*.

## RISULTATI E DISCUSSIONI

### Stato di fatto dell'applicazione degli indicatori di salubrità ambientale a casi studio

In questi ultimi anni nei vari Paesi europei si sono promossi diversi studi su AWB e HMWB che hanno permesso di individuare gli indicatori più significativi da utilizzare nella valutazione dello SE. In Italia si è cercato con questo studio di indicare un percorso di lavoro che però ha trovato numerosi ostacoli nell'impreparazione e nella indisponibilità dei vari addetti, nella mancanza cronica di informazioni dedicate, nella carenza di studi specifici. I risultati che qui vengono presentati sono il frutto di una ricerca piuttosto impegnativa su materiale bibliografico e su alcune esperienze condotte con colleghi di alcune regioni d'Italia. In 13 dei 28 casi studio riguardanti fiumi europei sono state utilizzate quali elementi di qualità le “**macrofite/fitobentos**”. Le diverse situazioni evidenziano le diversità locali e la difficoltà di omogeneizzare la metodologia d'indagine.

Per valutare lo SE con le macrofite si sono considerati parametri specifici: composizione e abbondanza, stima della copertura, ricchezza in specie in funzione della loro distribuzione.

Nel caso di *Nestos* (GR) ad esempio, in presenza di una mancanza di dati sulla flora acquatica, sarebbe stato appropriato un preliminare monitoraggio della composizione e abbondanza delle macrofite effettivamente presenti. Nel caso dei fiumi *Rhur* e *Dhünn* (D), le macrofite sono state scartate come possibile elemento descrittore di qualità per la loro scarsa importanza. Per il *Hagmolenbeek* (NL) infine si è riscontrato essere maggiormente significativo il monitoraggio del fitobentos perchè i nutrienti rappresentano il fattore limitante.

Nel caso del fiume *Sarre* (F) l'analisi è basata sulla presenza/assenza di specie indicatrici di stato trofico, in particolare di eutrofia. Nel caso del fiume *Umealven* (S) la vegetazione spondale è stata confrontata con una zona di libero scorrimento del fiume, presa come riferimento. Gli elementi considerati includevano: la zonazione vegetazionale, l'ampiezza della zona ripariale, il numero di specie floristiche per unità di area, la copertura arborea e arbustiva e la copertura erbacea e ad arbusti nani. Per tutti gli elementi citati, la percentuale è risultata diversa a seconda dello stato naturale di riferimento considerato. Un approccio simile è stato usato nel caso del fiume *Kummel* (UK) dove il numero di specie e la percentuale di copertura della flora ripariale e della flora sommersa/flottante dell'area di studio è stato confrontato con un'altra zona lontana dagli impatti antropici.

Solo in 5 dei 28 casi studio riguardanti fiumi è stato utilizzato il **fitoplancton** come elemento di qualità. Per il fiume *Lagan* (UK) è stata espressa la necessità di avere dati dettagliati sul fitoplancton e sul fitobentos. Per il fiume *Sarre* (F) l'analisi del fitoplancton si è basata principalmente su indici espressione dell'eutrofizzazione (indici basati sui pigmenti “clorofilla a/feofitina” che considerano i blooms algali) e secondariamente su indici di qualità di specifiche popolazioni fitoplanctoniche (indici diatomici).

In tutti i casi studio sui fiumi sono stati utilizzati i **pesci** come elemento di qualità. A parte alcuni casi (fiume *Lagan* (UK) e fiume *Great Ouse* (UK)) non si sono riscontrate lacune nei dati relativi a questo indice di qualità. Nel Regno Unito (UK) non si sono eseguite analisi di routine per identificare variazioni nella densità, biomassa e ricchezza in specie della fauna ittica. In qualche caso sono stati inclusi i parametri: composizione/presenza di specie (frequentemente applicato); presenza di specie reofile tipiche, specie caratteristiche di fiumi a lento scorrimento, specie caratteristiche di acque stagnanti, abbondanza, struttura d'età.

In 23 dei 28 casi studio riguardanti fiumi si sono utilizzati come elemento di qualità i **macroinvertebrati bentonici**. Come riscontrato dagli autori della linea guida del Regno Unito (Booker e al. 2002a), alcuni campionamenti effettuati in UK-EW avevano rilevato la presenza di quantità insufficienti di macroinvertebrati bentonici per permettere l'applicazione

di test statistici sufficientemente robusti utilizzabili per il confronto con siti equivalenti appartenenti a corpi idrici naturali. È stato rilevato inoltre che, nonostante il grande sviluppo della rete di monitoraggio del Regno Unito, esiste una lacuna di dati relativi ai macroinvertebrati in questo come in altri paesi europei. Esclusa la valutazione della composizione e dell'abbondanza in specie, nei casi studio sono stati utilizzati vari metodi e indicatori.

In 6 dei 28 casi riguardanti fiumi (*Bregenzerach*, *Danube* e *Wienflus* (A), *Elbe* e *Ruhr* (D), e il fiume *Kennet* (UK)) si sono utilizzati solo macroinvertebrati bentonici e fauna ittica come elementi di qualità biologica. Il WFD CIS Guidance Document No. 4 2003 stabilisce infatti che per valutare lo stato ecologico ci si deve basare almeno su due elementi di qualità biologica in dipendenza della categoria d'acqua considerata e della disponibilità di dati. Riguardo a ciò il documento guida finale sui HMWB e AWB suggerisce che la preliminare valutazione dello stato ecologico si dovrebbe basare sugli elementi di qualità più sensibili rispetto alle alterazioni fisiche esistenti.

Per i laghi in 2 dei 3 casi si è utilizzato quale elemento di qualità il **fitoplancton**. I parametri di valutazione includevano: concentrazione, presenza di generi rappresentativi, contenuto di clorofilla (max e media annuale) e opinioni di esperti. In tutti i 3 casi si è utilizzato quale elemento di qualità anche “**macrofite/fitobentos**”. I parametri valutati includevano: numero di specie, aree sommerse vegetate a canneto (*Carex*), presenza di taxa sensibili al congelamento, copertura. Si sono utilizzati infine anche **macroinvertebrati bentonici** e **comunità ittica**.

In Italia si è lavorato sui corpi idrici: Naviglio Pavese, Canale Vacchelli a Cremona; Torrente Marroggia e Torrente Chiona in Umbria, Canale Anguillara e Canale Circondariale di Ferrara in Emilia Romagna.

I parametri di valutazione comprendevano, oltre ai parametri chimico-fisici, saggi di tossicità con *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia magna*, *Vibio bischeri*, test su macrofite, diatomee, macroinvertebrati bentonici (IBE), IFF, test algali.

Anche in questi casi si è evidenziata una grande variabilità tra le diverse situazioni che non hanno consentito una valutazione complessiva secondo quanto indicato dalla WFD.

## CONCLUSIONI

Il Progetto qui sinteticamente presentato aveva lo scopo di proporre una metodologia di raccolta di informazioni per identificare e designare gli HMWB e gli AWB come richiesto dalla WFD.

Il lavoro, condotto secondo la metodologia indicata anche dalla WFD Working Group on HMWB of the Common Implementation Strategy (CIS), ha preso in considerazione, oltre alle informazioni di base per la definizione di una proposta di linea guida, anche diversi casi nazionali.

I casi studiati hanno ben evidenziato che tra i differenti metodi dei Paesi considerati esiste una grande variabilità e un notevole grado di incertezza nelle procedure di identificazione e designazione di HMWB e AWB. Per questo è necessario e auspicabile proseguire il lavoro sia teorico che di campo e sviluppare ulteriori informazioni su “*best environmental practice*” per le modifiche a supporto delle differenti tipologie d’uso, sui tipi di misura necessari a definire il MEP e il GEP, a come estendere tali misure sulle pressioni dell’intero bacino e non solo sui corpi d’acqua e sui sedimenti contaminati.

Emerge anche la necessità di un maggior coordinamento e integrazione sulle richieste della WFD per identificare e designare i HMWB e AWB con l’analisi dei costi delle differenti operazioni, con la valutazione dei conflitti che si possono instaurare con la politica di pianificazione spaziale, con la politica energetica, con l’urbanizzazione e con la Direttiva per la conservazione della natura.

In Italia infine sarà necessario attivare forme di collaborazione tra Enti e di formazione necessarie per una rapida soluzione di un problema estremamente importante.

Metodo	Descrizione/Commenti	Paese
Analisi dell’integrità ecologica Önorm M 6232 adattato alla WFD	Parametri: inventario delle specie appartenenti ai macroinvertebrati bentonici, struttura di dominanza (specie o taxa superiori), biomassa, gruppi trofici funzionali, modelli di zonazione longitudinali, indice di qualità saprobico	A
Indice saprobico	La debolezza dell’indice saprobico deriva dal fatto che è utilizzato per valutare l’inquinamento primario ed è stato usato tal quale nell’implementazione di adeguati indici. In Germania è tuttora un problema definire adeguatamente lo stato ecologico usando i macroinvertebrati bentonici.	A, D
Indice per tipologie potamali	Questo indice trova applicazione nei larghi tratti potamali dei corsi d’acqua; non è quindi utilizzabile per tutte le sezioni di un corso d’acqua (inutilizzabile nelle sezioni prossime alla sorgente di un corso d’acqua)	D
Indice Rheo	Misura indicatrice delle condizioni di flusso tramite il rapporto di opportune specie con la loro affinità alla corrente idrica	D
AQEM	Metodo multiparametrico che valuta gli impatti ai quali è sottoposto un corso d’acqua in relazione alla morfologia, allo stato saprobico, e ad un altro parametro basato sullo stress. Il metodo AQEM necessita di dati quantitativi che non sono disponibili allo stato attuale. Comunque il metodo può essere applicato anche con i dati esistenti; ciò è stato fatto nel caso studio Rhur, Mulde e Dhünn e porta a risultati maggiormente realistici avvalendosi di giudizi di esperti. Il metodo soddisfa le richieste di valutazione rispetto alle condizioni di riferimento stabilite nella WFD per quella determinata tipologia di corpi idrici	D
Confronto tra le condizioni attuali e quelle pregresse	Parametri: composizione in specie, composizione nei gruppi funzionali, indici saprobici, indici di diversità (indice di Shannon)	D
IBGN (global biological index)	Basato sulla diversità tassonomica e su gruppi faunistici indicatori	F
EBEOSWA (Ecologische BEOordeling van Stromende Wateren)	Analisi statistica multivariata tra dati relativi ai macroinvertebrati bentonici e giudizi di esperti. È basato sull’abbondanza di specie e permette di distinguere tra specie generaliste e tipiche. Esso considera molti fattori ambientali e consente di classificare lo stato ecologico in cinque classi. Il metodo è comunque stato implementato sui fiumi olandesi, molti dei quali subiscono pressioni dovute ad attività antropiche. La qualità biologica risultante potrà portare ad una situazione corrispondente ad una qualità ecologica più elevata rispetto ad altri metodi di valutazione implementati in altri paesi. Il successivo	NL



	esercizio di intercalibrazione farà risaltare maggiormente le effettive differenze tra i vari paesi.	
RIVPACS system	Utilizzato per la generazione di liste di specie di un particolare sito che sono poi confrontate con un database di riferimento rispetto a siti aventi simili caratteristiche fisiche, ma considerati naturali. La differenza tra il sito preso in considerazione e i siti di riferimento inclusi nel database restituisce un punteggio indicante in che misura le pressioni antropiche generino impatti significativi. Non esiste un sistema di punteggio che correli le comunità di macroinvertebrati alle modificazione fisiche, sebbene uno possa essere sviluppato legando il RIVPACS con il River Habitat Survey (RHS) system. In assenza di questo, l'opinione di esperti, supportata da una lista di specie di riferimento e la conoscenza dei requisiti richiesti dalle specie nei vari habitat possono essere usati per valutare lo stato ecologico rispetto ai macroinvertebrati bentonici	UK
Presenza di taxa indicatori	Valutazioni basate sulla presenza di taxa indicatori come i Simuliidae, che richiedono flussi idrici costanti e una qualità dell'acqua "ragionevole". Dove la qualità dell'acqua è adeguata, la loro assenza può essere dovuta ad una scarsa velocità di flusso	UK
Indice biotico belga	Presenza/assenza di macroinvertebrati bentonici sensibili all'inquinamento e diversità dei gruppi di specie	B
Sistema di valutazione dei fiumi/stagni isolati basato sulle libellule	Non è strettamente un metodo basato sui macroinvertebrati bentonici. È un sistema di classificazione a cinque classi che sfrutta il seguente criterio: struttura di comunità (Indice di habitat degli Odonati, specie autoctone) e composizione tassonomica (numero di specie autoctone sensibili, abbondanza di specie autoctone). È legato agli habitat preferenziali delle libellule (Odonati). I tipi di habitat usati seguono un gradiente di connettività laterale con l'asta fluviale principale che alterna periodi di piena con altri in cui si formano stagni isolati	A
Combinazione di: numero di taxa, numero di individui m <sup>-2</sup> , indice di diversità di Shannon	-	S
Criteri di esperti	-	E, F
Indice BMWP (Biological Monitoring Working Party)	-	UK
BMWP (per la Spagna)		E

## **BIBLIOGRAFIA**

Morosi, A., Mossone, M., Cingolani, L., Ciccarelli, E., Uzzoli, C., 1995. Bacino imbrifero del Fiume Tevere. Indagini sulla qualità delle acque superficiali, 1977-1993.

AA.VV, 2002. Atti del Convegno L'indice di funzionalità fluviale Il caso di studio del Ticino ed altre esperienze italiane. Milano 7 novembre 2002.

Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente 2000. IFF Indice di funzionalità fluviale. Roma: ANPA, 2000.

APAT IRSA-CNR, 2003. Metodi Analitici per le acque. Man 29/03.

APHA, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition

AQEM. Stream assessment methods, stream typology approaches and outliners of a European stream typology

ARPA – Umbria, 2002. Progetto V.E.I.DE. Verifica dell'efficienza degli impianti di depurazione.

ARPAT, 1998. Metodologia di saggio algale per il controllo dei corpi idrici e delle acque di scarico.

Attilio, A, Galassi, S., Gazzella, L., Sara, V., Luigi, V., 2001. Messa a punto di protocolli per valutare tossicità e bioaccumulabilità. ANPA, ARPA Centro Tematico Nazionale acque interne e marino costiere.

Battegazzone, M, Morisi, A., Un nuovo metodo per la valutazione della qualità delle acque dal sito [www.arpa.piemonte.it](http://www.arpa.piemonte.it)

Blondel, J., Ferry, C., Frochot, B., 1970. Le methode des Indices Ponctuels d'Abondance (I.P.A.) ou des relevés d'avifaune pour "stations d'ecoute". Alauda, 38:55-71.

Brichetti, P., Massa, B., 1998. Check-list degli uccelli italiani aggiornata a tutto il 1997. Riv Ital Orn, 68,129-152.

Campatoli, S., Ghetti, P.F., Minelli, A., Ruffo, S., 1994. Manuale per il riconoscimento dei macroinvertebrati delle acque dolci italiane. Trento: Provincia Autonoma di Trento.

Cappelletti, C., Ciutti, F., 2001. Le diatomee usate come bioindicatore , in Idrobiologia/progetti in Terra Trentina 7/2001 Mensile di economia e tecnica dell'agricoltura – Organo dell'Assessorato provinciale all'agricoltura di Trento.

Cappelletti, C., Ciutti, F.,Torrise, M., 2002. Diatomee epilittiche e qualità biologica del torrente Noce (Trentino) in Atti del Seminario "Nuovi orizzonti dell'ecologia", Trento 18-19 aprile.

Carta Ittica della Regione Umbria 1996.Bacino del F. Nestore

Ciutti, F., 2003. Monitoraggio dei corsi d'acqua con indicatori algali, in Atti del corso di aggiornamento: le acque superficiali e i sedimenti Annali ISS.

Consiglio Nazionale delle Ricerche, 1976-1984. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. (Collana del progetto finalizzato "promozione della qualità dell'ambiente"). Verona: CNR.

Consiglio Nazionale delle Ricerche, 1994. Metodi analitici per le acque. Roma: CNR. (Quaderno 100).

Cramp, S., Simmons, K.E.L., 1980. The birds of the Western Palearctic. Oxford: Oxford University Press. Vol II.

Dell'Uomo, A., Grandoni, P., 1997. Diatomee e qualità dell'acqua: biomonitoraggio del fiume Sentino bacino del fiume Esino, Marche in atti del VIII congresso nazionale della società italiana di ecologia, Parma, 10-12 settembre.

Dell'Uomo, A., 1992. Diatomées de quelques tourbières du Nord de l'Italie et leur réponse dans différentes conditions du milieu ambiant Nova Hedwigia 54 3-4 Stuttgart, May.

Dell'Uomo, A., 1986. Diatoms and other algae from the thermal-sulphur spring of Triponzo (Central Italy) Arch. Hydrobiol. Suppl. 73,1 (Algological Studies 42) Stuttgart, April.

Dell'Uomo, A. Il ruolo delle diatomee nella valutazione della qualità delle acque correnti. Dipartimento di Botanica ed Ecologia dell'Università di Camerino

Dell'Uomo, A., 1999. Pensieri Antonella, Corradetti Daniela Diatomées épilithiques du fleuve Esino (Italie centrale) et leur utilisation pour l'évaluation de la qualité biologique de l'eau Cryptogamie, Algol.

Di Capua, E., Giacco, M., Gori, L., Sbrilli, G., 2001. Determinazione della tossicità dei sedimenti portuali con *D.tertiolecta* e *V. fischeri*. Biologi Italiani.

EPA, 1991. Evaluation of dredged material proposed ocean disposal-Testing Manual: Department of the Army U.S. Army Corps of Engineers. EPA, 503/8-91/001.

EPA, 1994. Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwaters Organisms.

Fernández-Juricic, E., Jokimäki, J., 2001. An habitat island approach to conserving birds in urban landscapes: case studies from southern and northern Europe. Biodivers Conserv 10, 2023-43.

Ferry, C., Frochot, B., 1970. L'avifaune nidificatrice d'une forêt de chênes pedunculés en Bourgogne: étude de deux successions écologiques. Terre et Vie; 2, 153-250.

Fuller, R.J., Langslow, D.R., 1984. Estimating numbers of birds by point counts: how long should counts last? Bird Study; 31,195-202.

Gazzetta Ufficiale n.246 del 20 /10/2000.Testo aggiornato del Decreto legislativo n.152/99.

Ghetti, P.F., 1997. Indice Biotico Esteso (IBE). I macroinvertebrati nel controllo della qualità degli ambienti di acque correnti. Trento: Provincia Autonoma di Trento, Agenzia Provinciale per la protezione dell'Ambiente.

Ghetti, P.F., 1995. Indice Biotico Esteso (IBE). Notiziario dei Metodi Analitici, 1-24.

Grandoni, P., Dell'Uomo, A., 1996. Biomonitoraggio dell'alto corso de fiume Potenza (Marche) mediante impiego di diatomee Riv. Idrobiol., 35, 1/2/3.

Gucci, P.M.B., Bruno, M., Viglione, D., Carlini, E., Volterra, L., 1991. Possibilità di impiego del "MICROTOX" con particolare riferimento agli studi ambientali. Inquinamento 9, 82-4.

IRSA -CNR, 1995. Notiziario dei Metodi Analitici .ISSN, 0392-1425.

IRSA-CNR, 1994. Metodi Analitici per le acque. Quaderni n.100.

IRSA-CNR, 2000. Caratterizzazione dei sedimenti e qualità ecologica nel Fiume Po. Quaderni 113.

Istituto Superiore di Sanità. Aspetti igienico sanitari ed ambientali delle acque, Articolodi Laura Mancini "Indici biologici e bioindicatori: valutazione dello stato ambientale delle acque.

Seele, J. Mayr, M., Staab, F., Raeder, U., 2000. Combination of two indication systems in pre-alpine lakes diato index and macrophyte index Ecological modelling, Elsevier Science.

Kelly, M.G., 1998. Use of the trophic diatom index to monitor eutrophication in rivers Pergamn, Wat. Res Vol 32, Elsevier Science

Leclercq, L. Interet et limites des methodes d'estimation de la qualite de l'eau - Station scientifique des Hautes-Fagnes Robertville Belgique

LIPU, WWF, 1999. Nuova lista rossa degli uccelli nidificanti in Italia. Riv Ital Orn 69,3-43.

Lloyd, M., Ghepard, R.J., 1964. A table for calculating the "Equitability" component of species diversity. J. Animal. Ecol. 33, 217-225.

MacArthur, R.H., MacArthur, J.W., 1961. On bird species diversity. Ecology 42, 594-8.

Mancini, L., Formichetti, P., Andreani, P., Baiocco, F., Catena, C., Damiani, F., Gramigna, C., Munafò, M., Pietrangeli, B., Sacchetta, C., Pancioni, L., Arcà, G., 2000. Carta della qualità biologica dei corsi d'acqua della Regione Lazio. Roma: Istituto Superiore di Sanità, Regione Lazio.

Mancini, L., Formichetti, P., Deschetti, E., Bernabei, S., Rossi, A., Angelone, E., Giucca, F., Dominaci, A., Bovina, G., Callori di Vignale, C., Pancioni, L., Ottavini, M., 1999. Definizione di un protocollo di monitoraggio per la valutazione della qualità ecologica delle acque superficiali di un'area protetta dell'Italia centrale (Parco Regionale dell'Appia Antica -

Roma). In: Gestione del territorio. Gestione del rischio idrogeologico e bonifica dei siti contaminati. Milano: Gruppo Scientifico Italiano Studi e Ricerche, p. 82-90.

Morpurgo, M., 1996. Bioindicatori Descrizione sintetica del Saprobienindex in *Biologia Ambientale*, 2-3.

Oelke, H., 1980. The bird structure of the central european spruce forest biome - as regarded for breeding bird censuses. *Proceedings of the 4rd International Conference Bird Census Work*. Göttingen (Germany). 1980, p. 201-9.

Pielou, EC., 1996. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J Theor Biol*. 13, 131-44.

Provincia Autonoma di Bolzano. Dipartimento per la natura e l'ambiente, urbanistica, informatica, acque pubbliche e energia – Rilevamento ecomorfologico delle acque correnti in Alto Adige. Perido d'indagine 1996-2000 a cura di Alberta Scenico.

Provincia Autonoma di Trento, Agenzia provinciale per la protezione dell'ambiente - Atlante per il riconoscimento dei macroinvertebrati dei corsi d'acqua italiani – Realizzazione scientifica di G. Sansoni; prefazione P.F. Ghetti

Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates, and Fish, Second Edition EPA

Regione Umbria, 1997. Piano di Risanamento delle acque.

Regione Umbria, ARPA Umbria, AUR, 2004. Relazione sullo stato dell'ambiente in Umbria. Stampa a cura di ARPA Umbria.

Sansoni, G., 1988. Macroinvertebrati dei corsi d'acqua italiani. Provincia Autonoma di Trento. Servizio protezione ambiente.

Sartori, F., 1998. Bioindicatori ambientali, ricerche e risultati, valutazione dei progetti di ricerca 94/97, Fondazione Lombardia per l'Ambiente .

Sbrilli, G., Liberti, A., Caldini, G., Corsini, A. 1998. Metodologia di saggio algale per il controllo dei corpi idrici e delle acque di scarico. Cedif ARPAT.

Shannon, CE., Weaver, W., 1963. *Mathematical theory of communication*. Urbana (Illinois): University of Illinois Press.

Siligardi, M., Maialini, B., 1993. L'inventario delle caratteristiche ambientali dei corsi d'acqua alpini. Guida all'uso della scheda R.C.E.-2. *Biologia ambientale*, 2.

sito internet del Progetto PAEQANN

sito internet dell'ARPA Piemonte

sito internet dell'Università di Camerino

Sorace, A., Colombari, P., Cordiner, E., 1999. Bird communities and EBI (Extended Biotic Index) in some tributaries of the Tiber river. *Aquatic Conservation. Marine and Freshwater ecosystem* 9, 279-90.

Sorace, A., Gustin, M., Calvario, E., Ianniello, L., Sarrocco, S., Carere, C., 2000. Assessing bird communities by point counts: repeated sessions and their duration. *Acta Orn;* 35, 197-202.

Sorace, A., 2001. Value to wildlife of agricultural urban parks: a case study from Rome urban area. *Environmental Management* 28, 547-60.

Tachet, H., Bournaud, M., Richoux, P., 1987. Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces. Lyon (France): Université de Lyon.

Torrise, M., Dell'Uomo, A., 2001. Les diatomées benthiques des parties rhithrales et potamales des cours d'eau de l'Apennin central (Italie) et leurs significations écologiques *Algological Studies* 102, Stuttgart, August.

Tucker, GM., 1994. Heath MF. *Birds in Europe: their conservation status*. Cambridge: BirdLife International. BirdLife Conservation Series 3.

Turcek, FJ., 1956. Zur Frage der Dominanz in Vogelpopulationen. *Waldhygiene* 8, 249-57.

UNI EN 28692, 1994. Qualità dell'acqua. Prova di inibizione della crescita di alghe di acqua dolce con *Selenastrum capricornutum*.

UNI EN ISO 11348-3, 2001. Qualità dell'acqua. Determinazione dell'effetto inibitorio di campioni acquosi sull'emissione di luce di *Vibrio fischeri*.

UNICHIM, 1999. Linee guida per la classificazione biologica delle acque correnti superficiali – manuale, 191

Wayne, S.D., Thomas, P. S. *Biological assessment and criteria Tools for water resource planning and decision making*. Lewis Publishers

Woodiwiss, FS., 1978. *Biological water assessment methods*. United Kingdom: Severn Trent River Authorities.

[www.cisba.it](http://www.cisba.it)

Zerunian, S., 2002. Condannati all'estinzione? Biodiversità, biologia, minacce e strategie di conservazione dei pesci d'acqua dolce indigeni in Italia, Edagricole, Bologna

Zerunian, S., 1982. Una proposta di classificazione della zonazione longitudinale dei corsi d'acqua dell'Italia centro-meridionale. *Boll. Zoo.* 49(Suppl.), 200-16.





## **Attuazione Programma PR1/A**

**Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque, con particolare riferimento all'applicazione del D.L.152/99**

### **Sottoprogetto**

**Analisi dello stato dell'arte degli indicatori biologici su acque lacustri e correnti**

**Responsabile scientifico: Dott.ssa Laura Mancini (ISS – Laboratorio di Igiene Ambientale), Dott. Claudio Fabiani (APAT – Servizio Tutela delle Risorse)**



**Autori: Laura Mancini (ISS), Claudio Fabiani (APAT)**

**Collaborazioni con istituzioni esterne:** Università di Roma La Sapienza, Istituto Agrario San Michele all'Adige, sistema APAT-ARPA- APPA.

**Unità operativa:** Laura Mancini, Paolo Formichetti, Alberto Sorace, Elio Pierdominici, Anna Maria D'Angelo, Marcello Iaconelli, Giuliano Cecchi, Stefano Larsen, Maria Elena Beltrami, Giorgio Pace, Stefania Marcheggiani, Valentina Della Bella, Tatiana Notargiacomo, Marco Le Foche, Cristina Cappelletti, Francesca Ciutti, Anna Testi, Giuliano Fanelli, e Sara Risceglie, Marco Lestini.

## ABSTRACT

Nell'ambito del sottoprogetto "Analisi dello stato dell'arte degli indici biologici su acque lacustri e correnti", le attività sviluppate dall'Istituto Superiore di Sanità si sono articolate in tre fasi nell'arco di 24 mesi: 1) Individuazione dei criteri nella scelta dei siti di monitoraggio. Raccolta e analisi dei dati pregressi e scelta delle metodologie analitiche idonee. Organizzazione e avvio delle attività sperimentali; 2) Sviluppo delle attività sperimentali e di monitoraggio; e 3) Conclusione delle attività sperimentali, acquisizione e rielaborazione dati. L'obiettivo principale è stato l'individuazione di parametri indicatori e la messa a punto di metodi per la valutazione e prevenzione del rischio sulle acque e sugli ecosistemi nell'applicazione del D.Lgs 152/99, e successive integrazioni, e nel recepimento della Direttiva 2000/60/CE. Inoltre è stata effettuata una sperimentazione di metodologie biologiche basate sull'analisi dei macroinvertebrati, delle diatomee e della flora spondale e retro spondale delle acque correnti.

Le attività sperimentali sono state effettuate nell'area del bacino idrografico del Fiume Tevere poichè esso è uno dei bacini pilota per la sperimentazione della Water Framework Directive 2000/60. Oltre all'asta principale del fiume Tevere, sono stati individuati a rappresentare tipologie fluviali diverse il fiume Aniene, il fiume Treja e il fiume Farfa.

La sperimentazione di nuovi indicatori, quali quelli basati sull'analisi delle diatomee (EPI-D) e della flora spondale e retro spondale (Elleberg ed Emerobia) delle acque correnti, ha evidenziato risultati complementari con quelli più consolidati emersi dall'analisi dei macroinvertebrati (IBE), mostrando un quadro di informazioni aggiuntive in grado di completare ciò che emerge dalla sola analisi della comunità bentonica, come previsto dal D.Lgs 152/99.

Dai risultati emerge comunque ancora la necessità di standardizzare queste nuove metodologie.

Lo studio ha messo in evidenza i pregi dell'approccio integrato, in un'analisi di valutazione della qualità delle acque superficiali, in grado di fornire un quadro più dettagliato dello stato ecologico del sistema analizzato. Pertanto tale studio fornisce un valido contributo all'applicazione del D.Lgs 152/99 e al recepimento della Direttiva Europea 2000/60/CE.

## INTRODUZIONE

Le attività sviluppate dall'Istituto Superiore di Sanità nell'ambito del progetto denominato "Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all'applicazione del D. Lgs. 152/99" hanno previsto la raccolta delle informazioni disponibili a livello nazionale ed europeo per gli indicatori biologici delle acque fluviali e lacustri e l'individuazione degli elementi di formazione per il trasferimento delle competenze e le priorità nella ricerca applicata al fine dell'attuazione delle norme nazionali ed europee.

Il sottoprogetto denominato "Analisi dello stato dell'arte degli indici biologici su acque lacustri e correnti" si è sviluppato nell'arco di 24 mesi e si è articolato in tre fasi.

Questa relazione sintetica illustra brevemente le fasi del progetto. Si è partiti innanzitutto dallo stato dell'arte per l'individuazione dei siti di monitoraggio ai sensi del D. Lgs 152/99 facendo particolare attenzione alla direttiva europea 2000/60 ed integrando i due approcci ove possibile. Nei siti preidentificati sono state svolte attività sperimentali su alcune componenti biotiche dell'ecosistema fluviale (macroinvertebrati, macrofite e diatomee) al fine di sperimentare metodologie trasferibili ai tecnici preposti al monitoraggio. Nell'ambito di questo sottoprogetto è stato inoltre fatto lo stato dell'arte degli indicatori delle acque lacustri. Infine

Nel dettaglio le attività previste sono state articolate in una fase preliminare e tre fasi del progetto di seguito elencate:

-Fase Preliminare: individuazione dei criteri nella scelta del numero e della localizzazione dei siti di monitoraggio.

-Fase I: Pianificazione e programmazione (scelta dei siti di intervento). Raccolta e analisi dei dati pregressi. Organizzazione della base informativa. Scelta delle metodologie analitiche acquisizione strumentazione delle conoscenze attinenti. Organizzazione e avvio -delle attività sperimentali

-Fase II: Sviluppo delle attività sperimentali e di monitoraggio.

-Fase III: Conclusione delle attività sperimentali, acquisizione e rielaborazione dati.

In questa relazione sintetica verranno riportati i risultati relativi alla sola sperimentazione dei metodi biologici mentre la descrizione dettagliata delle attività complessive svolte nell'ambito del progetto è riportata nella relazione integrale.

## OBIETTIVI

Pur essendo le acque correnti e i laghi i corpi idrici soggetti a frequenti studi e monitoraggi è necessario approfondire alcuni aspetti metodologici non sufficientemente definiti nelle norme di riferimento. Le metodologie previste dal Decreto lg.vo 152/99 e successive integrazioni per la classificazione dei laghi sulla base del loro stato di qualità chimica, ecologica ed ambientale presentano alcuni aspetti critici evidenziati da alcune esperienze in campo. In particolare devono essere approfonditi i criteri di selezione delle stazioni di monitoraggio e la validità generale, indipendente cioè dalla natura e tipologia del corpo lacustre, di alcuni indicatori essenziali come ad esempio quelli biologici.

E' inoltre necessario riconsiderare alcuni indici già sviluppati e testati sul territorio nazionale che possono rappresentare una valida alternativa in tema di classificazione della qualità. Inoltre è necessario approfondire l'applicabilità di nuovi indicatori biologici per le acque lacustri e correnti anche nella prospettiva del recepimento della Direttiva Quadro 2000/60/CE. A tal proposito sono stati predisposti protocolli di ricerca al fine di consentire una prima standardizzazione delle metodiche utilizzate e in seguito curare il trasferimento agli operatori territoriali come per le diatomee e le macrofite.

La presenza di indici ed indicatori biologici è ben codificata per le acque correnti, soprattutto per i macroinvertebrati bentonici, dove la letteratura è ricca sia di esperienze che di metodi a partire dall'inizio del secolo, mentre per quanto riguarda le lacustri vi è la tendenza ad utilizzare indici di stato trofico che hanno una grande tradizione per questa tipologia di acque, nonostante siano noti in letteratura alcuni indici biologici che si basano su alcune componenti della comunità .

Gli obiettivi generali e specifici del progetto sono stati:

1. Individuazione di parametri indicatori e messa a punto di metodi per la valutazione e prevenzione del rischio sulle acque e sugli ecosistemi.
2. La definizione di uno schema operativo per la predisposizione di linee guida e documentazione tecnica;
3. La definizione delle priorità metodologiche e delle procedure operative;
4. La individuazione delle attività sperimentali necessarie allo svolgimento del progetto di monitoraggio;
5. verifica della validità dei criteri di monitoraggio e classificazione previsti dal decreto 152/99 in confronto a diverse e significative esperienze nazionali;
6. Verificare la migliore integrazione degli indicatori chimici, biologici e morfologici riferiti alle diverse componenti del sistema (acqua, sedimenti e biota).

## MATERIALI E METODI

In sintesi, il programma complessivo delle attività si è articolato nella a) messa a punto delle procedure e di metodi per alcuni indicatori biologici; b) nel rapporto sullo stato delle conoscenze in termini d'indicatori di qualità per le diverse tipologie di laghi e c) nella sperimentazione di metodologie biologiche con macroinvertebrati, diatomee e flora spondale e retro-spondale delle acque correnti.

Sono di seguito illustrati i siti identificati per la sperimentazione e le metodologie con cui sono state svolte le attività sperimentali sulle componenti biotiche dell'ecosistema fluviale: i macroinvertebrati, le macrofite e le diatomee.

### Siti identificati per la sperimentazione dei metodi biologici

Le attività sperimentali di campo sono state effettuate nell'area del bacino idrografico del Fiume Tevere. Quest'ultimo è uno dei bacini pilota per la sperimentazione della Water Framework Directive 2000/60. A questo proposito, oltre all'asta principale del fiume Tevere, sono stati individuati a rappresentare tipologie fluviali diverse il fiume Aniene, il fiume Treja e il fiume Farfa.

#### *Il fiume Tevere*

L'indagine è stata condotta su quattro stazioni dell'asta principale (Passo Corese - PC, Castel Giubileo - CG, Magliana - MA e Mezzocamino - ME). La stazione Passo Corese è sita a circa 20 Km a monte della città di Roma. Il territorio circostante è adibito a coltivazioni agricole e la vegetazione perifluviale è limitata ad una ristretta fascia arborea, spesso discontinua. La prima stazione localizzata all'interno della città di Roma, Castel Giubileo, si trova a valle di uno sbarramento idroelettrico, i cui rilasci causano frequenti oscillazioni della portata e del livello dell'acqua. L'area circostante è caratterizzata da coltivazioni e sporadiche aree urbanizzate, mentre la fascia perifluviale è caratterizzata da vegetazione riparia arborea discontinua. La stazione Magliana è localizzata a monte del depuratore "Roma Sud". L'area circostante è principalmente agricola con qualche insediamento urbano. La fascia di vegetazione riparia, arborea ed arbustiva, è molto stretta e discontinua. La stazione Mezzocamino è localizzata a valle del depuratore ROMA SUD in un'area principalmente agricola. La fascia di vegetazione perifluviale, stretta e spesso interrotta, è arborea. Il detrito risulta frequentemente anaerobico. In tutte le stazioni l'alveo del Tevere mostra le caratteristiche dei tratti planiziali: sedimenti sabbiosi o limosi, corrente uniforme, assenza di meandri. Il periphyton è generalmente sviluppato, mentre le macrofite acquatiche sono rare. La larghezza dell'alveo è stimata tra i 40 e i 60 metri.

#### *Il fiume Aniene*

Sul fiume Aniene, affluente di sinistra del Tevere con confluenza all'interno della città di Roma, è invece situata la stazione Ponte Mammolo. L'area circostante la stazione di campionamento è urbanizzata con sporadiche aree coltivate e presenta una fascia riparia arbustiva. I sedimenti sono sabbiosi e spesso il detrito è anaerobico. L'alveo, largo 8-10 metri, presenta una sezione naturale, mancano raschi e pozze, la corrente è uniforme.

#### *Il Fiume Treja*

Il fiume Treja è un affluente di destra del fiume Tevere nel quale confluisce a quota m 35 s.l.m. con foce nel comune di Civita Castellana. Nasce con il nome di fosso S. Bernardo a quota m 250 s.l.m. lungo le pendici orientali del Monte del Lagusiello, colle che cinge ad oriente il lago di Bracciano. Lungo il suo corso di km 36,25 riceve numerosi affluenti tra i

quali ricordiamo il fosso della Mola di Magliano, fosso della Bonatella, fosso della Mola, fosso di Stabia, fosso Citernella, fosso della Ceppeta (in destra idrografica); fosso Cerreto, fosso del Ponte o di Castello, Rio Filetto, fosso S. Anselmo. Il bacino del fiume ha un'estensione di circa 490 km<sup>2</sup> e comprende la città di Civita Castellana ed i paesi di Faleria, Calcata, Mazzano Romano, Nepi, Magliano Romano, Campagnano di Roma, Monterosi, Sutri, Bassano di Sutri, Caprinica, Ronciglione e Caprarola. Geologicamente il bacino si estende su un'area principalmente vulcanica, interessata dall'apparato dei terreni vulcanici sabatini nel settore meridionale, da quello dei terreni vulcanici vicani nel settore settentrionale. Entrambe le zone sono caratterizzate dalla presenza di tufi e lave. In minima parte si riscontrano terreni sedimentari. L'area è principalmente collinare e a tratti incisa profondamente dai corsi d'acqua che creano il tipico paesaggio etrusco caratterizzato da forre e tufo. È coperta per circa il 30% da boschi, il 15% è adibita al pascolo ed il restante territorio all'attività agricola. (Ventriglia, U., 1989): Il tratto di fiume compreso tra i comuni di Mazzano Romano e Calcata scorre all'interno del Parco Suburbano Valle del Treja. La prima stazione di campionamento è stata scelta in località Mola di Monte Gelato, presso Castellaccio, circa 3 Km a sud-ovest di Mazzano Romano. Qui, in prossimità di un vecchio mulino, il fiume si suddivide a formare varie cascatelle, per poi inoltrarsi nella forra. La vegetazione riparia è costituita principalmente da olmi, noccioli, cerri. L'area circostante è adibita all'agricoltura. Nel sito di campionamento il substrato è costituito prevalentemente da massi e ciottoli che, insieme alle cascate, creano una elevata turbolenza al flusso del fiume. A tali tratti si alternano zone di pozza più profonde, con turbolenza limitata e sedimento ghiaioso. La profondità media è di circa 60 cm, la ritenzione della materia organica è elevata per la presenza in alveo di rami e massi. Si può notare localizzata presenza di schiuma in acqua. La seconda stazione è situata a monte di Calcata. Il fiume scorre in una stretta valle boschiva ad elevata naturalità. La vegetazione riparia costituita da ontani, cerri, carpini, noccioli e arbusti vari è ben sviluppata ed ampia. L'alveo del fiume ha una larghezza di circa 7m; il substrato è costituito da massi, ciottoli, ghiaia e determina una continua alternanza di raschi e pozze. Sul detrito più grossolano il periphyton è ben sviluppato e costituito principalmente da muschi. La ritenzione della materia organica è mediamente elevata. Il terzo sito di campionamento è stato scelto a monte della città di Civita Castellana, prima della confluenza col Rio Vicano. In questo tratto del fiume la morfologia della valle non subisce notevoli cambiamenti rispetto alla stazione precedente e mostra sempre una elevata naturalità. L'area perifluviale presenta invece una più ristretta fascia di vegetazione riparia, a causa della più sviluppata attività agricola e zootecnica circostante. In alveo il substrato è costituito principalmente da sabbia, limo e ciottoli che creano alternanza di raschi e pozze con predominanza di tratti a turbolenza limitata. La profondità è piuttosto variabile, essendoci pozze che superano il metro e tratti in cui il livello dell'acqua è di circa 50cm. L'ultima stazione si trova a valle di Civita Castellana, nei pressi di una fabbrica di ceramiche. L'attività antropica industriale e agricola sviluppate nella adiacenze del fiume limitano l'ampiezza della fascia di vegetazione perifluviale, costituita da salici, pioppi, sambuchi e arbusti. La larghezza raggiunge circa i 7m, la profondità è di circa 50cm. Il substrato è principalmente sabbioso-limoso con presenza di ciottoli e la turbolenza limitata. La trasparenza dell'acqua è spesso limitata dal detrito tufaceo in sospensione.

### *Il Fiume Farfa*

Il fiume Farfa, affluente di sinistra del Tevere, prende origine dalla confluenza in località Ponte Buida del Fosso della Mola e del Fosso delle Mole e dall'apporto idrico delle sorgenti "Le Capore" nei pressi di Frasso Sabino. Gli affluenti principali sono il Fosso Montenero ed il Fosso di Salisano, sulla destra idrografica, il Fosso Riana sulla sinistra.

La continuità idrologica del fiume risulta altamente modificata a causa di captazioni e deviazioni idriche: l'acqua che scaturisce dalla sorgente "Le Capore" è in gran parte convogliata verso Roma; a valle della confluenza col Fosso Riana il corso del fiume viene deviato verso una centrale idroelettrica in località Baccelli. A valle della traversa il fiume è principalmente alimentato da tratti di risorgiva.

Il Farfa confluisce nel Tevere in prossimità di Nazzano, all'interno della Riserva Naturale Tevere-Farfa, zona umida di interesse internazionale creata da uno sbarramento sull'asta del Tevere a scopi idroelettrici.

L'area attraversata dal Farfa è collinare e ampiamente adibita alla pratica agricola e alla coltivazione degli ulivi.

La prima stazione di campionamento è localizzata nelle vicinanze delle sorgenti "Le Capore". La zona presenta una elevata naturalità e la fascia riparia è ben sviluppata. È costituita da cerri, pioppi, ontani, noccioli. L'alveo ha una larghezza di circa 4m e la profondità media del fiume è di circa 40cm. Le acque appaiono cristalline, il substrato è costituito da ciottoli e massi che conferiscono alle acque una moderata turbolenza. Il detrito organico è grossolano e viene per la maggior parte trattenuto da rami e massi presenti in alveo.

Il secondo sito si trova presso Monte S.Maria, nel comune di Poggio Nativo. L'area è altamente coltivata, ma il fiume e le zone adiacenti mantengono una buona naturalità. A monte del sito il fiume riceve lo scarico di un piccolo depuratore. La vegetazione riparia è costituita da pioppi, ontani e arbusti. L'alveo bagnato ha una larghezza di circa 3m, la profondità media è di 40-50cm. Il substrato è prettamente ciottoloso e si alternano tratti di pozza e raschio, sebbene la turbolenza rimanga nel complesso limitata.

La stazione successiva, nei pressi di Granica di Castelnuovo di Farfa è caratterizzata da una limitata fascia di vegetazione riparia oltre la quale estese sono le zone coltivate. Si riscontra la presenza di salici, rovi, giunco. L'alveo bagnato largo circa 4m, mentre quello di piena può raggiungere in alcuni tratti anche i 10m, data la presenza di evidenti zone di alveo in secca ed inondabili durante le piene. Il substrato è ciottoloso e sabbioso vicino le sponde, la profondità media dell'acqua è di circa 40cm, il flusso laminare.

Il quarto sito di campionamento è a valle della centrale idroelettrica dell'ENEL denominata Baccelli. Parallelamente al fiume scorre un canale artificiale per l'irrigazione dei campi coltivati. La fascia di vegetazione perifluviale è estremamente ridotta e composta da saliceto e giunchi. La larghezza dell'alveo è di circa 3m con tratti potenzialmente esondabili durante le piene. Il substrato è costituito da ciottoli, massi e limo. Nei tratti adiacenti le sponde. La profondità varia tra i 40cm e circa 1m in corrispondenza di pozze. Il flusso si mantiene per lunghi tratti laminare e diviene turbolento in prossimità di un breve tratto a maggior pendenza. Nelle prime quattro stazioni l'acqua è limpida e sui ciottoli è visibile e percettibile al tatto la presenza di periphyton algale marroncino costituito principalmente da diatomee. L'ultimo campionamento viene effettuato in località Ponte Sfondato, a valle di un impianto di lavorazione di materiali edili. La zona adiacente al corso del fiume è adibita alla coltivazione di grano e la vegetazione riparia si limita a poco più di una fila di salici o pioppi. L'alveo è largo circa 3m, il substrato è costituito da ciottoli, in gran parte ricoperti da muschi, e limo. Il flusso è mediamente turbolento e l'acqua è torbida per la presenza di detrito in sospensione probabilmente derivante dall'impianto di lavorazione presente a monte.

### La comunità macrobentonica

La raccolta dei macroinvertebrati bentonici è stata condotta seguendo la metodologia standard (UNI EN 27828, 1994), riportata in Ghetti (1997). Il campionamento è stato effettuato usando un retino immanicato di dimensioni standard (25 x 40 cm e 20 maglie per centimetro). Dopo un primo riconoscimento sul campo, gli organismi sono stati conservati in provette con etanolo al 95% e portati in laboratorio per un più accurato smistamento e per l'identificazione tassonomica. Per ogni stazione campionata è stata compilata una scheda in cui sono state riportate le caratteristiche del sito, la lista faunistica e il relativo valore dell'indice IBE calcolato, con la classe di qualità ad esso attribuita. L'Indice Biotico Esteso (IBE) (Ghetti, 1997) è un metodo che fornisce una valutazione sintetica della qualità ambientale di un corso d'acqua basandosi sulla composizione della comunità di macroinvertebrati bentonici. Il punteggio assegnato tramite l'IBE può essere tradotto in cinque classi di qualità, ognuna rappresentabile con un colore. Questa informazione, opportunamente trasferita su base cartografica, consente di ottenere una zonazione dell'asta fluviale in funzione dello stato di qualità ambientale di immediata fruibilità e di grande sintesi, utile sia alla programmazione degli interventi risanatori che ad una corretta pianificazione del sistema di monitoraggio che, infine, a una valutazione, nel tempo, dell'efficacia di eventuali interventi risanatori. Questo indice richiede una determinazione sistematica dei macroinvertebrati fino al livello tassonomico, stabilito sperimentalmente, di genere o famiglia. Per calcolare i valori dell'indice il metodo prevede una tabella a doppia entrata, costruita considerando il numero delle Unità Sistematiche campionate ed un ordine di taxa con sensibilità decrescente all'inquinamento.

### La comunità diatomica

Il campionamento è stato effettuato secondo metodiche standardizzate (KELLY et al., 1998). Le Diatomee epilittiche sono state prelevate raschiando con uno spazzolino i substrati duri presenti (ciottoli o, in talune stazioni, substrati verticali inerti – piloni di ponti). Il materiale raccolto è stato fissato in formalina al 4%. I campioni sono stati trattati in laboratorio con reagenti chimici (acqua ossigenata a 130 vol) fino a completa ossidazione della sostanza organica e con acido cloridrico per la dissoluzione del carbonato di calcio. I frustuli puliti sono stati quindi montati in vetrini permanenti utilizzando la resina sintetica Naphrax (indice di rifrazione 1.7) (EN 13946, 2003). La determinazione tassonomica è stata effettuata fino al livello di specie con osservazione al microscopio ottico a 1000 ingrandimenti e l'impiego di chiavi dicotomiche (KRAMMER & LANGE - BERTALOT, 1986 - 2000). La valutazione dell'abbondanza relativa delle specie è stata compiuta attraverso il conteggio di 400 valve secondo procedure standardizzate (EN 14407, 2004). Tale metodo è stato preferito a quello dell'attribuzione di classi di abbondanza - da 1, specie presente a 5, specie dominante - (DELL'UOMO et al., 1999; DELL'UOMO, 2004), al fine di uniformare la procedura con quella già adottata da altri metodi europei (CIUTTI et al., 2004). Il calcolo degli indici che utilizzano le Diatomee, compreso l'EPI-D è stato effettuato attraverso l'impiego del software Omnidia 3.2 (LECOINTE et al., 1993; LECOINTE et al., 1999). I valori ottenuti sono standardizzati in scala 1 a 20, così da rendere più semplice ed immediato il confronto tra i diversi metodi. Gli altri indici calcolati sono: Indice di Polluzione Specifica - IPS (COSTE IN CEMAGREF, 1982), Indice di Sladeczek - SLA (Sladeczek, 1986), Indice di Descy - DES (Descy, 1979), Indice di Leckercq e Maquet - L&M (Leckercq & Maquet, 1987), Indice di Steinberg e Schiefele - SHE (Steinberg & Schiefele, 1988, Schiefele & Schreiner, 1991), Indice di Watanabe - WAT (Watanabe, 1982, 1990), Indice Trofico Diatomico di Kelly e Whitton - TDI (Kelly & Whitton, 1995; KELLY, 1998), Indice Saprobico di Rott - ROTT (Rott et al., 1997), Indice Diatomico Generico - IDG (Coste & Ayphassorho, 1991), Indice di



Descy e Coste - CEE (Descy & Coste, 1991) - Indice Biologico Diatomico - IBD (Lenoir & Coste, 1996, Prygiel & Coste, 2000), Indice Diatomico Artois-Picardie - IDAP (Prygiel et al., 1996).

### La componente vegetazionale

Il lavoro si è incentrato sull'esame dell'intera flora rilevata lungo i fiumi in studio secondo transetti eseguiti dall'acqua alla fascia spondale e retro-spondale.

Scopo principale del lavoro è stato quello di vedere se la distribuzione delle specie vegetali fosse influenzata, oltre che dalla qualità dell'acque, anche dal disturbo antropico, che può essere rappresentato da una componente "meccanica", come modificazioni del suolo, taglio della biomassa, urbanizzazione circostante e/o da una componente "chimica", quale arricchimento di nutrienti nel suolo, o uso di sostanze tossiche come erbicidi. Il disturbo è stato stimato applicando alla matrice specie/siti l'indice di emerobia (Sukopp, Hejny, Kowarik, 1990), il cui uso si rivela particolarmente utile per l'identificazione di gradienti di disturbo lungo le fasce spondali dei corsi d'acqua.

Per riassumere la molteplicità di variabili ambientali cui sono legate le specie vegetali è stato utilizzato un ulteriore modello di bioindicatore, quello proposto da Ellenberg (1974, 1985, 1996). Secondo tale modello le esigenze di una specie sono riassunte in 7 indici: Luce, Temperatura, Continentalità, Umidità, pH, Nutrienti del suolo e Salinità. Negli studi sull'ecologia degli ecosistemi acquatici l'uso degli indicatori di Ellenberg si rivela particolarmente utile per una identificazione sintetica ed efficace dei fattori ecologici discriminanti. Per il calcolo dei valori degli indicatori di Ellenberg ci si è avvalsi della Banca Dati modificata da Pignatti per le specie mediterranee. Per il calcolo dell'indice di emerobia è stata utilizzata la Banca Dati adattata alla flora mediterranea (Fanelli, 2002).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Di seguito vengono riportati i risultati ottenuti nel corso del nostro studio. Ciascun paragrafo è dedicato alla presentazione dei dati raccolti ed analizzati per ogni metodologia biologica oggetto di studio sperimentata nelle differenti aree del bacino idrografico del Fiume Tevere: la comunità macrobentonica, algale e macrofitica.

### Comunità macrobentonica

L'analisi della comunità macrobentonica ha riguardato un totale di 36 campioni: 20 provenienti dal fiume Farfa e 16 dal fiume Treja. L'indagine ha portato all'identificazione di 72 Famiglie appartenenti a diversi Ordini; all'interno dei Plecotteri sono stati ulteriormente identificati 7 generi, tra gli Efemerotteri 11 generi, tra gli Odonati ne sono stati caratterizzati 5. I Tricladi sono risultati essere rappresentati dal solo genere *Dugesia*, gli Irudinei dal genere *Dina*, *Erpobdella* (*Erpobdella octoculata*) e *Helobdella*. L'Ordine dei Megalotteri è rappresentato dall'unico genere diffuso in Europa (Campatoli *et al.*, 1999), *Sialis* (Fam. Sialidae); il phylum dei Nematomorfi è rappresentato dalla famiglia dei Gordiidae. Tra le 72 famiglie identificate, 67 sono utilizzate per la valutazione della qualità delle acque, su un totale di 116 famiglie considerate a livello nazionale. L'analisi della struttura della comunità ha permesso, inoltre, di calcolare per ciascuna campagna di indagine il valore dell'indice IBE, al quale è stata attribuita la corrispondente classe di qualità, rappresentata dai colori di riferimento descritti in precedenza. Nelle Figure 1 e 2 sono riportati i risultati ottenuti per i due fiumi e l'andamento della qualità delle acque lungo le aste fluviali.

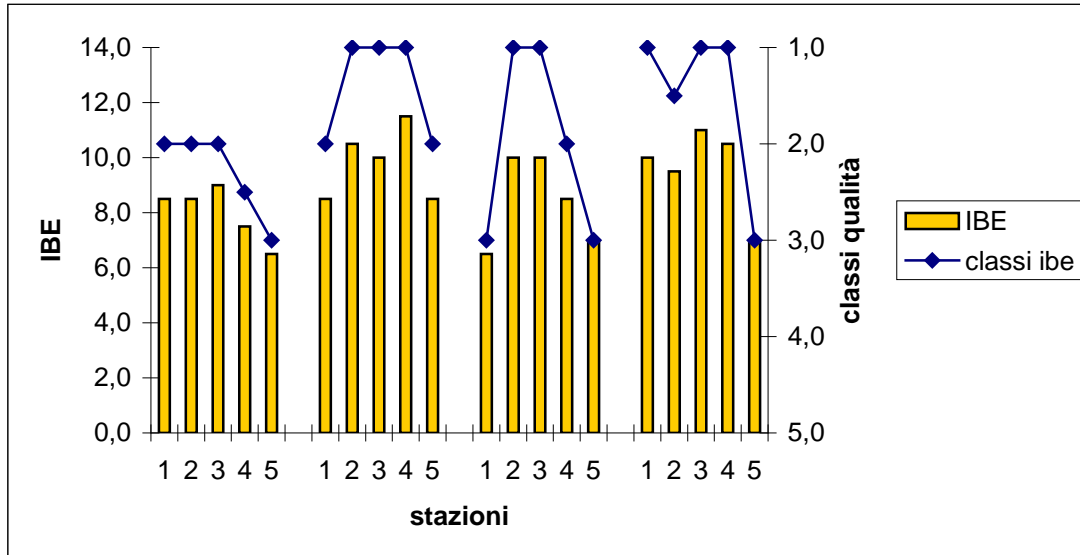


Figura 1 - Andamento della qualità delle acque lungo il fiume Farfa, secondo l'indice IBE

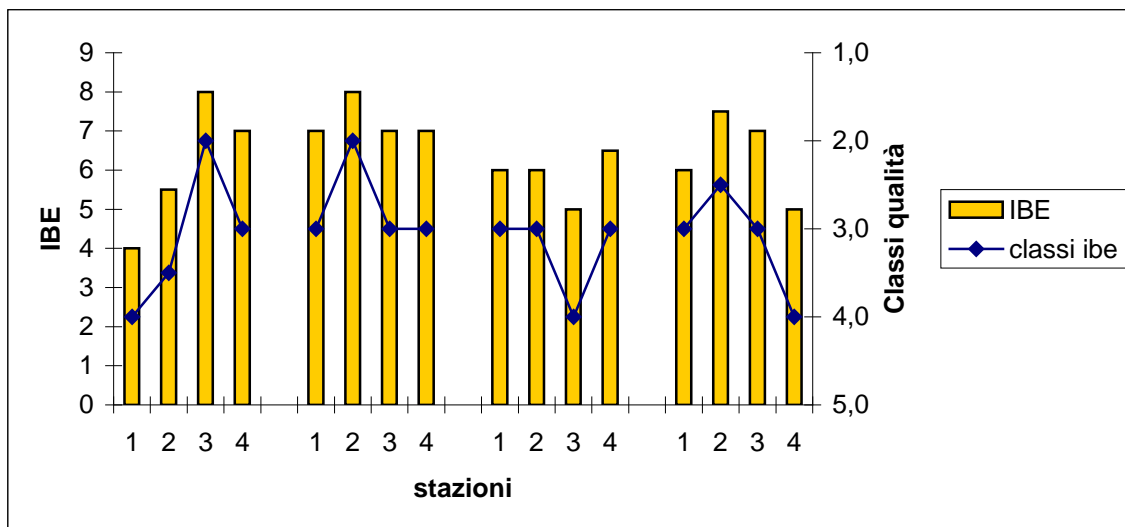


Figura 2 - Andamento della qualità delle acque lungo il fiume Treja, secondo l'indice IBE

### Comunità diatomica

#### *Fiume Farfa e fiume Treja*

Su un totale di 36 campioni provenienti dal fiume Farfa e dal fiume Treja ne sono stati analizzati 32: i 4 vetrini corrispondenti al campionamento autunnale del Treja hanno mostrato anomalie che non ne hanno permesso l'osservazione.

In totale si sono identificate 120 specie, appartenenti a 23 generi, 95 delle quali presenti nel fiume Farfa, 82 nel Treja. Delle 120 specie identificate solamente 4 appartengono all'ordine delle Centrales (*Melosira varians*, *Cyclotella distinguenda*, *C. meneghiniana* e *C. ocellata*), essendo queste generalmente planctoniche e quindi scarsamente diffuse nelle acque correnti. Il genere maggiormente rappresentato è quello delle Navicula, di cui sono state identificate 33 specie, seguito da Nitzschia rappresentato da 20 specie, Gomphonema con 10 specie. Per ciascun sito del fiume Farfa e Treja è stato poi calcolato l'indice EPI-D ed è stata attribuita la classe di qualità relativa. I risultati ottenuti e l'andamento della qualità delle acque lungo le aste fluviali può essere meglio visualizzato nelle Figure 3 e 4.

Va sottolineato che sono state identificate alcune specie per le quali non sono stati trovati i valori di "i" ed "r" necessari per il calcolo dell'indice: *Achnanthes conspicua*, *Achnanthes kolbei*, *Achnanthes lanceolata* ssp. *frequentissima*, *Navicula erifuga*, *Navicula minuscula* var. *muralis*, *Navicula radiosafallax*, *Nitzschia angustatula*, *Nitzschia linearis* var. *subtilis*, *Nitzschia microcephala*, *Nitzschia thermaloides*, *Stauroneis tackei*. Tale risultato fornisce un contributo alla caratterizzazione delle specie presenti nei corsi d'acqua italiani, in prospettiva dell'attuazione della Direttiva Europea 2000/60 e per una più accurata formulazione dell'indice EPI-D.

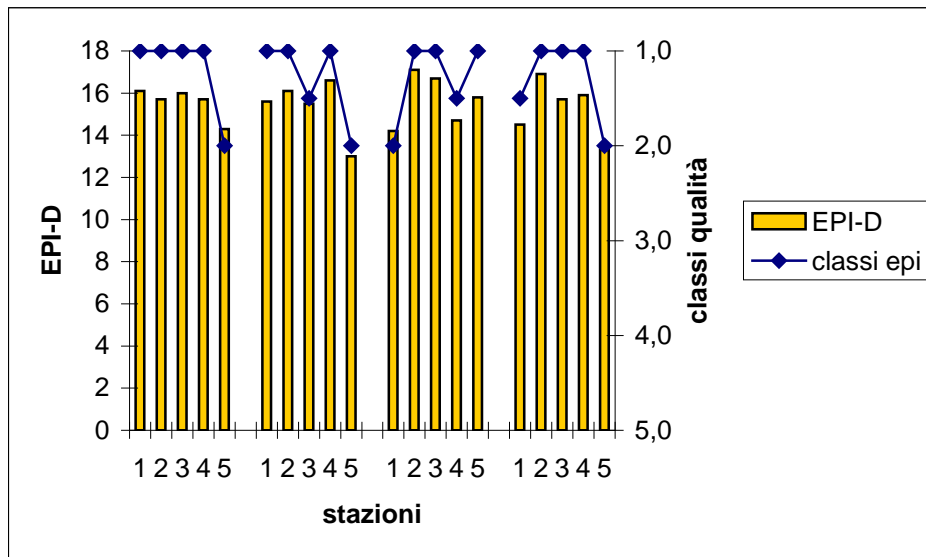


Figura 3 - Andamento della qualità delle acque lungo il fiume Farfa, secondo l'indice EPI-D

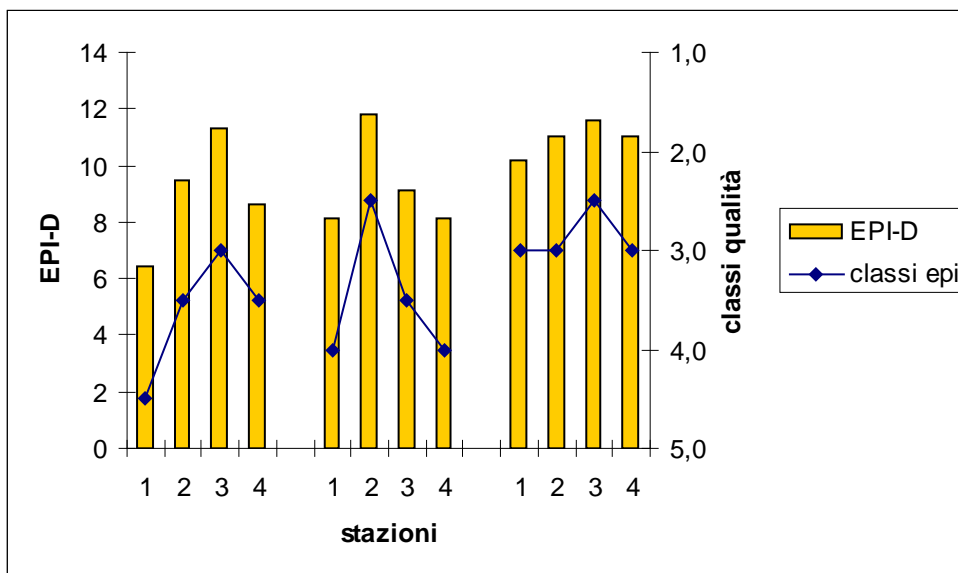


Figura 4 - Andamento della qualità delle acque lungo il fiume Treja, secondo l'indice EPI-D

#### Fiume Tevere e fiume Aniene

L'analisi dei campioni provenienti dalle stazioni selezionate sul fiume Tevere e sul fiume Aniene, ha evidenziato, nel solo conteggio di 400 valve per campione, la presenza di un elevato numero di specie e varietà (124), appartenenti a 23 generi. Il maggior numero di taxa appartiene ai generi *Navicula* Bory sensu lato (31) e *Nitzschia* A. H. Hassall (33), tipicamente presenti nel tratto medio e terminale del corso d'acqua e in ambienti inquinati. Il numero totale di taxa individuati nei quindici campioni varia da 16 a 56. Il numero minore di taxa (16) è stato rilevato nel campione di maggio nella stazione Castel Giubileo; il numero maggiore (56) nei campioni di maggio e di ottobre nella stazione Passo Corese. Delle 124 specie identificate, 15 non sono comprese nell'elenco delle specie utili al fine del calcolo dell'EPI-D, poiché per esse mancano i valori di *i* (indice integrato ponderato di sensibilità della specie) ed *r* (affidabilità della specie come indicatore): risulta pertanto che una percentuale di valve

variabile dallo 0.3 % al 15.6%, a seconda dei campioni, non viene considerata per il calcolo dell'indice.

I risultati del monitoraggio biologico effettuato attraverso l'analisi della comunità delle Diatomee epilittiche con il metodo EPI-D sono riportati in Tabella 1. In generale si osserva una qualità scadente delle stazioni in tutte le campagne di indagine, ad eccezione della stazione Passo Corese nella data di ottobre, che presenta una II classe di qualità. Le sezioni indagate, sia sul Tevere sia sull'Aniene, infatti, evidenziano condizioni di marcato degrado e si collocano in ambienti di IV e V classe di qualità (8 dati su 12).

Il confronto fra gli indici è stato effettuato considerando la classificazione proposta da Prygiel et al. (1999), che distingue tre categorie principali di metodi: quelli che valutano la qualità generale dell'acqua, quelli che valutano il solo livello trofico o il solo livello saprobico. In particolare in Figura 5 sono riportati i valori degli indici che, come l'EPI-D valutano la qualità generale dell'acqua, tutti rapportati alla scala 1-20. Non sono stati considerati gli indici saprobici e quelli trofici, che riguardano più specificatamente una delle componenti responsabili della qualità globale del corpo idrico. Si può notare che gli indici presentano un andamento abbastanza simile, a dimostrazione che tutti i metodi denotano una qualità scadente dell'ambiente in studio, ad esclusione di IDG ed indice di Descy, che, in determinate stazioni, hanno un'evoluzione opposta a quella generale degli altri.

L'andamento comune degli indici trova conferma nell'analisi di correlazione. L'EPI-D è infatti significativamente correlato con tutti gli indici, ad eccezione di IDG, che è l'unico, tra quelli considerati, a prevedere la determinazione delle Diatomee al livello di genere. L'altro indice che presenta bassa correlazione con l'EPI-D è %PT (% numerica - sulla conta delle valve - di individui tolleranti l'inquinamento), che non è propriamente un indice, ma un dato necessario ed ausiliario per l'interpretazione del TDI. La correlazione è buona, non solo con gli indici che valutano la qualità generale dell'acqua, ma anche con quelli che stimano il livello saprobico e quello trofico dell'acqua. Nella matrice di correlazione sono riportati anche i valori di correlazione significativa e altamente significativa per gli altri indici.

In generale tutti gli indici evidenziano la situazione di degrado ambientale del tratto di bacino indagato, in quanto le Diatomee (produttori primari) sono in grado di rilevare con puntualità l'impatto determinato dall'aumento dei fattori eutrofizzanti e inquinanti. I soli indici che, in situazioni puntuali, hanno evidenziato un andamento diverso rispetto agli altri sono l>IDG, per il quale già Dell'uomo et al. (1999) avevano evidenziato una bassa correlazione con l'EPI-D e l'indice di Descy. Quest'ultimo è, peraltro, il primo indice diatomoico sviluppato, che, pur sensibile soprattutto al carico organico (Descy, 1979), considera però un numero esiguo di taxa (106 specie e varietà) e pertanto, non è in grado di descrivere in modo appropriato la situazione compromessa del Tevere. Si deve comunque tener presente che altre eventuali discordanze tra gli indici possono essere legate al fatto che metodi diversi si basano su liste specifiche non coincidenti e sviluppate in realtà differenti. Ad esempio, nell'ambiente in studio, sono state descritte quindici specie, che non sono comprese nell'elenco dei taxa considerati dall'EPI-D. Da qui emerge la necessità di avviare una raccolta di dati in diverse realtà italiane per procedere alla messa a punto di una metodica standardizzata che possa essere applicata correntemente in tutta la nazione. Si osserva comunque, che in ambienti inquinati, come quello oggetto di indagine, il metodo EPI-D mostra una buona correlazione con gran parte degli indici europei.

Lo studio conferma inoltre, come osservato in un lavoro precedente (Ciutti et al, 1994) che la metodica di assegnazione delle abbondanze attraverso il conteggio di un numero definito di valve (400) descrive in modo appropriato, sia pur nei suoi limiti intrinseci, la comunità diatomoica. Essa rappresenta pertanto una valida modalità di assegnazione dell'abbondanza relativa da utilizzarsi in modo routinario e speditivo ai fini della sorveglianza ambientale.

Tabella1. Valori di EPI-D (in scala 1-20 ed in scala 0-4), classi e giudizi di qualità delle stazioni indagate (Passo Corese PC, Castel Giubileo CG, Magliana MA, Mezzocamino ME, Aniene A) nei periodi febbraio (feb), maggio (mag) e ottobre (ott) 2002.

stazione	data	valori EPI-D scala 1-20	valori EPI-D scala 0-4	classe	qualità
PC	feb	13.4	1.39	II	buona
PC	mag	10.7	1.96	III	mediocre
PC	ott	9.4	2.23	III	mediocre
CG	feb	9.1	2.29	III/IV	mediocre/cattiva
CG	mag	8.1	2.51	IV	cattiva
CG	ott	7.2	2.69	IV	cattiva
MA	mag	5.5	3.05	V	pessima
MA	ott	5.2	3.12	V	pessima
ME	feb	8.7	2.38	IV	cattiva
ME	mag	5.9	2.97	IV/V	cattiva/pessima
ME	ott	7.3	2.67	IV	cattiva
A	mag	6.5	2.84	IV	cattiva

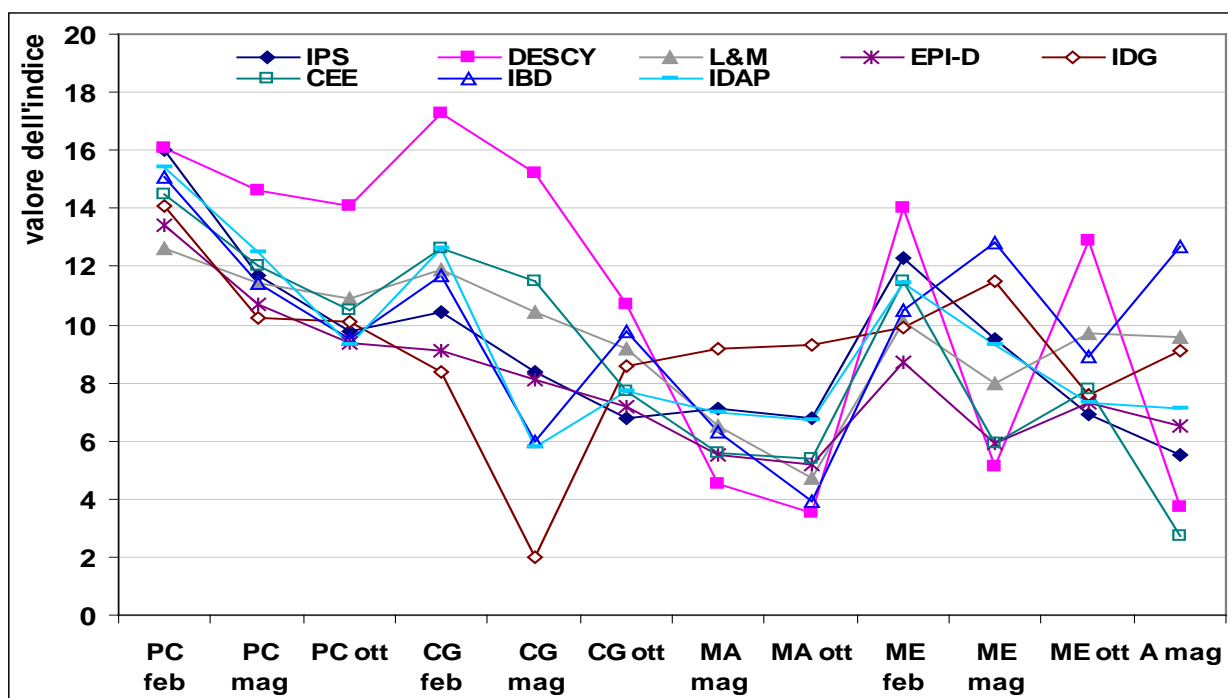


Figura 5. Andamento degli indici che valutano la qualità generale dell'acqua (riportati all'intervallo 1-20) delle stazioni indagate sul fiume Tevere e Aniene (Passo Corese PC, Castel Giubileo CG, Magliana MA, Mezzocamino ME, Aniene A) nei periodi febbraio (feb), maggio (mag) e ottobre (ott) 2002.

## Componente vegetazionale

### *Fiume Farfa e fiume Treja*

Per quanto riguarda i risultati emersi dall'applicazione del modello di Ellemberg gli ecogrammi relativi ai fiumi Farfa e Treja (Figura 6, Tabella 3) risultano essere molto simili tra loro, evidenziando come i fattori ecologici che hanno maggior peso (rappresentati dalle punte dei poligoni) nell'ecosistema in studio sono per entrambi i fiumi Luminosità (L), Umidità del suolo (F) e Nutrienti del suolo (N).

Dai valori degli indicatori riportati in tabella 2, si nota come l'indicatore N presenta valori più elevati nei siti del Treja, probabilmente in seguito al maggior apporto di nutrienti dovuto all'intenso sfruttamento per usi agricoli del territorio circostante.

L'indicatore F di umidità edafica mostra valori medio-alti in tutti i siti, trattandosi ovviamente di flora che cresce in prossimità di corsi d'acqua, adattata quindi ad elevate disponibilità idrica nei suoli. Altro fattore caratterizzante è la luminosità: quasi ovunque i valori si attestano intorno a 7. La luce è estremamente importante per la crescita delle macrofite acquatiche; infatti nei siti ove è disponibile maggiore radiazione luminosa, nei siti 1a e 1b del Treja dove l'indicatore L mostra valori di 7.6 e 7 rispettivamente (Tabella 2), sono presenti *Callitriche stagnalis* e *Sparganium erectum* in acqua (vedi Matrice specie/siti riportata nella versione integrale della relazione).

Si nota inoltre come ai valori più elevati dell'indicatore di umidità edafica, corrispondano valori altrettanto elevati dell'indice N dei nutrienti del suolo, sia in alcuni siti del Treja che del Farfa: ciò è in relazione alla presenza di specie ad elevata domanda di azoto come *Urtica dioica*, *Sambucus ebulus* che in quei siti formano densi popolamenti lungo la fascia spondale.

Tabella 2. Valori degli indicatori di Ellemberg per sito

Stazioni	L	T	K	F	R	N
Tre1a	7.6	5.9	3.9	5.6	6.3	6.8
Tre1b	7.0	5.6	3.7	6.2	6.8	7.1
Tre2	5.5	5.7	3.1	6.2	6.9	6.8
Tre3	7.5	5.8	3.7	5.7	6.5	7.1
Tre4	6.6	5.6	3.4	6.6	6.9	7.6
Far5	6.4	5.8	3.3	6.3	6.8	6.1
Far4b	7.0	5.4	3.5	6.2	6.2	6.2
Far4a	6.8	5.6	3.6	7.2	7.2	7.8
Far3	7.1	5.5	3.8	6.6	6.7	7.2
Far1	5.6	5.0	2.9	6.7	6.3	6.8

Tabella 3. Valori degli indicatori di Ellemberg per fiume

Fiume	L	T	K	F	R	N
Treja	6.8	5.7	3.6	6.1	6.7	7.1
Farfa	6.6	5.4	3.4	6.6	6.6	6.8

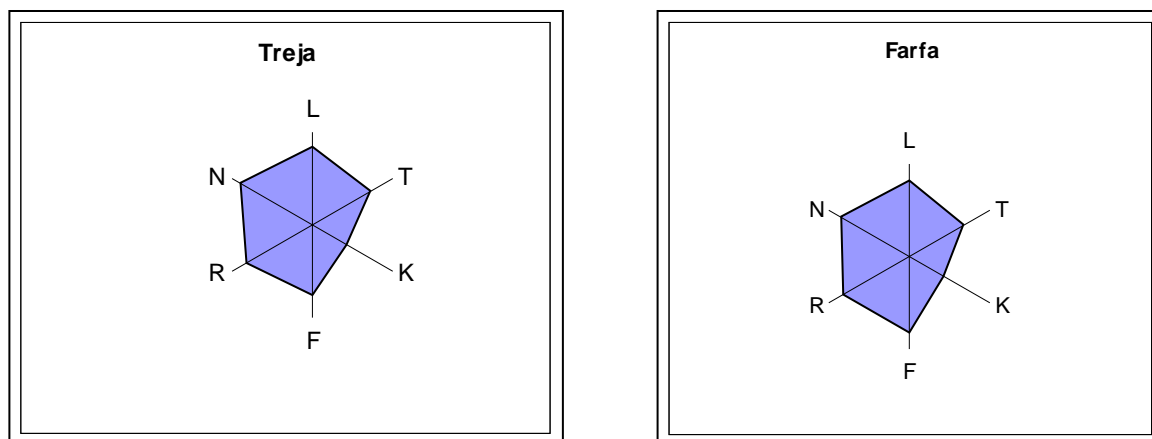


Figura 6. Ecogrammi di Ellemberg

Per quanto riguarda i risultati emersi dall'analisi dell'emerobia il fiume Farfa presenta valori (Tabella 5, Figura 7) che rientrano in un intervallo di valori 3-4, corrispondente ad una condizione mesoemerobica (Tabella 4) , indicatrice di una naturalità medio-elevata. Fanno eccezione la stazione Farfa 3, situata nei pressi di Granica, fortemente disturbata da interventi di natura antropica, quali opere sugli argini e costruzione di strade e la stazione Farfa 4b situata nei pressi della centrale idroelettrica di Baccelli.

Il fiume Treja presenta valori di emerobia più elevati, compresi tra 5 e 6, (intervallo beta-euemerobico); in particolare, la stazione Treja3 situata nei pressi di un agriturismo, dove il disturbo è probabilmente dovuto al calpestio degli animali, e la stazione Treja4 nei pressi di una serie di industrie di ceramica (Civita Castellana), mostrano emerobia più alta; la stazione Treja 2 situata a valle di Calcata, nell'area protetta (parco di Veio) ha al contrario un valore più basso.

Si nota inoltre come nelle stazioni che presentano il più elevato valore di emerobia sia stato riscontrato anche il maggior numero di specie (Treja 3: emerobia 5,7; N° specie 52; Treja1a : emerobia 5,8; N°specie 56): il disturbo antropico infatti, in ambiente mediterraneo, può avere come effetto aumento di ricchezza di specie, confermando come la biodiversità non sia sempre associata a condizioni di naturalità.

Tabella 4. Scala valori emerobia

<b>Emerobia</b>	<b>Valore</b>	<b>Naturalità</b>
	0	molto alta
aemerobico	1	alta
oligoemerobico	2	alta
mesoemerobico	3	medio-alta
	4	medio-bassa
beta-euemerobico	5	bassa
	6	bassa
alfa-euemerobico	7	molto bassa
	8	molto bassa
poli-emerobico	9	molto bassa



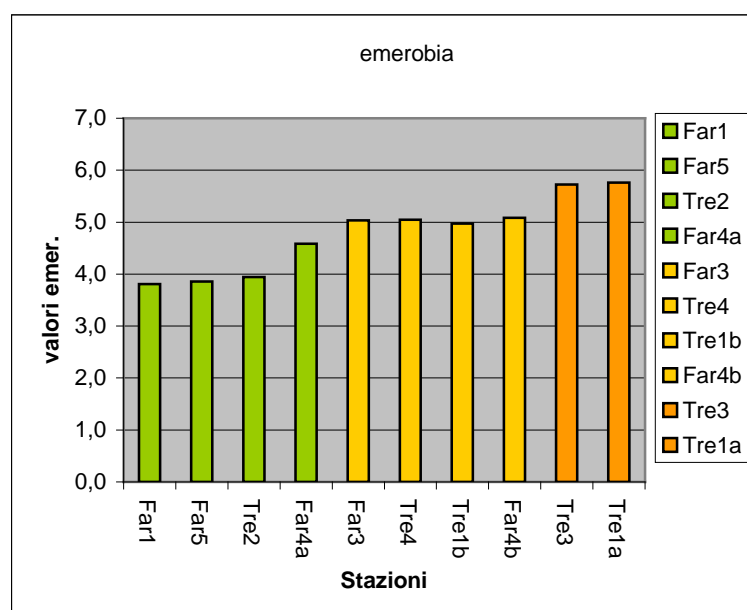


Figura 7. Ecogrammi di Elleberg  
Tabella 5 –scala valori emerobia

Stazioni	Emerobia	Tot.U.S.
Far1	3,8	30
Far5	3,9	33
Tre2	3,9	40
Far4a	4,6	16
Far3	5	32
Tre4	5	28
Tre1b	5	46
Far4b	5,1	34
Tre3	5,7	52
Tre1a	5,8	56

Infine, come sondaggio a carattere puramente preliminare, la matrice specie/siti è stata sottoposta ad una procedura statistica di Ordinamento, utilizzando l'Analisi delle Componenti Principali (PCA). Il risultato (Figura 8) ha messo in evidenza come la distribuzione delle specie vegetali segue un gradiente di emerobia lungo il primo asse (risultato correlato con i valori di emerobia con un  $R = -0,76756$ ) e un gradiente di qualità delle acque lungo il secondo asse, espresso da una correlazione con valori IBE ed EPI-D (rispettivamente  $R = -0,66412$ ,  $R = -0,7387$ ). I valori di correlazione emersi dall'analisi delle componenti principali sono riportati per esteso nella relazione integrale.

Si noti come lungo il primo asse della PCA gli estremi corrispondano rispettivamente alle stazioni del Farfa a più basso valore di emerobia e a quelle del Treja a maggior grado di emerobia.

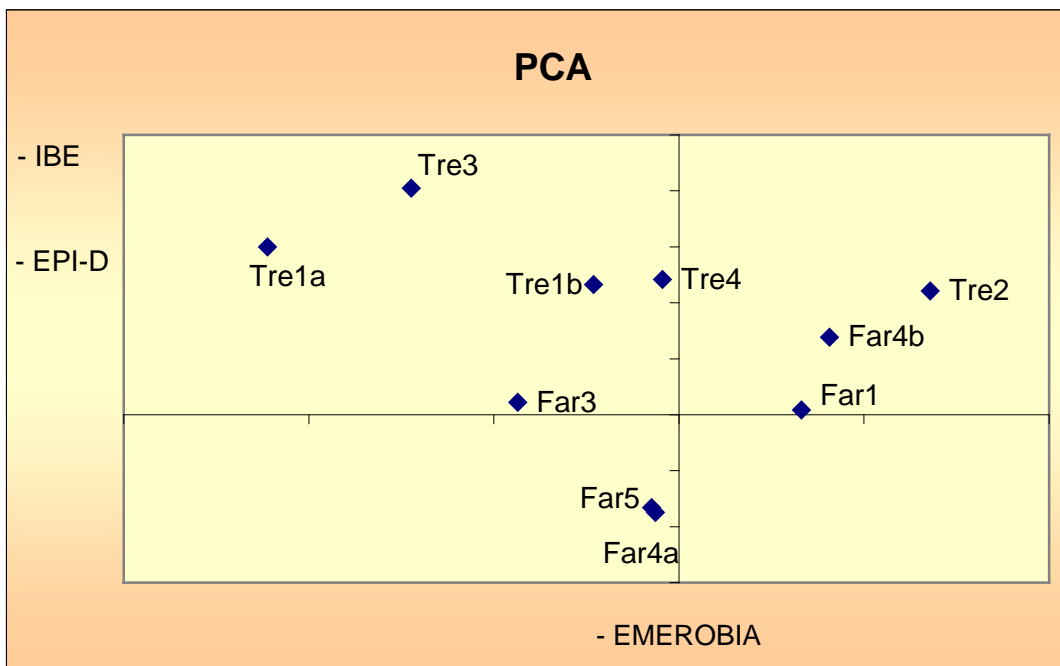


Figura 8. Analisi delle componenti principali eseguita sui dati di matrice presenza assenza dei fiumi Farfa e Treja

Confronto tra le metodologie biologiche sperimentate sui fiumi Farfa e Treja

In figura 9 e 10 per meglio visualizzare l'andamento in parallelo per l'indice IBE ed EPI-D sono rappresentati, per i fiumi Farfa e Treja, i valori delle classi di qualità di entrambi gli indici secondo l'ordine crescente delle classi IBE. Si può osservare come, soprattutto nel Farfa, la classificazione IBE risulti essere più variabile: l'andamento delle classi EPI-D è più costante, variando da I a II, mentre le classi IBE passano dalla I alla III. L'EPI-D sembrerebbe non discriminare le classi di qualità allo stesso modo dell'IBE. Lungo il Treja l'andamento delle due classificazioni sembra essere più simile.

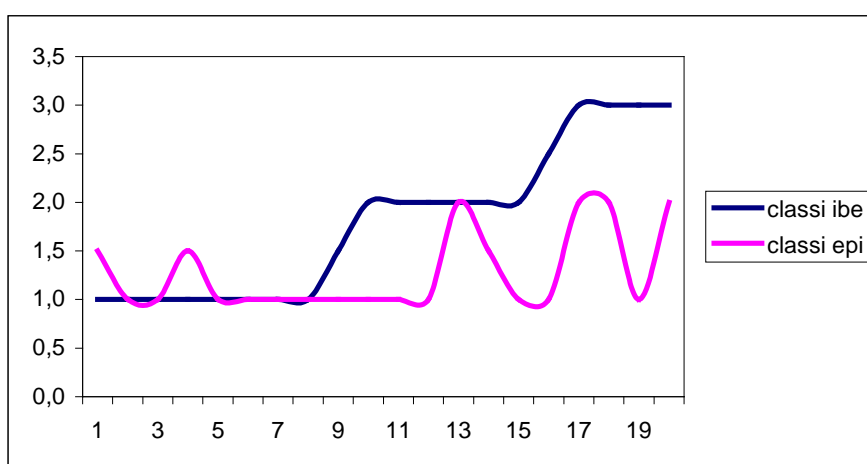


Figura 9- Andamento classi Farfa

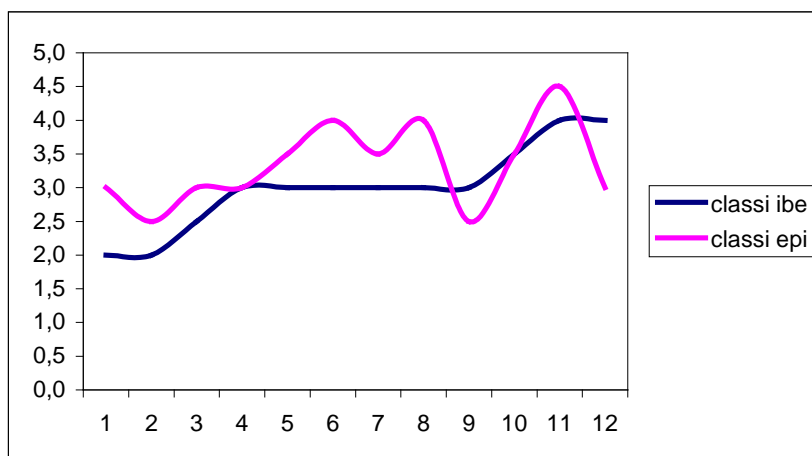


Figura 10 - Andamento classi Treja

In figura 11 è riportato il grafico che mette in relazione i valori degli indici di qualità (IBE, EPI-D) con i valori dell' indice di emerobia, che ricordiamo si riferisce al grado di disturbo cui è soggetto l'ecosistema in studio.

Si nota come i valori degli indici seguano il gradiente di disturbo (emerobia).

Fanno eccezione la stazione Treja 2 che presenta uno stato di qualità non elevato ma un livello basso di disturbo antropico; ricordiamo che la stazione Treja2 è situata all'interno dell'area protetta "parco della Valle del Treja", e la stazione Farfa 4b situata nei pressi della centrale idroelettrica di Baccelli che presenta una buona qualità dell'acqua ma risente del disturbo di origine meccanica dovuto agli interventi antropici.

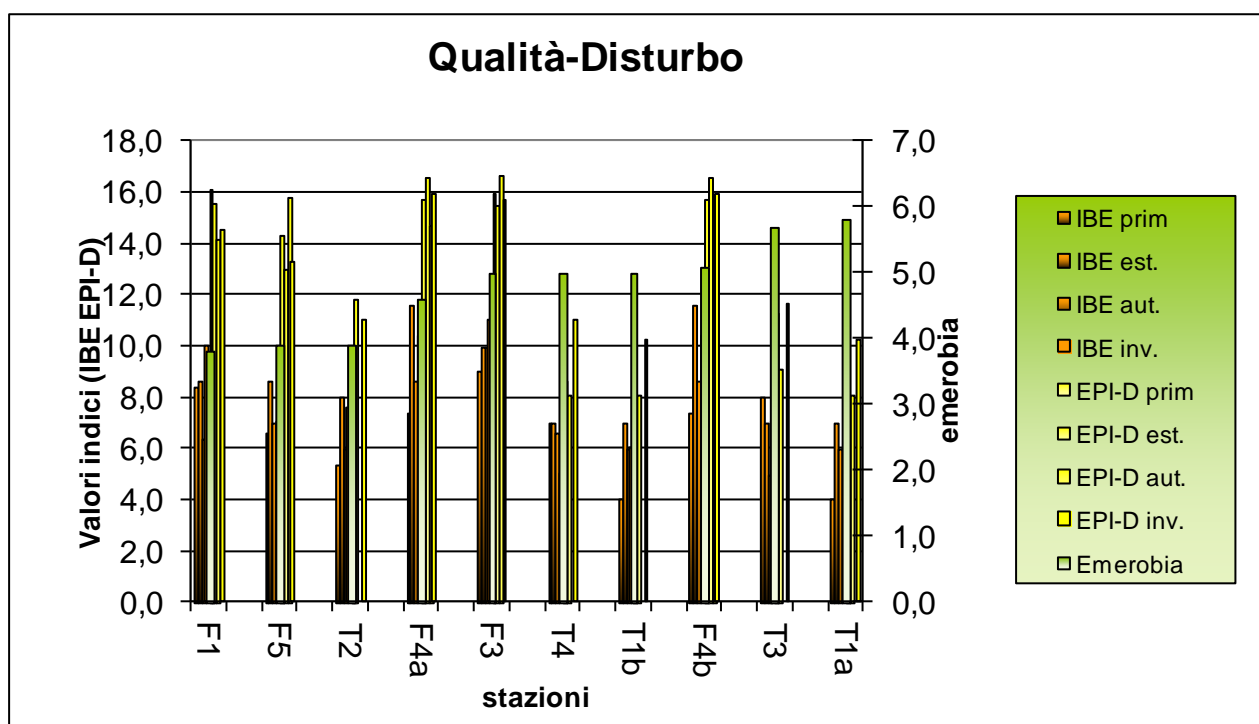


Figura 11 - Andamento valore indici (IBE, EPI-D) ed emerobia

## CONCLUSIONI

Lo studio sottolinea come l'analisi delle diverse componenti dell'ecosistema fluviale permette di evidenziare differenti sorgenti di disturbo e contribuisce alle conoscenze dello stato.

Per quanto riguarda le diverse componenti si sono ottenuti i seguenti risultati riportati in sintesi.

La componente vegetazionale permette di evidenziare e quantificare i disturbi legati al territorio circostante il sistema fluviale e inoltre fornisce una descrizione più approfondita e dettagliata degli habitat presenti e delle loro caratteristiche naturali, attraverso la presenza/assenza delle specie e attraverso l'uso dei bioindicatori. Questi ultimi in particolare sono in grado di evidenziare anche micro-variazioni di nicchia fornendo informazioni puntuali sullo stato dell'ambiente.

Per quanto riguarda la comunità diatomeica le indicazioni ottenute costituiscono un supporto al processo di standardizzazione dei metodi che utilizzano diatomee proposti per l'Italia, indispensabile per la predisposizione di una metodica d'indagine biologica che utilizzi i bioindicatori algali per la valutazione dello "stato ecologico" dei corsi d'acqua, come previsto dalla Water Framework Directive. La presente sperimentazione fornisce inoltre, un contributo conoscitivo sulla presenza e distribuzione delle Diatomee epilitiche nei corsi d'acqua italiani.

La sperimentazione di questi nuovi indicatori ha evidenziato risultati complementari con quelli più consolidati emersi dall'analisi dei macroinvertebrati (IBE), mostrando un quadro di informazioni aggiuntive in grado di completare ciò che emerge dalla sola analisi della comunità bentonica.

Dai risultati emerge comunque ancora la necessità di standardizzare queste nuove metodologie e sperimentarle per altri corsi d'acqua e ecoregioni.

Quindi lo studio mette in evidenza i pregi dell'approccio integrato, in un'analisi di valutazione della qualità delle acque superficiali, in grado di fornire un quadro più dettagliato dello stato ecologico del sistema analizzato. Tale studio fornisce inoltre un contributo all'applicazione del D.Lgs 152/99, e successive integrazioni, al recepimento della Direttiva Europea 2000/60/CE e allo sviluppo di metodologie per i diversi livelli dell'ecosistema.

## BIBLIOGRAFIA

Cappelletti, C., Ciutti, F., Torrisi, M., 2003. Diatomee epilitiche e qualità biologica del torrente Noce (Trentino). In: Baldaccini G.N. & G. Sansoni (Editors.), Atti del Seminario di Studi "Nuovi orizzonti dell'ecologia". Trento, 18-19 aprile 2002. Provincia Autonoma di Trento, Agenzia Provinciale Protezione Ambiente Trento, Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale. Trento, 177-181.

Cemagref, 1982. Etude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport Q.E. Lyon-A.F. Bassin Rhône-Méditerranée-Corse, Lyon, France, 218 pp.

Ciutti, F., Cappelletti, C., Monauni, C., Siligardi, M., Dell'Uomo, A., 2000. Qualità biologica e funzionalità del torrente Fersina (Trentino). *Dendronatura* 20 (2), 12-22.

Ciutti, F., Cappelletti, C., Corradini, F., 2004. Applicazione dell'indice EPI-D a un corso d'acqua delle Alpi (Torrente Fersina): osservazioni sulla metodica di determinazione delle abbondanze relative. *Studi Trentini di Scienze Naturali, Acta Biologica* 80, 97-102.

Coste, M., Ayphassorho, H., 1991. Etude de la qualité des eaux du bassin Artois-Picardie à l'aide des communautés de diatomées benthiques. Application des indices diatomiques au réseau. Cemagref Bordeaux - Agence de l'Eau Artois-Picardie., Rapport Convention d'étude n. 90 X 3300 du 19 Juin 1990, 227 pp.

Dell'Uomo, A., 1996. Assessment of water quality of an apennine river as a pilot study for Diatom-based monitoring of italian watercourses. In: Whitton B.A., Rott E. (eds.), Use of algae for monitoring rivers II. Institut für Botanik, Universität Innsbruck, 65-72.

Dell'Uomo, A., Tantucci, C., 1996. Impiego delle Diatomee nel monitoraggio biologico del Fiume Musone (Marche). In: Atti del Settimo Congresso Nazionale della S.It.E "Ecologia", Napoli, 11-14 settembre 1996. S.It.E Atti 17, 499-502.

Dell'Uomo, A., Grandoni, P., 1997. Diatomee e qualità dell'acqua: biomonitoraggio del Fiume Sentino (bacino del Fiume Esino, Marche). In: Atti dell'Ottavo Congresso Nazionale della S.It.E "Ecologia", Parma, 10-12 settembre 1997. S.It.E Atti 18, 445-448.

Dell'Uomo, A., Pensieri, A., Corradetti, D., 1999. Diatomées épilithiques du fleuve Esino (Italie centrale) et leur utilisation pour l'évaluation de la qualité biologique de l'eau. Cryptogamie, Algologie 20 (3), 253-269.

Dell'Uomo, A., 1999. Use of algae for monitoring rivers in Italy: current situation and perspectives. In: Prygiel J., Whitton B.A. & Bukowska J. (eds.), Use of algae for monitoring rivers III. Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai, France, pp.17-25.

Dell'Uomo, A., 2004. L'indice diatomico di eutrofizzazione/polluzione (EPI-D) nel monitoraggio delle acque correnti. Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici, Centro Tematico Nazionale-Acque interne e Marino costiere c/o ARPA Toscana, Firenze, 101 pp.

Descy, J.P., 1979. A new approach to water quality estimation using diatoms. Nova Hedwigia 64, 305-323.

Descy, J.P., Coste, M., 1991. A test of methods for assessing water quality based on diatoms. Verhandlungen der Internationalen Vereinigung Für Theoretische und Angewandte Limnologie 24, 2112-2116.

Ellenberg, H., 1974. Zeigerwert der Gefäßpflanzen Mitteleuropas (Indicator values of vascular plants in Central Europe). Göttingen Scripta Geobotanica 9, 1-85.

Ellenberg, H., 1985. The ecological behaviour and the ecological grouping of species: Indicator values with regard to particular habitat factors. In: Vegetation of Central Europe. Cambridge University Press.

Ellenberg, H., 1996. Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen in ökologischer, dynamischer und historischer Sicht. 5. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart.

EN 27828, 1994. Qualità dell'acqua-Metodi di campionamento biologico. Guida al campionamento di macroinvertebrati bentonici mediante retino manuale.

EN 14407, 2004. Water quality - Guidance Standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. European Committee for Standardization, Brussels, 12 pp.

EN 14407, 2004. Water quality - Guidance Standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. European Committee for Standardization, Brussels, 12 pp.

Fanelli, G., 2002. Analisi fitosociologica dell'area metropolitana di Roma. Camerino. Braun-Blanquetia.

Ghetti, P.F., 1997. Indice Biotico Esteso (I.B.E.) - I Macroinvertebrati nel controllo della qualità degli ambienti di acque correnti. Provincia Autonoma di Trento.

Grandoni, P., Dell'Uomo, A., 1996. Biomonitoraggio dell'alto corso del Fiume Potenza (Marche) mediante impiego di Diatomee. Riv. Idrobiol. 35, 71-85.

Kelly, M.G., Whitton, B.A., 1995. The Trophic Diatom Index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. J. Appl. Phycol. 7, 433-444.

Kelly, M.G., 1998. Use of the trophic diatom index to monitor eutrophication in rivers. Water Research 36, 236-242.

Kelly, M.G., Cazaubon, A., Coring, E., Dell'Uomo, A., Ector, L., Goldsmith, B., Guasch, H., Hürlimann, J., Jarlman, A., Kawecka, B., Kwandrans, J., Laugaste, R., Lindstrøm, E.A., Leitao, M., Marvan, P., Padišák, J., Pipp, E., Prygiel, J., Rott, E., Sabater, S., Van Dam, H., Vizinet, J., 1998. Recommendations for routine sampling of diatoms for water quality assessment in Europe. J. Appl. Phycol. 10, 215-224.

Krammer, K., Lange-Bertalot, H., 1986, 1988, 1991a, 1991b, 2000. Bacillariophyceae. Susswasserflora von Mitteleuropa. 2(1-5), G Fischer, Stuttgart. 876 + 596 + 576 + 437 + 311 pp.

Leclercq, L., Maquet, B., 1987. Deux nouveaux indices chimique et diatomique de qualité d'eau courante. Application au Samson et à ses affluents (Bassin de la Meuse Belge). Comparaison avec d'autres indices chimiques, biocénologiques et diatomiques. Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Document de Travail 38, 113 pp.

Lecointe, C., Coste, M., Prygiel, J., 1993. OMNIDIA software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. Hydrobiologia 269/270, 509-513.

Lecointe, C., Coste, M., Prygiel, J., Ector, L., 1999. Le logiciel Omnidia version 2, une puissante base de données pour les inventaires de diatomées et pour le calcul des indices diatomiques européens. Cryptogamie, Algologie 20 (2), 132-134.

Lenoir, A., Coste, M., 1996. Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the French national water Board network. In: Whitton B.A., Rott E. (eds.), Use of algae for monitoring rivers II. Institut für Botanik, Universität Innsbruck, pp. 29-43.

Prygiel, J., Coste, M., Bukowska, J., 1999. Review of major diatom - based techniques for the quality assessment of rivers - State of the art in Europe. In: Prygiel J., Whitton B.A. & Bukowska J. (eds.), Use of algae for monitoring rivers III. Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai, France, pp.224-238.

Prygiel, J., Lèveque, L., Iserentant, R., 1996. Un nouveau indice diatomique pratique pour l'évaluation de la qualité des eaux en réseau de surveillance. Rev. Sci. Eau 1, 97-113.

Prygiel, J., Whitton, B.A., Bukowska, J., 1999. Use of algae for monitoring rivers III. Proc. International Symposium, Douai, France 29 september-1 october 1997, Agence de l'Eau Artois-Picardie, 271 pp.

Prygiel, J., Coste, M., 2000. Guide méthodologique pour la mise en œuvre de l'Indice Biologique Diatomées. NF T 90-354. Agences de l'eau - Cemagref, Douai, 134 pp.

Rott, E., Hofmann, G., Pall, K., Pfister, P., Pipp, E., 1997. Indikationslisten für Aufwuchsalgen in österreichischen Fließgewässern. Teil 1: Saprobienne Indikation (Indicator species lists for periphyton in Austrian rivers. Part 1: Saprobic indication). Wasserwirtschaftskataster, Bundesministerium f. Land - und Forstwirtschaft, Wien, 73 pp.

Schiefele, S., Schreiner, C., 1991. Use of diatoms for monitoring nutrient enrichment, acidification and impact of salt in rivers in Germany and Austria. In: Whitton B.A., Rott E., Friedrich G. (eds), Use of algae for monitoring rivers. Düsseldorf, Germany. Institut für Botanik Universität Innsbruck, Studia Student. G.m.b.H., Innsbruck, pp.103-110.

Sládeček, V., 1986. Diatoms as indicators of organic pollution. Acta Hydrochimica Hydrobiologica 14, 555-566.

Steinberg, C., Schiefele, S., 1988. Biological indication of trophy and pollution of running waters. Z. Wasser-Abwasser-Forsch. 21, 227-234.

Sukopp, H., Hejny, S., Kowarik, I. 1990. Urban ecology SPB Acad. Publ. The Hague.

Torresi, M., Dell'Uomo, A., 2001. Les diatomées benthiques des parties rhithrales et potamales des cours d'eau de l'Apennin central (Italie) et leurs significations écologiques. Algological Studies 102, 35-47.

Ventriglia, U., 1989. Idrogeologia della provincia di Roma. Vol.II: regione vulcanica Sabatina.

Unione Europea, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Official Journal of the European Communities L327, 73 pp.

Watanabe, T., 1982. Numerical assessment of river pollution based on the water quality chart. Research report on Environmental Science B121-R-12-10, 92-95.

Watanabe, T., 1990. Numerical simulation of organic pollution in flowing waters. In: Enciclopedia of Environmental Technology Vol. 4. Hazardous Waste Containment and Treatment. Gulf Publishing Company, Houston, Texas, pp.251-281.

Whitton, B.A., Rott, E., Friedrich, G., 1991. Use of algae for monitoring rivers. Proc. International Symposium, Düsseldorf, Germany 26-28 May 1991. Institut für Botanik, Univ. Innsbruck, 193 pp.

Whitton, B.A., Rott, E., 1996. Use of algae for monitoring rivers II. Proc. International Symposium, Innsbruck, Austria 17-19 September 1995, Institut für Botanik, Univ. Innsbruck, 196 pp.





## **ACQUE MARINO COSTIERE E DI TRANSIZIONE**





## **Attuazione Programma PR1/A**

**Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque, con particolare riferimento all'applicazione del decreto legislativo 152/99**

### **Sottoprogetto:**

**Censimento ed analisi critica degli indici più significativi dello stato di qualità: integrazione della classificazione dell'indice TRIX, della qualità biochimica dei sedimenti e delle risposte a livello di comunità bentoniche**

**Responsabile Scientifico: Prof. Roberto Danovaro**  
**Istituto di Scienze Marine Università di Ancona**

**Autori: Roberto Danovaro, Antonio Pusceddu**

## ABSTRACT

La presente relazione finale riporta i risultati relativi all'elaborazione dei nuovi indicatori di stato trofico e qualità ambientale degli ambienti marini costieri. Lo studio è stato condotto in tre regioni pilota: Veneto, Campania e Friuli, nei transetti utilizzati per le attività di monitoraggio delle ARPA regionali. I nuovi indicatori, a differenza di quelli attualmente previsti dalla legge, sono basati su variabili bentoniche ed, in particolare, sulla quantità e composizione biochimica della materia organica sedimentaria (indicatore di stato trofico) e biodiversità (ricchezza di taxa della meiofauna) come indicatore di qualità ambientale. L'indicatore di stato trofico è stato suddiviso per ranghi come previsto dalla Direttiva Acque ed è stato confrontato con l'indice TRIX attualmente previsto dal Dlgs 152/99. Tale confronto ha evidenziato come le informazioni fornite dal TRIX e dal nuovo indicatore di stato trofico siano complementari e forniscano indicazioni diverse in funzione delle caratteristiche del sistema considerato. L'indicatore di qualità ambientale basato sul numero di taxa meiobentonici ha permesso di identificare le differenze tra aree soggette a forte impatto antropico ed aree con condizioni di elevata qualità. L'indicatore di stato trofico e quello di qualità ambientale sono tra loro correlati: i valori più bassi di qualità ambientale si riscontrano, infatti, in condizioni di carico organico eccessivo. I nuovi indicatori sono stati anche applicati in altre aree di studio caratterizzate da peculiari caratteristiche di alterazione dello stato di qualità ambientale (reflui di maricoltura): l'impatto dovuto a questa tipologia di scarichi è infatti associato ad un incremento dello stato trofico ed ad una diminuzione della qualità ambientale. Sono quindi state delineate le linee-guida di utilizzo dei nuovi indicatori. Sono state effettuate anche attività di formazione (svoltesi presso l'Università di Lecce) ed è stato prodotto un doppio CD contenente il video delle metodologie di campionamento ed analisi di sostanza organica nei sedimenti e della meiofauna. Questo supporto didattico-operativo permetterà ad ogni operatore ARPA, coinvolto nel monitoraggio degli ambienti marini costieri, di poter apprendere con facilità le misure dei nuovi indici ed applicare con costi contenuti.

## INTRODUZIONE

### *Indicatori di stato trofico di ambienti marini costieri*

Negli ultimi decenni, è stata rivolta particolare attenzione alla valutazione della qualità ambientale e all'identificazione degli strumenti più adatti per la definizione dello stato trofico degli ecosistemi acquatici.

Gli studi su tale argomento sono stati focalizzati principalmente sulla determinazione delle concentrazioni di nutrienti inorganici (azoto e fosforo), sulla determinazione della biomassa fitoplanctonica (a partire dalla misura della concentrazione di clorofilla-a) o sull'alterazione di parametri chimici e fisici quali la torbidità e la concentrazione di ossigeno. Tradizionalmente, questi studi definiscono lo stato trofico di un dato ecosistema come oligotrofico, mesotrofico ed eutrofico (Vollenweider et al. 1998). Il processo di eutrofizzazione è quindi generalmente considerato come un meccanismo di tipo "input-risposta" nel quale la crescita di biomassa algale stimolata dall'aumento di nutrienti può portare a fenomeni distrofici (Fig. 1). Tale approccio è recepito anche nel DLgs 152/99, nel quale l'indice TRIX è calcolato a partire dalle concentrazioni di N, P, clorofilla-a e della percentuale di saturazione dell'ossigeno in acqua.

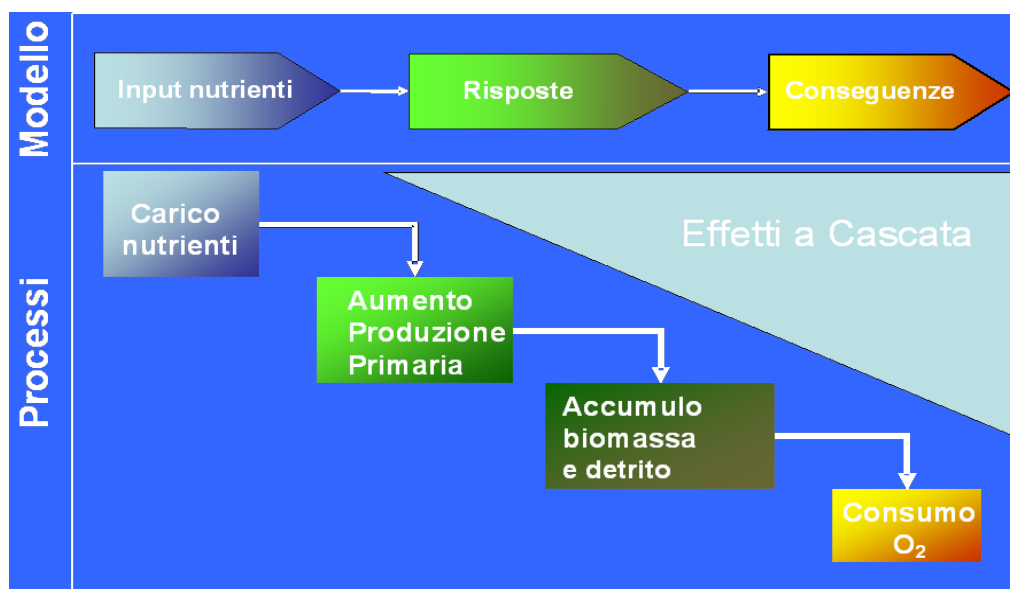


Figura 1 – Modello concettuale della risposta di un ecosistema costiero all'aumento del carico di nutrienti inorganici

L'eutrofizzazione, tuttavia, è un problema di natura ecosistemica (Cloern, 2001). I cambiamenti di stato trofico possono indurre l'insorgenza di una risposta in molti livelli gerarchici presenti in un ecosistema, anche se le principali conseguenze dell'eutrofizzazione si manifestano soprattutto sul benthos. Da qui l'esigenza di trovare descrittori ecologici che tengano anche in considerazione la centralità del comparto bentonico nei processi di eutrofizzazione.

Infatti, sebbene esista una relazione di causa effetto tra concentrazione di nutrienti e produttività primaria, lo stato trofico di un ecosistema marino non dipende solo dalla disponibilità di nutrienti inorganici. Nei sistemi mixoalini (lagune ed estuari) la variazione della concentrazione di clorofilla-a è indotta alla risospensione del microfitobenthos piuttosto che all'aumento delle concentrazioni dei nutrienti (Conde et al. 1999; Lucas et al. 2000). Esistono inoltre sistemi che, pur caratterizzati da alte concentrazioni di nitrati, presentano

basse biomasse fitoplanctoniche (Behrenfeld et al. 1996). La misura dei macronutrienti non può rappresentare quindi una regola generale per definire lo stato trofico di un sistema acquatico. Anche l'uso delle concentrazioni di clorofilla-a per determinare la biomassa algale è discutibile in quanto il contenuto per cellula può variare da specie a specie e, all'interno della stessa specie, in dipendenza dalle differenti condizioni ambientali e fisiologiche (Turpin, 1991).

Un contributo migliorativo alla valutazione dello stato trofico dei sistemi marini si è avuto da Nixon (1995) il quale ha proposto un nuovo approccio basato sui flussi di carbonio organico da e al sistema (come  $g\ C\ m^{-2}\ y^{-1}$ ), quindi non sulla produttività primaria potenziale bensì sul rifornimento di materiale organico. Questo dovrebbe includere sia le fonti autoctone (in termini di produzione primaria) sia quelle alloctone, vale a dire i contributi verticali e/o laterali. Tale approccio appare particolarmente appropriato in una prospettiva ecologica. Infatti, l'aumento di carbonio organico nei sedimenti è il meccanismo che innesca le conseguenze più gravi dell'eutrofizzazione quali ipossia, mortalità degli organismi e perdita di biodiversità (Cloern, 2001). Tuttavia, questo approccio è di difficile applicazione per la difficile e costosa misurazione dei flussi di particellato; inoltre, la misurazione dei tassi di flusso verticale può cambiare a diverse profondità della colonna d'acqua come risultato della degradazione e dell'utilizzo delle particelle organiche che scendono lungo la colonna d'acqua (Karl et al. 1988).

Il concetto di rifornimento organico proposto da Nixon può essere esteso ai sedimenti utilizzando la misura della quantità e della qualità della materia organica che si accumula nello strato superficiale dei sedimenti come descrittore dello stato trofico del sistema. I sedimenti, infatti, sono una sorta di "registratore" dei processi che avvengono in colonna d'acqua e sono il serbatoio finale di accumulo della materia organica (Fabiano e Danovaro, 1994). I sedimenti integrano i contributi presenti e passati dei flussi di sostanza organica da e verso i sistemi adiacenti: l'accumulo di materia organica pertanto è il risultato dell'equilibrio fra produzione in situ, input alloctoni, esportazione, utilizzazione eterotrofa e degradazione.

La materia organica nei sedimenti è costituita da una componente labile, principalmente biopolimeri quali proteine, carboidrati, lipidi e acidi nucleici, ed una refrattaria (acidi umici e carboidrati strutturali). Quest'ultima costituisce la parte generalmente preponderante: infatti, essendo soggetta a bassi tassi di degradazione, è facilmente accumulata nei sedimenti (Middelburg et al. 1999; Zegouagh et al. 1999). La frazione labile invece è quella più facilmente disponibile per i consumatori bentonici ed è più soggetta a cambiamenti in quantità e composizione biochimica. Il contributo di ciascuna delle due frazioni cambia in funzione di un insieme di processi, tra i quali utilizzo eterotrofo e degradazione. A causa della natura conservativa del carbonio organico sedimentario, i cambiamenti nello stato trofico sono molto più evidenti in termini di composizione biochimica della materia organica che in termini della sua concentrazione (Tselepidis et al. 2000). La frazione biopolimerica rappresenta quindi un indicatore più sensibile ai cambiamenti di stato trofico (Fabiano et al. 1995; Danovaro et al. 1999a).

Recenti studi hanno infine evidenziato che le determinazioni di stato trofico in colonna d'acqua a partire dalle concentrazioni di nutrienti inorganici si discostano ampiamente dalle condizioni di stato trofico dei sedimenti (Dell'Anno et al. 2002). In tale contesto, le concentrazioni di C biopolimerico nei sedimenti sono state recentemente utilizzate quale indicatore dello stato trofico dei sedimenti costieri e di ambienti marini di transizione (Dell'Anno et al. 2002; Pusceddu et al. 2003a), anche in virtù del fatto che le conseguenze dell'eutrofizzazione si manifestano prioritariamente proprio in ambiente bentonico ed in risposta ad un accumulo di C organico detritale (Fig. 2).



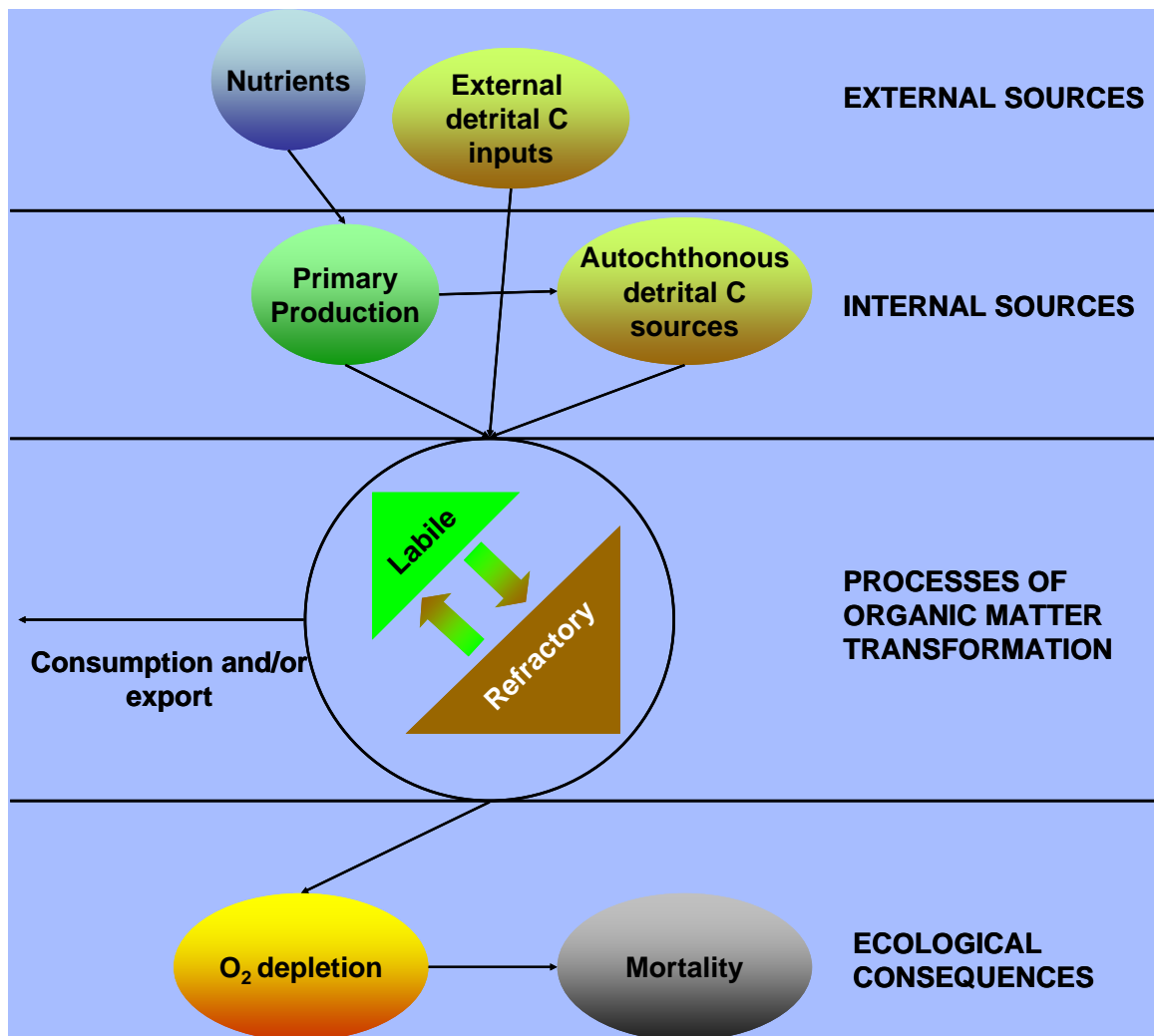


Figura 2 – Modello concettuale della risposta di un ecosistema marino costiero all'aumento del carico organico detritale

### *Risposte bentoniche ai cambiamenti di qualità ambientale: la meiofauna*

Le condizioni di degrado ambientale dei fondi marini sono state ripetutamente evidenziate mediante il monitoraggio delle comunità biologiche del benthos (Goldberg et al. 1978; Bryan et al. 1985), soprattutto per valutare gli effetti di sostanze inquinanti (Giere, 1993). Per ragioni pratiche, gli organismi utilizzati appartengono prevalentemente alla macrofauna in quanto, essendo grandi e visibili ad occhio nudo, possono essere facilmente contati e identificati.

Negli ultimi anni, tuttavia, la meiofauna ha acquistato un ruolo importante come potenziale indicatore dello stato della qualità dell'ambiente marino (Danovaro et al. 1995; Mazzola et al. 1999, 2000; Mirto et al. 2000, 2002).

Il termine meiobenthos è stato introdotto da Mare nel 1942 per definire gli organismi di taglia intermedia tra il microbenthos e il macrobenthos. Questo termine indica sia organismi vegetali sia animali, mentre con "meiofauna" ci si riferisce alla sola componente animale e, di norma, ai metazoi. Dal punto di vista dimensionale la meiofauna è costituita da organismi di dimensioni comprese tra 30 e 1000  $\mu\text{m}$ . La meiofauna è caratterizzata da un'elevata diversità tanto che comprende 20 dei 34 phyla animali.

La meiofauna ricopre un ruolo importante nell'ecosistema marino per la sua elevata abbondanza, mediamente compresa tra  $10^5$ - $10^6$  individui per  $\text{m}^2$  (100-1000 individui  $10\text{ cm}^{-2}$ )

ed una biomassa che in acque costiere arriva fino a 1-2 g m<sup>-2</sup> (Coull e Bell, 1979). Tali valori variano in funzione della stagione (densità più elevate nel periodo estivo), della latitudine, della profondità, delle maree e della granulometria del sedimento (Coull, 1988). Generalmente i valori più elevati si riscontrano nelle aree fangose di estuario, mentre le densità più basse si hanno nei sedimenti profondi (Danovaro et al 1995a, 1999b, 1999c; 2000a). Il taxon numericamente più abbondante nelle comunità meiobentoniche è quello dei Nematodi, che possono costituire anche oltre il 90% della meiofauna totale, seguito dai Copepodi, Policheti, Turbellari e Gastrotrichi.

La meiofauna è presente in tutti gli ecosistemi acquatici, dalle acque dolci agli ambienti marini costieri agli ambienti profondi ed in tutti i tipi di sedimento, dal fango alla sabbia (Coull, 1988). Alcuni taxa sono esclusivi di un particolare tipo di sedimento. Gruppi interstiziali, come Gastrotrichi e Tardigradi, sono esclusi dai sedimenti fangosi, dove gli interstizi sono ridotti, mentre organismi infossanti, quali i Chinorinchi, sono esclusi dagli habitat sabbiosi. Esistono poi taxa (Nematodi, Copepodi e Turbellari) che comprendono rappresentanti sia interstiziali che infossanti e mostrano differenze morfologiche in base al substrato che colonizzano. Infine, alcuni individui possono vivere epifiti sulle macroalghe, sulle foglie di fanerogame marine e sulla superficie di altri organismi marini (es. coralli o echinodermi), o addirittura simbiotici di animali sessili (Hicks, 1977).

La meiofauna presenta una distribuzione orizzontale irregolare detta a "patch", a macchia (Vitiello 1968; Gray e Rieger, 1971; Mc Lachlan, 1978; Findlay, 1981). Si ritiene che i fattori che influenzano tale distribuzione su macroscale siano principalmente di tipo chimico e fisico (temperatura, salinità, granulometria, concentrazione di ossigeno e condizioni idrodinamiche) mentre su microscale prevalgono fattori di tipo biotico, come le interazioni inter- e intraspecifiche in funzione della qualità e quantità delle risorse trofiche disponibili (Gerlach, 1977; Lee, 1980; Soyer, 1985).

La distribuzione verticale dei taxa meiobentonici all'interno dei sedimenti marini è generalmente influenzata dalla profondità di penetrazione dell'ossigeno nel sedimento: la maggior parte delle specie si ritrova nei primi 2 cm di sedimento che tipicamente mostrano condizione di ossigenazione con potenziale redox maggiore di +400 mV (Coull, 1988). Quando tale potenziale scende al di sotto di +200 mV la densità degli organismi decresce rapidamente. Il taxon più sensibile alla diminuzione di ossigeno è quello dei Copepodi che risultano essere confinati nello strato superficiale ed ossigenato dei sedimenti. Tuttavia una parte della meiofauna sembra tollerare condizioni ipossiche, o talvolta anossiche, penetrando al di sotto dello strato ridotto (Guerrini et al 1998; Coull, 1999). Fanno parte di questo gruppo Nematodi, Oligocheti, Bivalvi, Gnatostomulidi e Policheti (Wetzel et al. 1995; Windoffer et al. 1999; Krieger et al. 2000).

La meiofauna svolge un ruolo di fondamentale importanza per il benthos nel trasferire materia ed energia ai livelli trofici superiori (Feller e Warwick, 1988; Pinckney e Sandulli, 1990; Danovaro, 1996; Danovaro e Fabiano 1996; Albertelli et al 1999). La meiofauna rappresenta un buon indicatore dell'alterazione ambientale per numerose caratteristiche che la contraddistinguono come l'elevata abbondanza, la diversità e la distribuzione ubiquitaria, ma anche per il suo ruolo ecologico: le variazioni della comunità meiobentonica hanno effetti sui livelli trofici più alti dell'ecosistema. Inoltre, la meiofauna è molto sensibile ai fenomeni di disturbo e grazie ai suoi brevi tempi generazionali permette di ottenere una risposta rapida alle alterazioni delle condizioni ambientali. Possono essere valutati gli effetti subletali di agenti tossici su fecondità, tasso di crescita o longevità molto più velocemente che sulla macrofauna, che presenta cicli vitali più lunghi (Coull e Chandler, 1992). I taxa meiobentonici non hanno larve a dispersione pelagica, quindi sono legati al substrato durante tutta la vita, rivelandosi così dei validi indicatori permanenti di inquinamento poiché gli effetti di quest'ultimo non sono mascherati dall'immigrazione di larve da altre aree.

Gli aspetti della meiofauna presi in considerazione nei programmi di monitoraggio ambientale sono: l'analisi della densità dei taxa più abbondanti, lo studio della diversità e della composizione delle specie ed infine le specie indicatrici (Moore e Bett, 1989).

Alterazioni nella matrice sedimentaria si traducono in cambiamento della densità, sia totale che dei taxa più abbondanti: essa aumenta o diminuisce in ambienti inquinati se confrontata a siti di controllo (cioè non sottoposti al disturbo). Le risposte sono diverse a seconda dei taxa e del tipo di disturbo considerato. In genere l'accumulo di materiale organico al fondo, come si ha nelle aree in cui sono presenti impianti di acquicoltura intensiva, provoca una diminuzione della densità e della diversità della meiofauna (Mazzola et al 1999, 2000; Mirto et al 2000, 2002).

La meiofauna sembra dunque soddisfare tutti i criteri a cui devono rispondere gli indicatori biologici di inquinamento (Ward and Jacoby, 1992), anche perché il riconoscimento a livello di generi e famiglie sembra essere sufficiente per valutare la risposta del meiobenthos alle alterazioni ambientali (Hermam and Heip, 1983; Danovaro and Gambi, 2002).

## **OBIETTIVI**

Il progetto “*Censimento ed analisi critica degli indici più significativi dello stato di qualità: integrazione della classificazione dell’indice TRIX, della qualità biochimica dei sedimenti e delle risposte a livello di comunità bentoniche*”, che ha visto coinvolto l’Unità Locale di Ricerca CoNISMa presso l’Università Politecnica delle Marche, ambiva al raggiungimento dei seguenti obiettivi:

- 1) Individuazione e standardizzazione delle metodologie di campionamento ed analisi in laboratorio;
- 2) Misura delle variabili in aree campione di rilevamento degli indici legislativi (TRIX);
- 3) Identificazione di nuovi indicatori di stato trofico e qualità ambientale degli ambienti marini costieri;
- 4) Validazione degli indicatori in altri contesti ambientali (impatto acquacoltura intensiva);
- 5) Divulgazione dei prodotti della ricerca.

## Individuazione e standardizzazione delle metodologie

Nella prima fase del progetto è stata condotta una metanalisi dei dati disponibili in letteratura per quanto riguarda clorofilla-a e feopigmenti, proteine, lipidi, carboidrati, e contenuto totale di carbonio organico biopolimerico in sedimenti marini superficiali a diverse latitudini e profondità. Il data set utilizzato riguardava le seguenti aree (Fig. 3): Mar Mediterraneo (Mar Adriatico Settentrionale e Meridionale, Laguna di Venezia, Mar Ligure, Golfo del Leone, Golfo di Fos, Mar Ionio e Tirreno, Mare Egeo Settentrionale e Meridionale, Mar di Creta e Mar Levantino), Mar Baltico, Mar di Barents, Oceano Atlantico (Porcupine Abissal Plain - PAP, Demerara Abissal Plain, Madera Abissal Plain - Map, Golfo di Gascoigne, Galicia), Mactan (Filippine), Oceano Pacifico e Meridionale (costa cilena, la fossa di Atacama) ed Antartide (Mar di Ross).

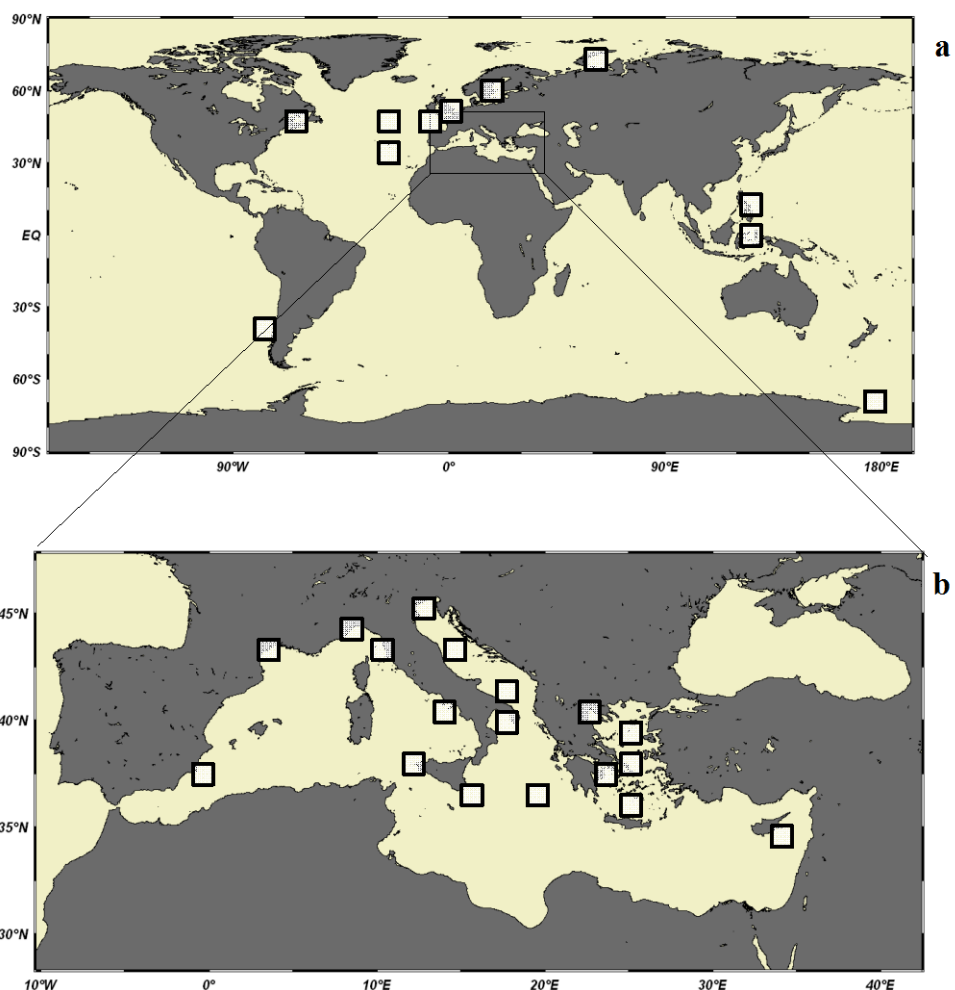


Figura 3 – Aree di reperimento dati per la metanalisi

Su questo data set (>600 campioni per variabile) è stata condotta una metanalisi che ha permesso:

1) di individuare le metodologie più comuni per l'analisi di pigmenti clorofilliani e C biopolimerico nei sedimenti. Tali metodologie sono state codificate e pubblicate sul volume edito da APAT dal titolo "Manuale di Metodologie di Campionamento ed Analisi del Benthos Marino Mediterraneo" (Pusceddu et al. 2003b);

2) di individuare pattern generali di relazione tra concentrazioni di C biopolimerico nei sedimenti, sua frazione autotrofa e consumo di ossigeno al fondo.

In particolare, tale meta-analisi ha evidenziato la presenza di un pattern generale (Fig. 4) secondo il quale in condizioni eutrofiche naturali, nei sedimenti arricchiti di C organico ed in aree soggette ad apporti di scarico (come aree industriali ed/o sottoposte a traffico marittimo intensivo) il contributo autotrofo al pool di carbonio biopolimerico è basso (<0.1-15%; Danovaro et al. 1999b, Pusceddu et al. 1999, Dell'Anno et al. 2002).

Al contrario, nei sedimenti oligotrofici il contributo di carbonio autotrofo al pool di carbonio biopolimerico è, tipicamente, significativamente più alto (15-100%; Fabiano e Danovaro 1994, Albertelli et al. 1999).

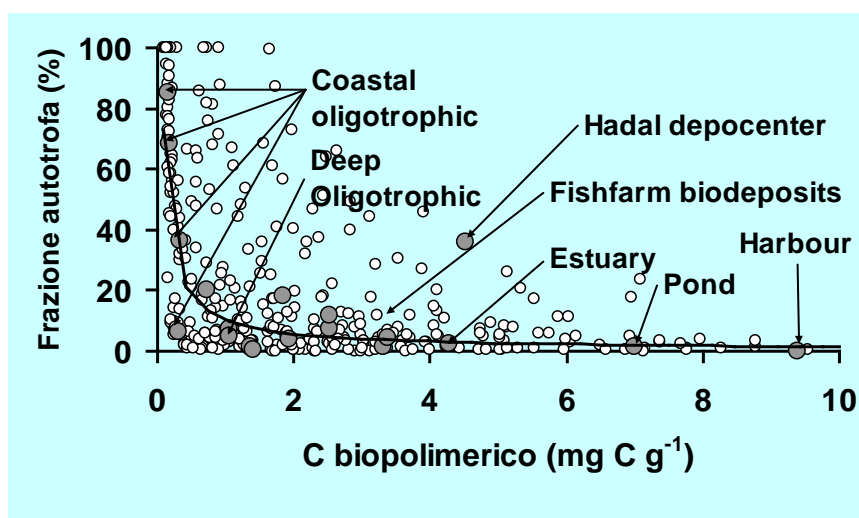


Figura 4 – Relazione tra C biopolimerico e frazione autotrofa

Inoltre, abbiamo evidenziato che l'accumulo di C biopolimerico spiega un'elevata percentuale di varianza del consumo di ossigeno da parte delle comunità bentoniche (Fig. 5), permettendoci di inferire che un incremento nelle concentrazioni di C biopolimerico nei sedimenti sia un pre-requisito di eventuali fenomeni distrofici.

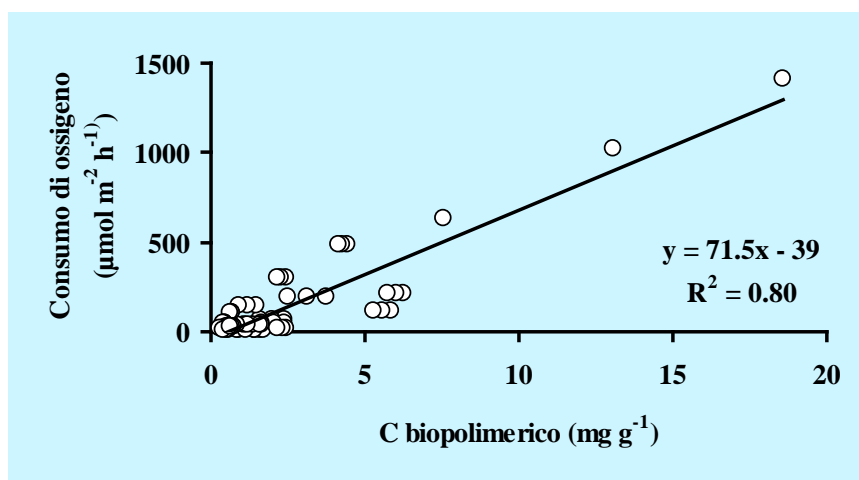


Figura 5 – Relazione tra C biopolimerico e consumo di ossigeno al fondo

Nella prima fase si è anche proceduto alla standardizzazione delle metodologie di campionamento ed analisi della meiofauna (Danovaro et al. 2003) ed all'individuazione di un indicatore di qualità ambientale basato sulla ricchezza di taxa (Tab. 1).

La ricchezza di taxa è stata, infatti, proposta come un possibile strumento per identificare gli effetti dell'inquinamento (Herman et al 1985). L'abbondante letteratura prodotta negli ultimi trenta anni ha evidenziato una chiara diminuzione del numero di taxa all'aumentare dell'impatto. In generale, la diversità è minore in ambienti inquinati principalmente per la scomparsa dei taxa più rari e sensibili all'inquinamento come Ostracodi, Gastrotrichi e Tardigradi.

Tabella 1 – Ricchezza di taxa e qualità ambientale dei sedimenti

Ricchezza di taxa	Stato
< 4	Pessimo
4 – 7	Scadente
8 – 11	Sufficiente
12 – 15	Buono
> 16	Ottimo

### Misura delle variabili in campo in aree campione

#### Aree di studio

Lo studio è stato condotto lungo tre fasce costiere localizzate in tre regioni italiane (Figg. 6-8): Veneto, Campania e Friuli. I campioni sono stati raccolti nel luglio 2003 (Campania), nell'aprile 2004 (Veneto) e nel settembre 2004 (Friuli). Nelle tre aree di studio è stata adottata la stessa strategia di campionamento: i campioni sono stati raccolti lungo transetti ortogonali alla costa, ciascuno di tre stazioni situate a opportune distanze crescenti da essa, in accordo con il D. Lgs. 152/99.

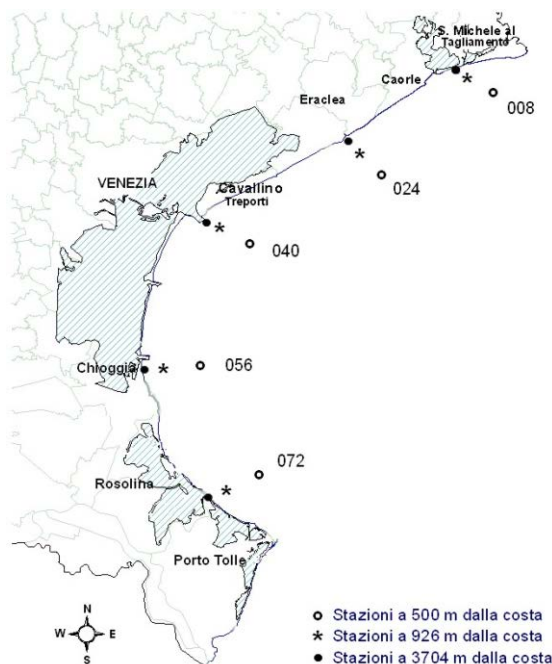


Figura 6. Area di campionamento nella Regione Veneto.

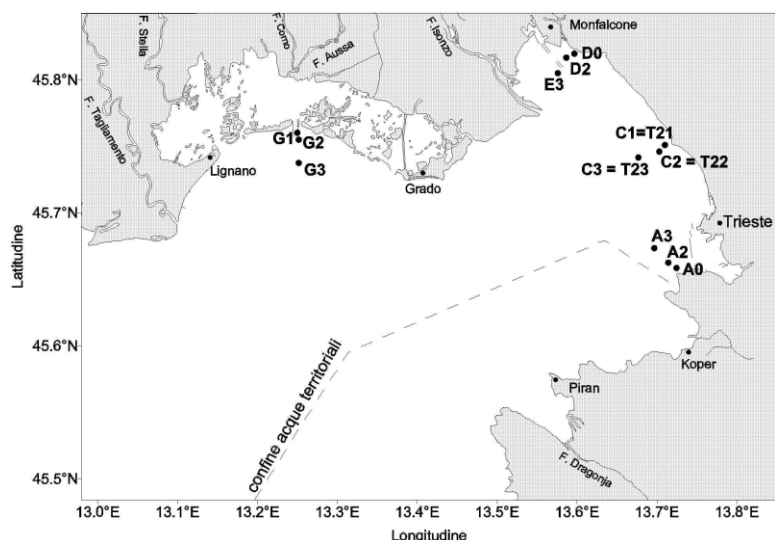


Figura 7. Area di campionamento nella Regione Friuli.

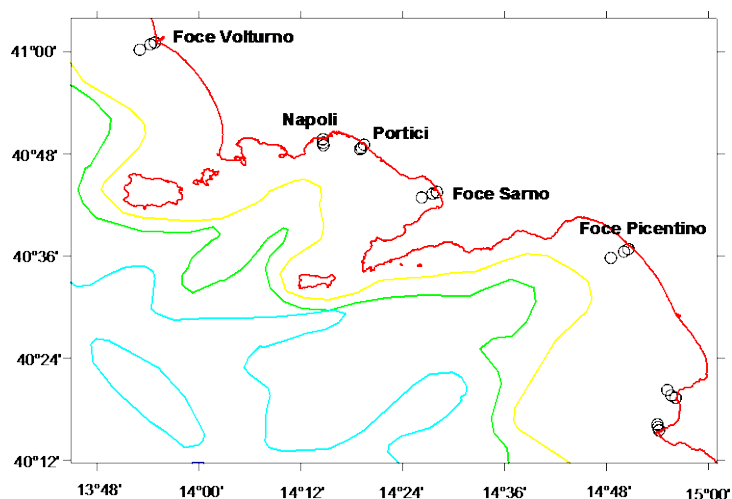


Figura 8. Area di campionamento nella Regione Campania.

Le stazioni coincidono con quelle monitorate mensilmente dalle ARPA delle tre regioni per la definizione dello stato di qualità delle acque costiere. I campionamenti a bordo dei natanti, cortesemente messi a disposizione dall'ARPA Veneto, dal Laboratorio di Biologia Marina di Trieste e dalla Stazione Zoologica A. Dohrn per la costa campana sono stati affidati a personale altamente qualificato della EcoTechSystems s.r.l., spin-off dell'Università Politecnica delle Marche.

I campioni sono stati raccolti mediante benna Van Veen e sub-campionati mediante carotatori manuali in plexiglass. Da ciascuna carota estrusa sono stati prelevati i primi 2 cm di sedimento che, opportunamente mescolati per rendere omogenea la distribuzione della materia organica, sono stati posti in capsule Petri e congelati a -20 °C.

I campioni di sedimento per l'analisi della meiofauna (primi 2 cm) sono stati fissati con formalina (concentrazione finale 4% in acqua di mare) e colorati mediante Rosa Bengala (0.5 g l<sup>-1</sup>).



### *Analisi biochimiche dei sedimenti*

Le concentrazioni di clorofilla-a (Chl-a) sedimentaria sono state determinate spettrofluorimetricamente secondo protocolli standard (Plante-Cuny 1974, Shuman e Lorenzen 1975, Lorenzen e Jeffrey 1980).

I lipidi totali sedimentari sono stati misurati mediante spettrofotometria dopo estrazione in cloroformio: metanolo (Bligh and Dyer 1959) e carbonizzazione in acido solforico (Marsh and Weinstein 1966). Le concentrazioni di lipidi sono riportate come equivalenti di tripalmitina e normalizzati a peso secco di sedimento.

I dati delle concentrazioni di proteine totali sono stati determinati secondo la procedura di Lowry et al. (1951) modificata da Hartree (1972) e Rice (1982) per compensare l'interferenza di fenolo.

Le concentrazioni di carboidrati totali sono state ottenute secondo Gerchacov e Hatcher (1972). Questo protocollo è basato sullo stesso principio della reazione del fenolo e dell'acido solforico concentrato con i saccaridi riportato precedentemente da Dubois et al. (1956), ma è specificamente adattato per la determinazione dei carboidrati nei sedimenti.

La concentrazione di carbonio organico biopolimerico (BPC) è stata calcolata come somma di equivalenti di carbonio di proteine, carboidrati ed lipidi, usando rispettivamente 0.49, 0.4 e 0.75  $\mu\text{g C } \mu\text{g}^{-1}$  come fattori di conversione (Fabiano et al. 1995).

Il contributo dei fitopigmenti al carbonio organico è generalmente stimato mediante l'uso di fattori di conversione che variano da 10 a 100  $\text{mgC mgChl-a}^{-1}$ . Il fattore di conversione usato in questo studio è di 40  $\text{mg C mgChl-a}^{-1}$  (Pusceddu et al. 2003b).

### *Meiofauna*

L'estrazione degli organismi della meiofauna dal sedimento mediante l'uso di setacci e centrifugazioni in gradiente di densità ed il conteggio sono stati condotti secondo Danovaro et al. (2003). La densità del popolamento meiobentonico è stata riportata ad una superficie nota di sedimento ( $10 \text{ cm}^2$ ). Per ciascun campione è stato quindi rilevato il numero di taxa.

### *Indici di legge (TRIX)*

Per opportuna analisi comparativa degli indicatori sviluppati in questo studio, sono stati cortesemente messi a disposizione dall'ARPA Veneto e dalla Stazione Zoologia A. Dohrn le concentrazioni di nutrienti inorganici, clorofilla-a in acqua e tenore d'ossigeno per il calcolo dell'indice legislativo TRIX, calcolato secondo il DLgs 152/99.

### *Analisi statistiche*

Le differenze nei valori di tutte le variabili analizzate tra le stazioni e le aree di campionamento sono state testate per mezzo dell'analisi della varianza (ANOVA). Quando si è osservata una differenza significativa, si è effettuato un post-hoc test di Tukey. Per definire la similarità tra stazioni, transetti e aree di campionamento sono state applicate tecniche di analisi multivariata (MDS, Cluster).

## Sintesi dei risultati ottenuti nella fase di ricognizione in campo

### *Stato trofico dei sedimenti marini costieri*

In tutte le aree campione sono state osservate concentrazioni di C biopolimerico statisticamente differenti tra stazioni di campionamento (Fig. 9).

In particolare, le concentrazioni alla foce del fiume Sarno (in media  $>20 \text{ mgC g}^{-1}$ ) sono risultate tra le più elevate mai riscontrate in letteratura. A causa della presenza di importanti input fluviali (e.g. Piave), le concentrazioni di C biopolimerico nei sedimenti della Regione Veneto – simili ai valori riportati in precedenza (Dell’Anno et al. 2003) - sono anch’essi relativamente elevati se confrontati con quelli riportati per aree tirreniche più oligotrofe come il Mar Ligure (Fabiano et al. 1995).

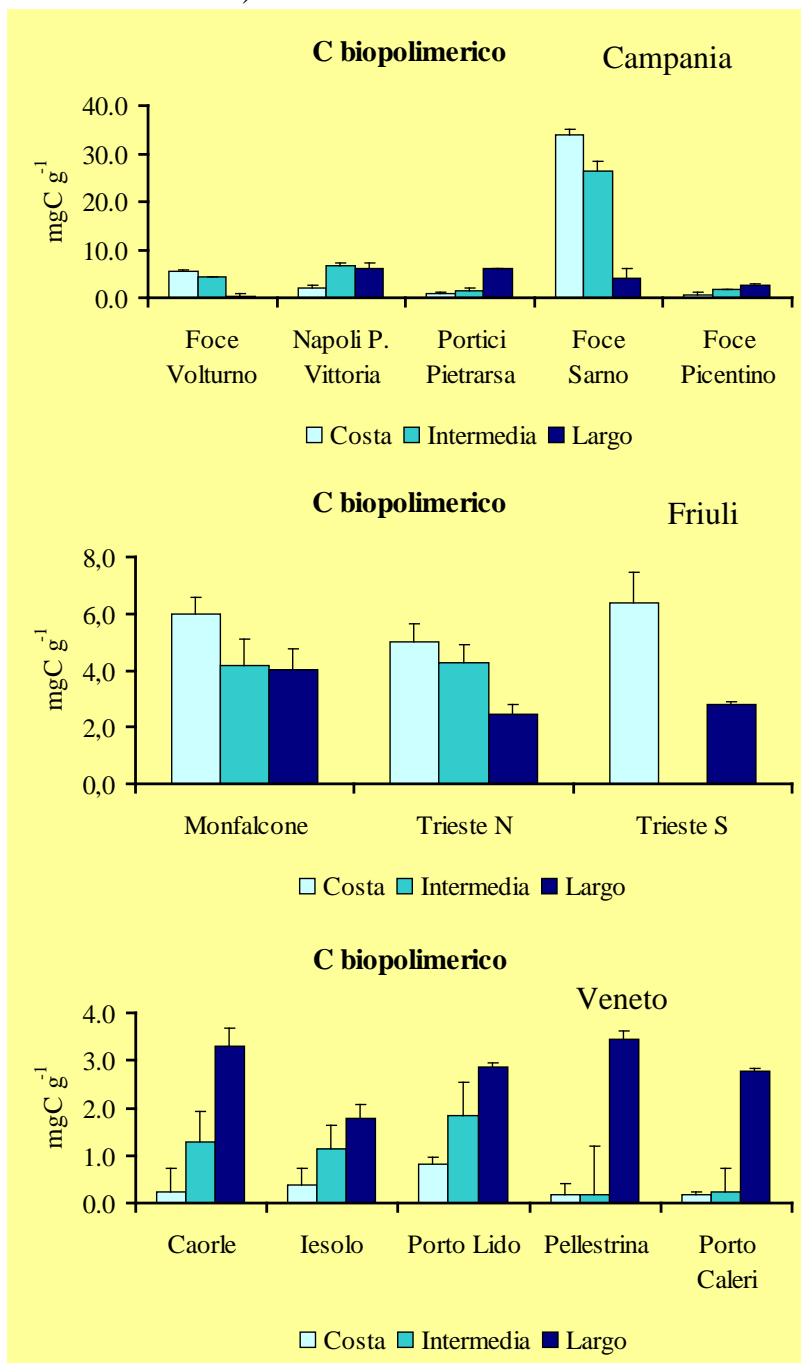


Figura 9. Concentrazioni di C biopolimerico nelle tre aree di studio: variazioni tra stazioni e transetti.

Inoltre, il confronto tra le tre aree di studio ha evidenziato che il contenuto di C biopolimerico nei sedimenti costieri della Regione Campania è in media 1.5-5 volte più elevato di quello nei sedimenti costieri della Regione Friuli e della Regione Veneto (Fig. 10).

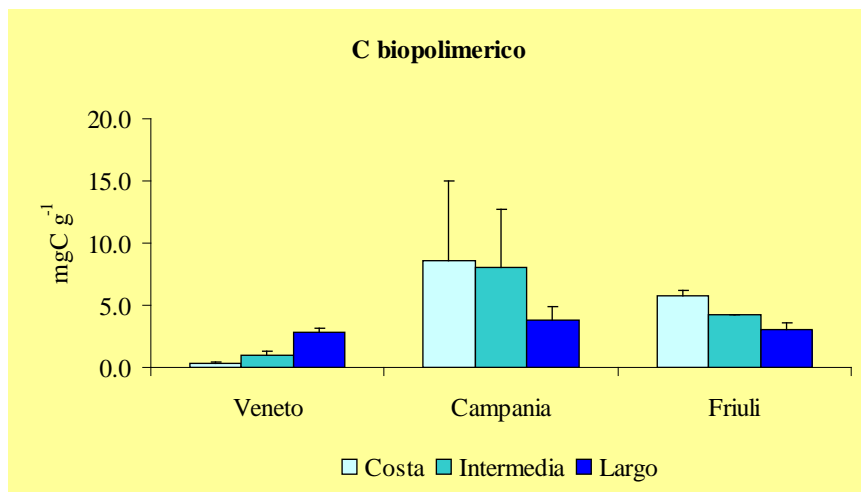


Figura 10 – C biopolimerico nelle aree campione

Le concentrazioni di C biopolimerico e di fitopigmenti sono risultate significativamente correlate solo nella Regione Veneto e nella regione Campania (Fig. 11a). Tuttavia, considerando tutte le stazioni insieme è evidente che le due variabili sono generalmente correlate (Fig. 11b). In tale relazione, tuttavia, le concentrazioni di fitopigmenti, spigano al massimo il 65% della varianza delle concentrazioni di C biopolimerico.

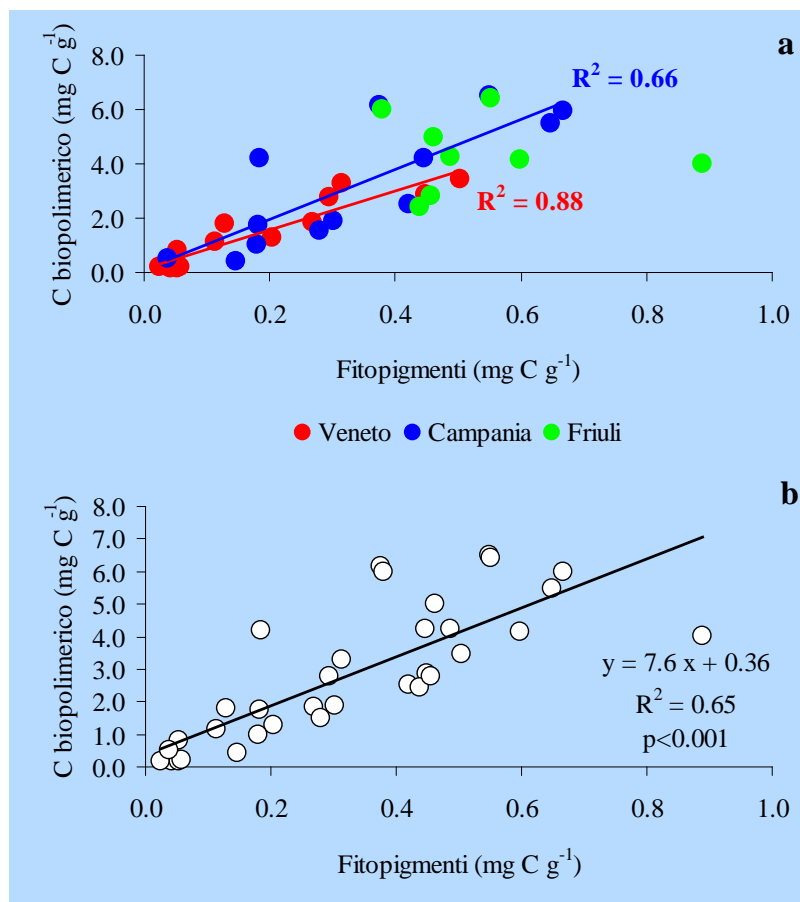


Figura 11 – Relazione tra C biopolimerico e fitopigmenti nelle aree campione.

In questo studio i valori della frazione autotrofa del C biopolimerico nei sedimenti della Regione Veneto sono fino a 3 volte più elevati di quelli nei sedimenti della Regione Campania e che i valori di tale contributo tendono a diminuire esponenzialmente al crescere delle concentrazioni di C biopolimerico nei sedimenti (Fig. 12).

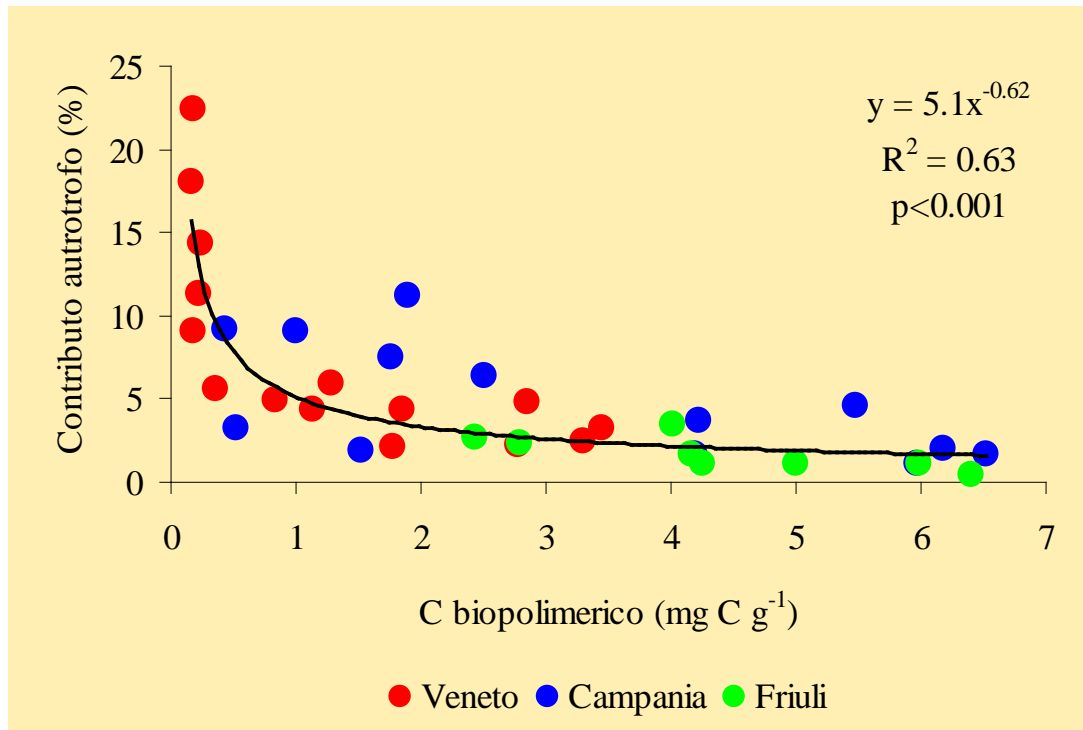


Figura 12 – Relazione tra C biopolimerico frazione autotrofa nelle aree campione.

### *Risposte bentoniche ai cambiamenti di qualità ambientale: la meiofauna*

In tutte le aree, indipendentemente dalla disponibilità delle risorse e dalla batimetria, le comunità meiobentoniche hanno una composizione simile e confrontabile con quelle rinvenute in altre aree costiere (Moore e Bett, 1989; Mirto et al. 2000; Danovaro et al 2000). I Nematodi risultano essere il taxon dominante in tutti i transetti (valore minimo >59%), seguito dai Copepodi (>2% con valore massimo 25%) e dai Policheti (massimo 7%).

Le maggiori differenze tra le tre aree di studio nella composizione della meiofauna emergono dall'analisi dei contributi dei taxa minori. Lungo la costa veneta, i Gastrotrichi e gli Anfipodi sono più rappresentati. Nei sedimenti della regione Campania questi gruppi sono assenti e sono invece sostituiti da Chinorinchi ed Ostracodi. Anche i Bivalvi sono più abbondanti lungo la costa campana, dove sono presenti in tutte le stazioni (fino al 6%). In tutte le stazioni della regione Friuli sono presenti i Gastrotrichi (fino al 9%).

Abbondanza e struttura di comunità della meiofauna mostrano chiare differenze tra transetti e possono essere pertanto utilizzati come variabili per la discriminazione tra stazioni e i transetti di ciascuna area costiera. A tal fine, è stata condotta un'analisi multivariata Cluster prendendo in considerazione solo i parametri relativi alla meiofauna sia in termini di abbondanza totale che di abbondanza dei gruppi principali.

Lungo la costa campana (Fig. 13) appare molto evidente la discriminazione della stazione di costa della Foce del Sarno rispetto a tutte le altre stazioni, che sono invece tra loro molto simili (>85% di similarità).

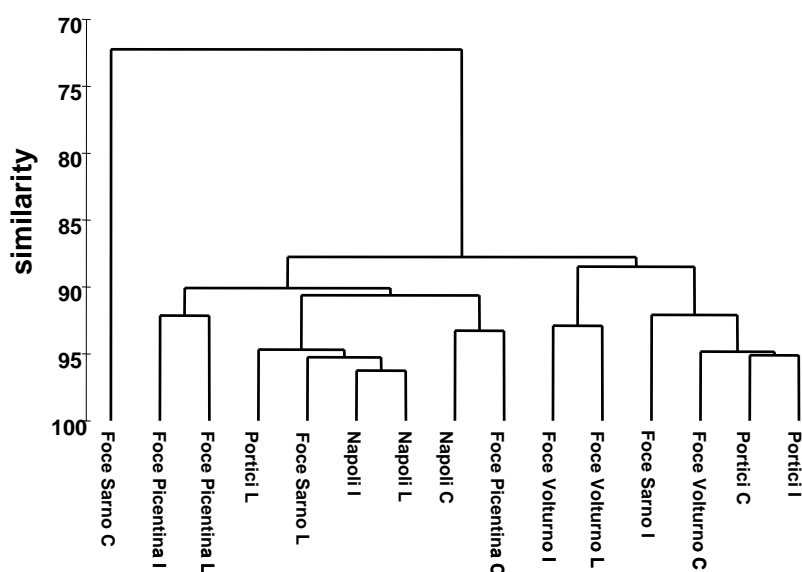


Figura 13. Analisi Cluster sulle stazioni della costa della regione Campania.

Lungo la costa veneta (Fig. 14), invece, i risultati dell'analisi Cluster hanno evidenziato che la similarità tra le stazioni ed i transetti è molto elevata (>90%).

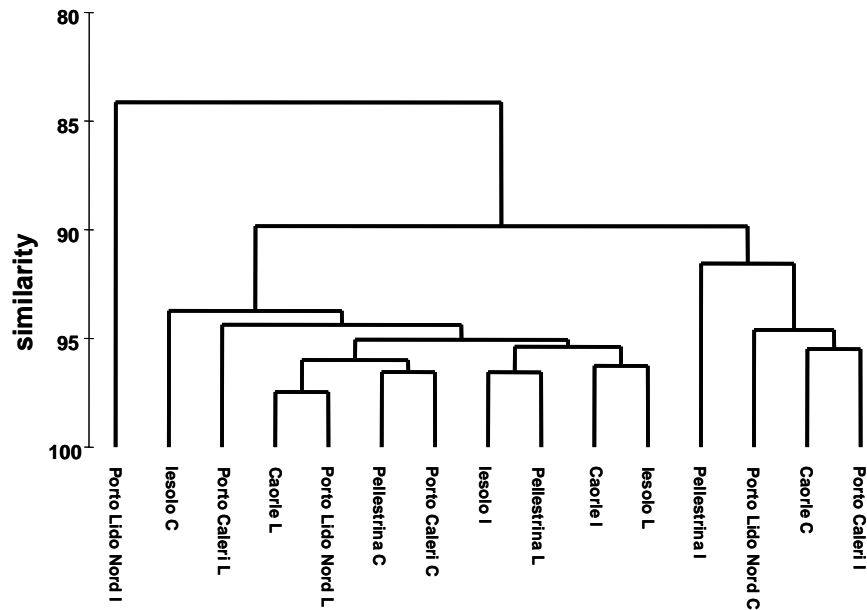


Figura 14 - Analisi Cluster sulle stazioni della costa della regione Veneto.

Nella regione Friuli (Fig. 15) la similarità tra le stazioni è molto elevata (>85%) e solo la stazione di largo del transetto Trieste Sud si discosta significativamente dalle altre.

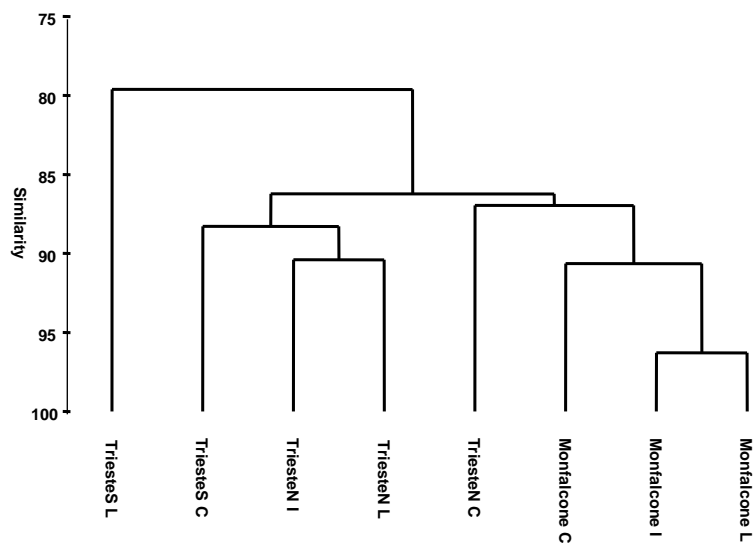


Figura 15 - Analisi Cluster sulle stazioni della costa della regione Friuli.

L'abbondanza della meiofauna nei siti di studio ha mostrato differenze significative tra le tre aree costiere, ed in particolare, lungo la costa campana i valori di abbondanza sono risultati più alti che nelle altre due regioni (Fig. 16).

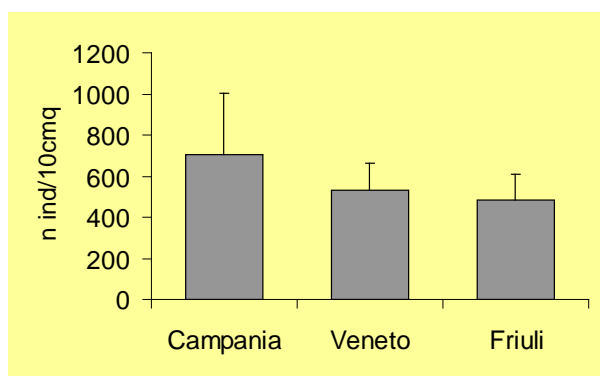


Figura 16 – Abbondanza della meiofauna nelle tre aree campione.

Tale andamento è in accordo con quanto riportato per la sostanza organica e suggerisce che la disponibilità delle risorse (in termini di C biopolimerico) è un importante fattore che lega stato trofico e qualità ambientale (in termini di abbondanza del meiobenthos).

Infatti, nei sedimenti della costa campana, più ricchi in termini di C biopolimerico, il numero dei taxa è maggiore di quello riscontrato lungo le coste delle altre due regioni. Nella Regione Campania nella sola stazione di costa della Foce Sarno si osserva una forte riduzione del numero dei taxa (appena 2), in coincidenza di un carico organico prossimo alla distrofia. In tutte le altre stazioni dell'area campana, il numero dei taxa varia tra 7 e 12, nel Veneto tra 4 e 9 ed in Friuli tra 6 e 10 (Fig. 17).

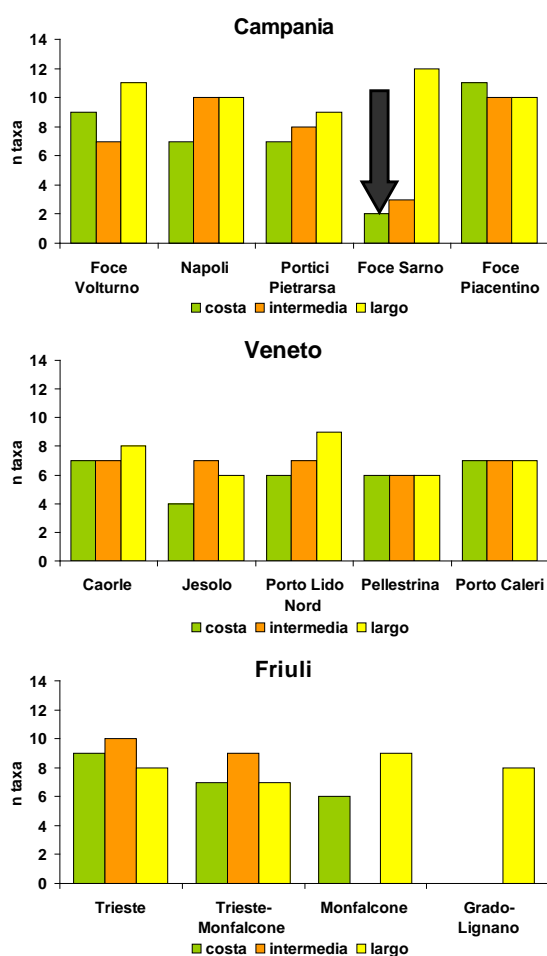


Figura 17 – Numero dei taxa della meiofauna nelle aree

### Il nuovo indicatore di stato trofico

Sulla base dei risultati di campo, è stato possibile mettere a punto un nuovo indice sintetico che tiene conto delle concentrazioni di C biopolimerico nei sedimenti e della sua frazione di origine autotrofa. Ad entrambe le variabili è attribuito un punteggio, la cui somma, variando da 2 a 6, permette di identificare cinque categorie di stato trofico.

<b>C biopolimerico</b>		
Concentrazione (mg C g <sup>-1</sup> )	Punteggio	Stato trofico
<1	1	Oligotrofico
1-5	2	Mesotrofico
5-10	3	Eutrofico

<b>Contributo autotrofo</b>		
% (del C biopolimerico)	Punteggio	Stato trofico
>15	1	Oligotrofico
1-15	2	Mesotrofico
<1	3	Eutrofico

Valore dell'indice	Stato trofico
2	Ultra-oligotrofico
3	Oligotrofico
4	Mesotrofico
5	Eutrofico
6	Ipertrofico

I sedimenti della Regione Campania e della Regione Veneto sono stati classificati sulla base di tale indice ed i risultati messi a confronto con i valori dell'indice legislativo TRIX misurati contestualmente al campionamento dei sedimenti. Per tali aree i valori del TRIX non sono correlati con alcuno degli indicatori di stato trofico dei sedimenti (Fig. 18). E' evidente, inoltre, che il nuovo indice presenta un maggiore campo di variabilità di quello suggerito nei criteri legislativi nazionali.

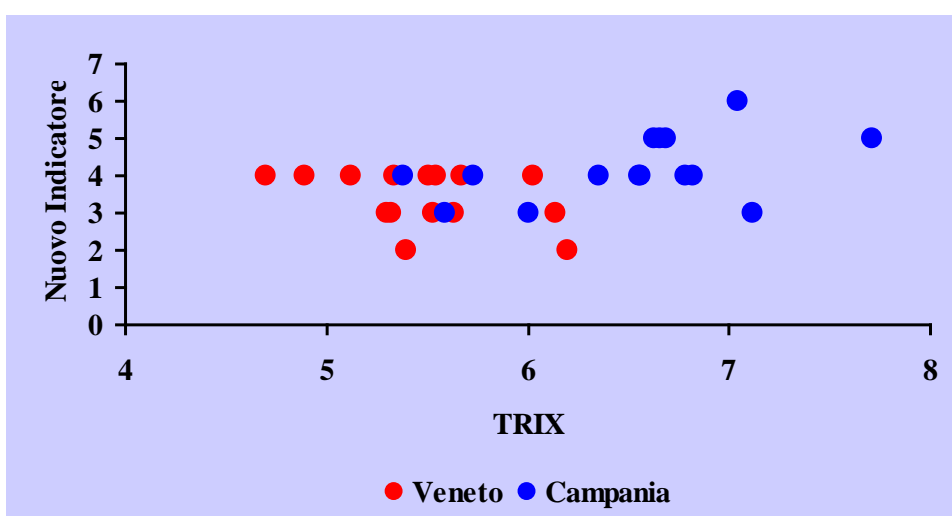


Figura 18 – Valori dell'indice TRIX ed il nuovo indicatore di stato trofico in Veneto e Campania



Inoltre, dal confronto tra i valori dei due indici in tutte le stazioni e tutti i transetti è possibile mettere in evidenza che i due indici forniscono spesso una classificazione dello stato trofico del sistema differente (Fig. 19). Tali differenze sono da ascrivere ai diversi processi che avvengono in colonna d'acqua e nei sedimenti.

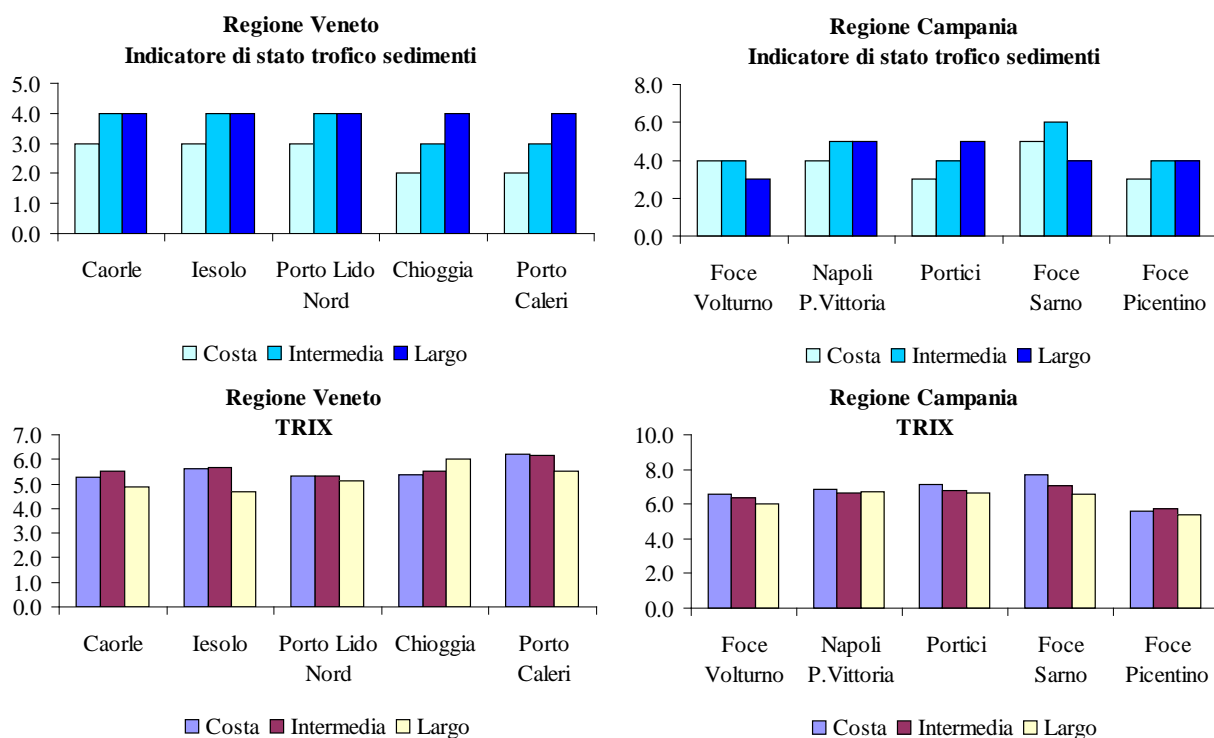


Figura 19 – Confronto tra TRIX e nuovo indicatore nelle aree campione

### Meiofauna come indicatore della qualità ambientale

Le informazioni relative alla diversità della meiofauna in termini di ricchezza di taxa, sono molto utili per avere informazioni sullo stato di salute di un ecosistema. Recentemente, Danovaro et al. (2003) hanno proposto una classificazione della qualità ambientale sulla base del numero di taxa della meiofauna (Tabella 3).

Tabella 3 – Numero di taxa meiobentonici come indicatore di qualità ambientale

<b>Forte Impatto</b> <b>&lt;4</b>	<b>Impatto moderato</b> <b>4-7</b>	<b>sufficiente</b> <b>8-11</b>	<b>buono</b> <b>12-15</b>	<b>ottimo</b> <b>&gt;16</b>
Nematodi	<i>tutti i precedenti</i>	<i>tutti i precedenti</i>	<i>tutti i precedenti</i>	
Copepodi	e	e	e	
Policheti	Chinorichi	Tanaidacei	.....	
	Oligocheti			
	Gastrotrichi			
	Anfipodi			
	Bivalvi			
	Ostracodi			
	Cumacei			
	Isopodi			

Applicando tale classificazione è stato possibile discriminare chiaramente le tre aree in termini di distribuzione dello stato di qualità ambientale (Fig. 20).

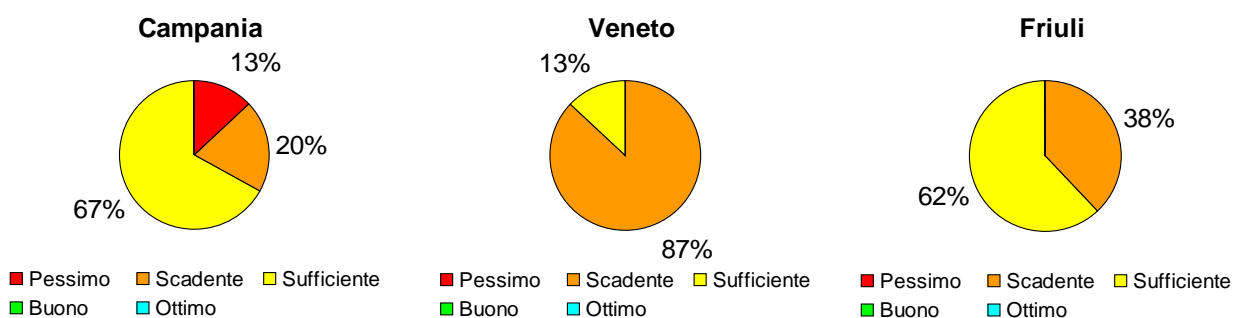


Fig. 20 – Stato di qualità ambientale delle aree campione sulla base del numero di taxa meiobentonici

### Relazioni tra stato trofico e qualità ambientale.

Il DLgs 152/99 attribuisce all'indice TRIX la possibilità di discriminare in termini qualitativi lo stato trofico. Tuttavia, questo approccio ha mostrato alcuni limiti nella sua applicazione estensiva in quanto non necessariamente un ambiente ricco di nutrienti è caratterizzato da una scarsa qualità ambientale, così come un ambiente povero di nutrienti è necessariamente privo di ogni impatto e con elevata qualità ambientale.

I nuovi indicatori messi a punto nel nostro studio sono tra loro correlati (Fig. 21). In particolare, il numero minimo di taxa si osserva sia in condizioni di carenza di risorse (freccia blu), sia in presenza di carichi organici eccessivi (freccia rossa), così che l'indicatore di stato trofico contiene una certa quantità di informazione circa lo stato di qualità ambientale dei sedimenti.

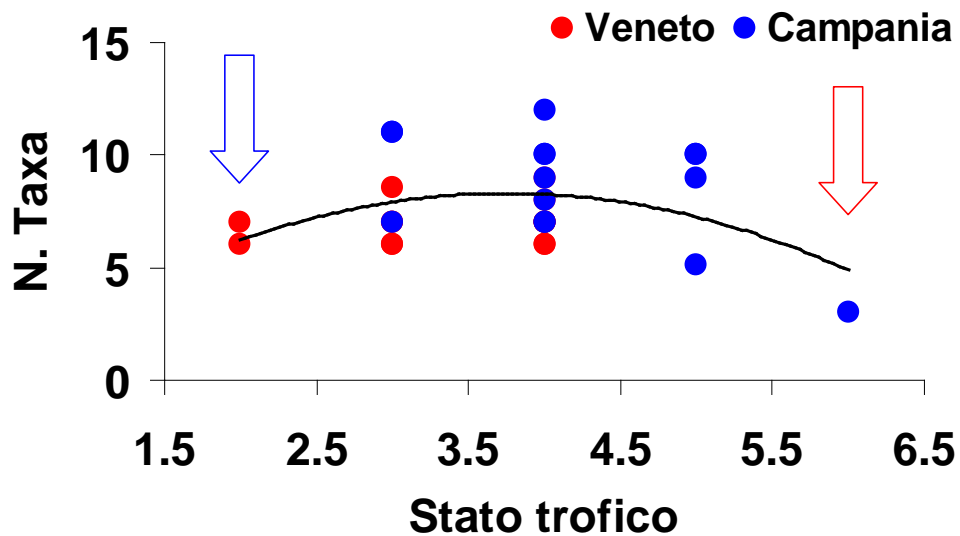


Figura 21 – Confronto tra TRIX e nuovo indicatore nelle aree campione

### Validazione degli indicatori in altri contesti ambientali

Al fine di validare l'efficacia dei nuovi indicatori messi a punto nel corso del progetto, abbiamo applicato entrambi gli indicatori su una serie di dati raccolti in sedimenti interessati da impianti di maricoltura in tre regioni Mediterranee: una in Italia, una in Spagna ed una in Grecia. Questi dati derivano da un progetto europeo (MEDVEG, *Effects of nutrient release from Mediterranean fish farms on benthic vegetation in coastal ecosystems*) conclusosi nel 2004. Campionamento e metodologie di analisi dei campioni – sia per la sostanza organica sedimentaria, sia per la meiofauna - erano coerenti con quelle riportate nel capitolo 4 di questa relazione.

Nelle tre aree prese in considerazione sono stati effettuati campionamenti sotto impianti di maricoltura ed in siti di controllo distanti almeno 1500 m. I risultati delle analisi hanno permesso di determinare sia lo stato trofico sia il livello di qualità ambientale di tutte le stazioni. Dal confronto tra controllo ed impatto in tutte le tre aree emerge la tendenza all'incremento dello stato trofico nei sedimenti sottostanti le gabbie, per altro accompagnato da una diminuita qualità ambientale (Fig. 22)

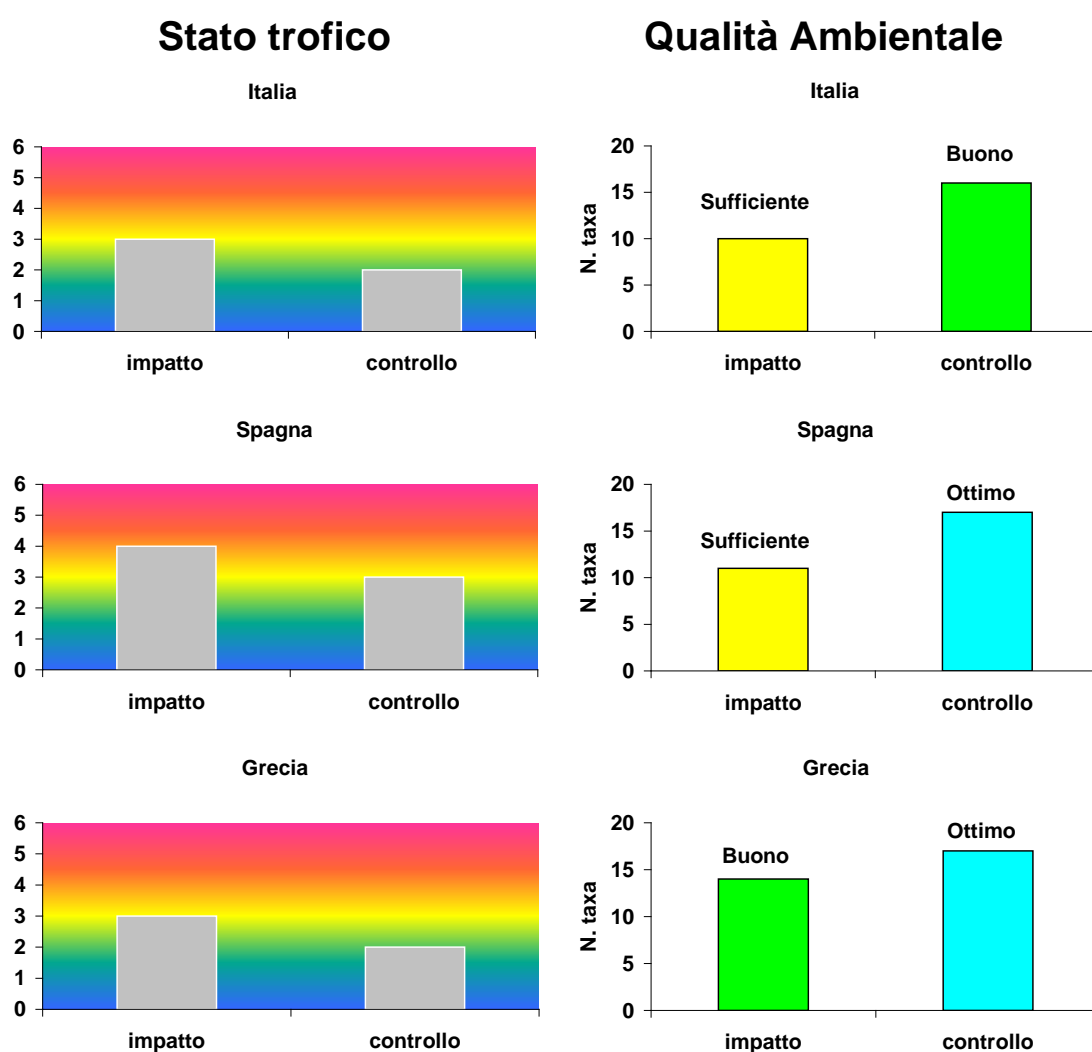


Figura 22 – Stato trofico e qualità ambientale in sedimenti caratterizzati da reflui di maricoltura.

### **Linee-guida e limitazioni all'uso dei nuovi indicatori**

Le ricerche condotte nel corso di questo studio hanno permesso di individuare e validare due nuovi indicatori: il primo utile alla valutazione dello stato trofico ed il secondo capace di valutare la qualità ambientale degli ambienti marini costieri mediterranei.

L'indicatore di stato trofico si basa sul concetto ecologico di arricchimento organico come indicatore dello stato trofico dell'intero sistema ed è basato sulla quantità ed origine del materiale organico nei sedimenti. Le variabili scelte (composizione biochimica in termini di lipidi, proteine e carboidrati e contenuto di fitopigmenti) costituiscono uno strumento di valutazione dell'arricchimento organico più sensibile della quantità totale di carbonio organico nei sedimenti.

Le soglie di attribuzione dei punteggi per l'indicatore di stato trofico sono state basate sul giudizio esperto ottenuto da una metanalisi condotta su oltre 100 siti differenti localizzati in Mediterraneo ed in tutti gli oceani del globo, con informazioni normalizzate per profondità di campionamento e latitudine.

Gli indicatori qui riportati sono stati validati per sedimenti mobili entro la batimetrica dei 200 metri (ovvero entro la platea continentale, come previsto dalla legge vigente). Allo stato attuale non possono essere utilizzati in habitat caratterizzati dalla presenza di fanerogame marine (e.g. *Posidonia oceanica*) e per il coralligeno.

L'indicatore di qualità ambientale basato sul numero di taxa meiobentonici (Danovaro et al. 2003), è stato testato con successo anche in questo progetto e risulta utilizzabile entro la batimetrica dei 200 metri (entro la platea continentale) su tutti i tipi di sedimenti mobili. La presenza di meiofauna sui fondi duri potrebbe permetterne l'utilizzo anche su tale tipo di substrato, ma solo previa opportuna ricalibrazione.

L'applicazione dei nuovi indicatori nella fase sperimentale in campo ha permesso di discriminare le differenze tra aree di campionamento e, all'interno di queste, tra diverse stazioni. La definizione definitiva delle soglie e la standardizzazione delle classi di stato trofico e qualità ambientale potrà essere migliorata grazie ad una applicazione su scala nazionale.

Questi due nuovi indicatori hanno tutte le caratteristiche per entrare a far parte dell'implementazione della Dlgs 152/99 già prevista dalla legislazione italiana in quanto:

- a) recepiscono lo spirito della Direttiva Acque della Comunità Europea;
- b) integrano gli indicatori attualmente in uso (e.g., TRIIX) perché prendono in considerazione il comparto bentonico;
- c) sono stati validati su un data set mondiale con particolare riferimento al quadro ambientale italiano e mediterraneo;
- d) permettono di ottenere informazioni sintetiche che rispecchiano le effettive condizioni ambientali;
- e) sono altamente sensibili alle variazioni di stato trofico e qualità ambientale;
- f) sono facilmente applicabili ed utilizzabili dagli operatori delle ARPA;
- g) sono rapidi ed a basso costo.

La qualità dell'informazione, la semplicità delle operazioni di campionamento e la relativa facilità delle metodiche analitiche dei nuovi indicatori di stato trofico e qualità ambientale degli ambienti marini costieri ed il loro costo estremamente contenuto suggeriscono che questi possano entrare rapidamente nel bagaglio operativo di tutte le ARPA.

## **Divulgazione dei prodotti della ricerca**

Una prima parte dei prodotti del presente progetto sono stati presentati in contesti scientifici nazionali ed internazionali. Un'altra parte dei dati è attualmente sottoposta a riviste scientifiche internazionali per la valutazione ed eventuale pubblicazione:

1. **Pusceddu A.**, Dell'Anno A., Danovaro R. (2004) Detritus-supply side ecology: a benthic approach for the assessment of marine systems' trophic state. Presentato al *Congresso congiunto CoNISMa-AIOL*, Terrasini, 18-22 ottobre 2004.
2. **Danovaro, R. and Pusceddu A.** (2005) New ecological indicators of trophic state and environmental quality of coastal marine ecosystems. Workshop of the CLEAN BLACK SEA WORKING GROUP, Varna (Bulgaria), 2-5 June, 2005
3. **Pusceddu A.**, Dell'Anno A., Fabiano M., Cividanes S.P., Danovaro R. Detritus-supply side ecology: an alternative benthic approach for the assessment of marine systems' trophic state. *Oecologia*, submitted.

In collaborazione con APAT, l'Unità Locale di Ricerca del CoNISMa presso l'Università Politecnica delle Marche (Ancona) ha partecipato alle attività seminariali di formazione tenutesi presso l'Università di Lecce dal 20 al 22 giugno 2005, nel corso delle quali sono stati presentati i due nuovi indicatori e le relative metodiche di campionamento ed analisi.

In particolare, queste ultime – pubblicate anche nel volume speciale “Manuale di Metodologie di Campionamento ed Analisi del Benthos Marino Mediterraneo” edito da APAT e SIBM – sono state riassunte in due video CD a carattere divulgativo destinate alla formazione “ex-situ” del personale ARPA. Tali CD sono depositati presso APAT.

## BIBLIOGRAFIA

- Albertelli, G., Covazzi-Harriague, A., Danovaro, R., Fabiano, M., Frascchetti, S., and Pusceddu, A. 1999. Differential responses of bacteria, meiofauna and macrofauna in a shelf area (Liguria Sea, NW Mediterranean): role of food availability. *Journal of Sea Research* 42, 11-26
- Behrenfeld, M.J., Bale, A.J., Kolber, Z.S., Aiken, J., and Falkowski, P.G. 1996. Confirmation of iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the Equatorial Pacific Ocean. *Nature* 383, 508-511
- Bligh, E.G., and W. J. Dyer. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917
- Bryan, G., Langstone, W.L., Hurmeston, L.G., and Burt, G.R. 1985. A guide to the assessment of heavy-metal contamination in estuaries using biological indicators. *Journal Marine Biology Association UK* 4, 1-92
- Cloern, J.E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210, 223-253
- Conde, D., Bonilla, S., Aubriot, L., de Leon, R., and Pintos, W. 1999. Comparison of the areal amount of chlorophyll a of planktonic and attached microalgae in a shallow coastal lagoon. *Hydrobiologia* 408/409, 285-291
- Coull, B.C. 1988. Ecology of the marine meiofauna. In: Higgins R.P., Thiel H. (eds), *Introduction to the study of meiofauna*. Smithsonian Institution Press, Washington DC, London (UK): 18-34
- Coull, B.C. 1999. Role of meiofauna in estuarine soft-bottom habitats. *Australian Journal of Ecology*, 24: 327-343
- Coull, B.C., and Bell, S.S. 1979. Perspectives of marine meiofauna ecology. In: *Ecological Processes in coastal and marine ecosystem*. Livingston R.J. ed., Plenum Publishing Company NY, pp. 189-216
- Coull, B.C., and Chandler, G.T. 1992. Pollution and meiofauna: field, laboratory and mesocosm studies. *Oceanography Marine Biology Annual Review*, 30: 191-271
- Danovaro, R. 1996. Detritus-Bacteria-Meiofauna interactions in a seagrass bed (*Posidonia oceanica*) of the NW Mediterranean. *Marine Biology* 127, 1-3
- Danovaro, R., and Fabiano, M. 1996. Meiofaunal production in Subtidal sediments of the Ligurian Sea: potential contribution of bacteria and microphytobenthos to the food demand. In: Albertelli g., De Maio A., Picazzo M. (eds), *Proceedings 11<sup>th</sup> Conference of the Italian Association of Oceanology and Limnology AIOL*, Genova: 603-613
- Danovaro, R., and Gambi C. 2002. Biodiversity and trophic structure of nematode assemblages in seagrass systems: evidence for coupling with changes in food availability. *Marine Biology* 141, 667-677

- Danovaro, R., Dell'Anno, A., Martorano, D., Parodi, P., Marrale, D., and Fabiano, M. 1999b. Seasonal variation in the biochemical composition of deep-sea nematodes: bioenergetic and methodological considerations. *Marine Ecology Progress Series* 179, 273-283
- Danovaro, R., Della Croce, N., Eleftheriou, A., Fabiano, M., Papadopoulou, N., Smith, C., and Tselepides, A. 1995. Meiofauna of the Deep Eastern Mediterranean Sea: distribution and abundance in relation to bacterial biomass, organic matter composition and other environmental factors. *Progress in Oceanography* 36, 329-341
- Danovaro, R., Della Croce, N., Eleftheriou, A., Fabiano, M., Papadopoulou, N., Smith, C., Tselepides, A. 1999c. Meiofauna of the deep Eastern Mediterranean Sea: distribution and abundance in relation to bacterial biomass, organic matter composition and other environmental factors. *Progress in Oceanography* 36:329-341
- Danovaro, R., Gambi, C., Mirto, S., Sandulli, R., and Ceccherelli, V.U. 2003. Meiofauna. In: *Manuale di metodologia di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo*. S.I.B.M. ed., *Biologia Marina Mediterranea*, 10, 61-108
- Dell'Anno, A., Incera, M., Mei, M.L., and Pusceddu, A. 2003. Mesoscale variability of organic matter composition in NW Adriatic sediments. *Chemistry and Ecology*, 19, 33-45
- Dell'Anno, A., Mei, M.L., Pusceddu, A., and Danovaro, R. 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Marine Pollution Bulletin* 44, 611-622
- Dubois, M., K. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28, 350-356
- Fabiano, M., and 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., and Frascchetti, 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). *Continental Shelf Research* 15, 1453-1469
- Feller, R. J., and Warwick, R.M. 1988. Energetics. In: Higgins, R.P., and Thiel, H. (eds), *Introduction to the study of meiofauna*. Smithsonian Institution Press, London: 181-196
- Findlay S.E.G. 1981. Small scale spatial distribution of meiofauna on a mud- and sandflat. *Estuarine Coastal Shelf Science* 12, 471-484
- Gerchacov, S. M., and P. G. Hatcher. 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediment. *Limnology and Oceanography* 17, 938-943
- Gerlach, S.A. 1977. Attraction of decaying organisms as a possible cause for patchy distribution of nematodes in Bermuda Beach. *Ophelia* 16, 151-165
- Giere, O. 1993. *Meiobenthology. The microscopic fauna in aquatic sediments*. Springer Verlag, Berlin 328 pp



- Goldberg, E.W., Bowen, U.L., Farrington, J.W., Harvey, G., Martin, J.H., Parker, P. L., Riseborough R.W., Robertson, W., Schneider, E., and Gamble, E. 1978. The mussel watch. *Environmental Conservation* 5, 1-25
- Gray, J.S., and Rieger, R.M. 1971. A quantitative study of meiofauna of an exposed sandy beach at Robin Hood's Bay, Yorkshire. *Journal Marine Biology Association UK*, 51, 1-20
- Guerrini, A., Colangelo, M.A., Ceccherelli V.U., Baden, S., Pihl, L., Stromberg, J.O., Svane, I., Rosenberg R., and Tiselius, P. 1998. Recolonization patterns of meiobenthic communities in Brackish vegetated and unvegetated habitats after induced hypoxia/anoxia. *Hydrobiologia* 375-376, 73-87
- Hartree, E. F. 1972. Determination of proteins: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry* 48, 422-427
- Herman, P.M.J., and Heip, C. 1983. Long-term dynamics of meiobenthic populations. *Oceanologica Acta* 14, 109-112
- Herman, R., Vincx, M., and Heip, C. 1985. Meiofauna of the Belgian coastal water: Spatial and temporal variability and productivity. In: *Concerted Actions Oceanography*. Ministry of Science Policy Final Report 3, 65-80
- Hicks G. R. F. 1977. Species composition and zoogeography of marine phytal Harpacticoid copepods from Cook Strait, and their contribution to total phytal meiofauna. *New Zealand Journal Marine Freshwater Research*, 11: 441-469
- Karl, D.M., Knauer, G.A., and Martin, J.H. 1988. Downward flux of particulate organic matter in the ocean: A particle decomposition paradox. *Nature* 332, 438-441.
- Krieger, J., Giere, O., and Dubilier, N. 2000. Localization of RubisCo and sulfur in endosymbiotic bacteria of the gutless marine oligochaete *Inanidrilus leukodermatus* (Anellida). *Marine Biology* 137, 239-244
- Lee, J.J. 1980. Nutrition and physiology of protozoa. Vol.3. Levandowschy M. & Hutner S.M. eds., London Accademic Press pp.43-66
- Lorenzen, C. J., and S. W. Jeffrey. 1980. Determination of chlorophyll and phaeopigments spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12, 343-346.
- Lowry, O. H., N. S. Rosenbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275
- Lucas, C.H., Widdows, J., Brinsley, M.D., Salkeld, P.N., and Herman, P.M.J. 2000. Benthic-pelagic exchange of microalgae at a tidal flat. 1. Pigment analysis. *Marine Ecology Progress Series* 196, 59-73
- Marsh, J. B., and D. B. Wenstein. 1966. A simple charring method for determination of lipids. *Journal of Lipid Research* 7, 574-576

- Mazzola, A., Mirto, S., and Danovaro, R. 1999. Initial fish-farm impact on meiofaunal assemblages in coastal sediments of the western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 38, 1126-1133
- Mazzola, A., Mirto, S., La Rosa, T., Danovaro, R., and Fabiano, M. 2000. Fish Farming effects on benthic community structure in coastal sediments: analysis of the meiofaunal resilience. *ICES Journal Marine Science* 57, 1454-1461
- Mc Lachaln, A. 1978. A quantitative analysis of the meiofauna and the chemistry of the redox potential discontinuity zone in a sheltered sandy beach. *Estuarine Coastal Shelf Science* 7, 275-290
- Middelburg, J.J., Nieuwenhuize, J., and van-Breugel, P. 1999. Black carbon in marine sediments. *Marine Chemistry* 65, 245-252
- Mirto, S., La Rosa, T., Danovaro, R., and Mazzola, A. 2000. Microbial and meiofaunal response to intensive mussel-farm biodeposition in coastal sediments of the Western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 40, 244-252
- Mirto, S., La Rosa, T., Gambi, C., Danovaro, R., and Mazzola, A. 2002. Nematode community response to fish-farm impact in the western Mediterranean. *Environmental Pollution* 116, 203-214
- Moore, C.G., and Bett, B.J. 1989. The use of meiofauna in marine pollution impact assessment. *Zoological Journal of the Linnean Society* 96, 263-280
- Nixon, S.W. 1995. Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41, 199-219
- Pinckney, J., and Sandulli, R. 1990. Spatial autocorrelation analysis of meiofaunal and microalgal populations on an inntertidal sandflat: scale linkage between consumers and resources. *Estuarine Coastal Shelf Science* 30, 341-353
- Plante-Cuny, M. R. 1974. Evaluation par spectrophotométrie des teneurs en chlorophyl-a fonctionelle er en phaeopigments des substrates meubles marins. *ORSTOM Nosy-Bé*, 1-45
- Pusceddu, A., Dell'Anno, A., Fabiano, M., and Danovaro, R. 2003b. Quantità e composizione biochimica della materia organica nei sedimenti marini. *Biologia Marina Mediterranea* 10, 43-60
- Pusceddu, A., Dell'Anno, A., and Fabiano, M. 2000. Organic matter composition in coastal sediments at Terra Nova Bay (Ross Sea) during summer 1995. *Polar Biology* 23, 288-293
- Pusceddu, A., Dell'Anno, A., Danovaro, R., Manini, E., Sarà, G., Fabiano, M. 2003a. Enzymatically hydrolyzable protein and carbohydrate sedimentary pools as indicators of the trophic state of 'detritus sink' systems: a case study in a Mediterranean coastal lagoon. *Estuaries* 26, 641-650

- Pusceddu, A., Sarà, G., Armeni, M., Fabiano, M., and Mazzola, A. 1999. Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea). *Hydrobiologia* 397, 59-70
- Rice, D. L. 1982. The detritus nitrogen problem: new observations and perspectives from organic geochemistry. *Marine Ecology Progress Series* 9, 153-162
- Shuman, F. R., and C. F. Lorenzen. 1975. Quantitative degradation of chlorophyll by a marine herbivore. *Limnology and Oceanography* 20, 580-586
- Soyer, J. 1985. Mediterranean Sea meiobenthos. In: *Mediterranean marine ecosystem*. M. Moraitou-Apostolopoulou and V. Kiortsis eds. Plenum Publishing Corporation N.Y. pp.85-108
- Turpin, D.H. 1991. Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. *Journal of Phycology* 27:14-20
- Vitiello, P. 1968. Variation de la densité du meiobenthos sur une aire restreinte. *Recherche Travail Statione Maritime Endoume*, 43: 261-270
- Vollenweider, R.A., F. Giovanardi, G. Montanari, and A. Rinaldi (1998). Characterization of the trophic conditions of marine coastal waters with special reference to the NW Adriatic Sea: Proposal for a trophic scale, turbidity and generalized water quality index. *Environmetrics* 9:329-357.
- Ward, T.J., and Jacoby, C.A. 1992. A strategy for assessments and management of marine ecosystems: baseline and monitoring studies in Jervis Bay, a temperate Australian embayment. *Marine Pollution Bulletin* 25, 163-171
- Wetzel, M., Jensen, P., and Giere, O. 1995. Oxygen/sulfide regime and nematode fauna associated with Arenicola-burrows: new insights in the thiobios case. *Marine Biology* 124, 301-312
- Windoffer, R., Jahn, A., Meyberg, F., and Giere, O. 1999. Sulphide-induced metal precipitation in the mantle edge of *Macoma baltica* (Bivalvia, Tellinidae) a means of detoxification. *Marine Ecology Progress Series* 187, 159-170
- Zegouagh, Y., Derenne, S., Largeau, C., Bertrand, P., Sicre, M.A., Saliot, A., and Rousseau, B. 1999. Refractory organic matter in sediments from the NorthWest African upwelling system: abundance, chemical structure and origin. *Organic Geochemistry* 30, 101-117





Stazione Zoologica 'A. Dohrn'

## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs.152/99**

### **Sottoprogetto**

**"Identificazione delle biocenosi di maggior pregio ambientale al fine della classificazione della qualità delle acque costiere"**

**Responsabile scientifico: Dott.ssa Maria Cristina Buia**  
**Responsabile Laboratorio di Ecologia del Benthos Stazione zoologica 'A. Dohrn' di Ischia**

**Autori: Maria Cristina Buia Filippo Silvestre, Gianluca Iacono, Luca Tiberti**

## ABSTRACT

La fanerogama *Posidonia oceanica* (L.) Delile, considerata universalmente un buon bioindicatore delle acque marine, viene spesso utilizzata in programmi di gestione della fascia costiera finalizzati al mantenimento e/o miglioramento della qualità dell'acqua. Il monitoraggio di un sistema complesso, come quello che questa fanerogama costituisce, avviene attraverso la raccolta e l'analisi di dati ed informazioni, la cui quantità aumenta in relazione all'ampiezza delle scale spaziali e temporali considerate. In alcuni casi tale quantità può essere troppo elevata per le potenzialità dei tradizionali strumenti di gestione dei dati. Per questo motivo, l'analisi di oltre 500.000 dati sul sistema a *Posidonia oceanica* e la loro differente natura (categorici, numerici, ecc.) ha richiesto lo sviluppo di un data base relazionale che facilitasse sia l'estrazione dei dati per le successive analisi, sia la connessione con strumenti di analisi e di reporting.

E' stato analizzato un set ridotto di dati, raccolti in 130 stazioni, comprese tra 0 e 40 m di profondità e situate nel settore centro-occidentale del Mediterraneo. A causa delle diverse scale spaziali e temporali, sei sono risultati i descrittori più idonei per la classificazione delle praterie: profondità, densità, larghezza fogliare, produzione e allungamento del rizoma, produzione fogliare. L'analisi dei dati, effettuata con il software Autoclass C, ha individuato tre cluster con elevata significatività, caratterizzati da combinazioni di valori decrescenti: elevati, medi e bassi.

L'utilizzo combinato del sistema di visualizzazione e delle praterie scelte come riferimento ha permesso di individuare due condizioni di stato ecologico per le praterie entro i 28m: stato elevato (o 'naturale') e stato basso (o 'non naturale'). Per le praterie site a profondità maggiore, l'unica classe ottenuta riflette lo stato naturale di siti che sono comunque al limite della distribuzione della specie. Analizzando singolarmente le praterie sulla base della classificazione ottenuta, si osserva che il 25% delle praterie studiate si trova in uno stato 'non naturale', confermando la regressione in atto nel nostro bacino.

I risultati ottenuti potranno essere ulteriormente elaborati per ottenere un sintetico indice biologico atto a definire lo stato di qualità delle acque.

## INTRODUZIONE

La fascia costiera è lo spazio in cui mare e terre emerse si incontrano ed interagiscono. La sua ampiezza varia in relazione alla natura dell'ambiente ed alle relazioni tra i processi marini e terrestri. Essa costituisce meno del 15% della superficie terrestre ed ospita più del 60% della popolazione mondiale. Sulle coste italiane sono insediati l'8% dei comuni nazionali (634/8100 comuni) con una popolazione pari al 30% del totale (fonti ISTAT).

Se il trend di colonizzazione della fascia costiera restasse costante, si potrebbe ipotizzare che entro il 2025 il 75% della popolazione mondiale risiederà in questa zona (UNCED, 1992).

Attualmente, a causa dell'eccessiva antropizzazione, il 34% delle coste mondiali è esposto ad elevato rischio di ogni tipologia di alterazione (Fig. 1) mentre un altro 17% è esposto ad un rischio moderato (World Resources Institute). In particolare l'86% delle coste dell'Europa sono esposte ad un elevato o moderato rischio di alterazione (Bryant *et al.*, 1995).

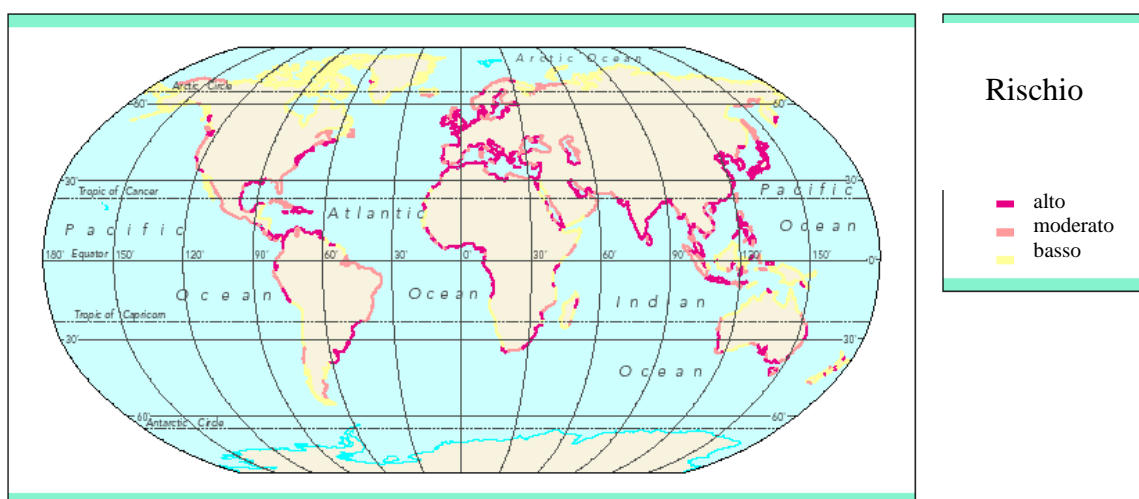


Fig. 1. Livello di rischio delle coste mondiali (da World Resource Institute, mod.)

L'eccessivo sviluppo delle attività legate all'antropizzazione (turismo, pesca, trasporti, scarico di reflui urbani non trattati) causa un continuo impoverimento della qualità delle acque, un sovraconsumo delle risorse sottomarine, la conversione di spazi naturali o agricoli in strutture di vario tipo nonché l'emissione di inquinanti nell'atmosfera.

Le conseguenze di questi fenomeni si manifestano sull'economia delle popolazioni rivierasche e nei casi più drammatici sulla salute pubblica. La fascia costiera è una risorsa comune per la quale è necessario applicare certi standard d'analisi, gestione e controllo in modo che possa conservare o riconquistare la sua integrità ambientale. È bene sottolineare quanto sia importante che questa complessa problematica venga affrontata in modo integrale e funzionale.

In questa ottica è sorta l'esigenza di monitorare l'ambiente marino costiero e soprattutto l'esigenza di valutare "lo stato di salute" degli ecosistemi in relazione alle diverse forme di inquinamento. Qualunque sia il problema ambientale che si debba affrontare, è necessario tener conto della molteplicità degli ambienti marini presenti lungo le nostre coste, tenendo conto che l'ecosistema costituisce la base d'analisi per la gestione e la protezione delle risorse naturali (Della Croce *et al.*, 1997).



A tal fine aumentano le ricerche di tipo biologico che studiano le variazioni delle comunità sottoposte a cambiamenti di alcuni fattori ambientali (pH, temperatura, ossigeno, luce disponibile).

L'entrata in vigore della Direttiva 2000/60/CE per la protezione ed il miglioramento di tutte le risorse idriche per l'Unione Europea ha avviato una serie di iniziative, sia a livello amministrativo che tecnico-scientifico, tese alla sua applicazione in tutti i paesi della Comunità. La Commissione Europea, per facilitare le fasi iniziali di implementazione ed applicazione della direttiva in maniera uniforme e coerente in tutti i paesi membri, ha stabilito una strategia comune di implementazione (CIS), con l'obiettivo di creare delle linee metodologiche comuni ai vari paesi per l'interpretazione ed applicazione della Direttiva. Infatti, una corretta applicazione della Direttiva richiede un processo graduale di interpretazione, analisi, raccolta ed elaborazione dati, che tutti gli stati membri devono intraprendere per arrivare a classificare lo stato di qualità ambientale di tutte le acque superficiali e conseguire infine lo "stato buono" richiesto entro il 2015 (Casazza *et al.*, 2004). Diversi sono i fattori di cui la Direttiva tiene conto, che essa stessa chiama "Elementi di Qualità", da quelli biologici a quelli idromorfologici, chimici e fisici. Particolare importanza assumono quelli biologici, in special modo la componente fitobentonica rappresentata anche dalla fanerogame marine. Queste ultime, estendendosi da 0 a 40m in tutti i mari eccetto che in Antartide (den Hartog, 1970), costituiscono l'elemento strutturante di un ecosistema chiave della fascia costiera (Hemminga and Duarte, 2000).

La grande quantità di produzione delle fanerogame allocata negli organi ipogei (Guidetti *et al.*, 2002), il generale scarso consumo da parte degli erbivori (Cebrian and Duarte, 1997) e il lento tasso di decomposizione delle fanerogame (Harrison, 1989; Enriquez *et al.*, 1993) rendono queste piante responsabili dello stoccaggio del 15% del carbonio nelle acque e contribuiscono nella misura del 24% al trasporto di carbonio ai sistemi adiacenti (Duarte and Cebrian, 1996).

Le fanerogame hanno altre funzioni importanti: forniscono cibo per le reti alimentari costiere, forniscono ossigeno ai sedimenti ed alla colonna d'acqua, stabilizzano i sedimenti, migliorano la trasparenza delle acque, attenuano il moto ondoso proteggendo la linea di costa. Attualmente si assiste ad un crescente declino delle fanerogame marine a causa dell'aumento delle attività antropiche (Green and Short, 2003).

Nel Mediterraneo le praterie a *Posidonia oceanica* (L.) Delile rappresentano sicuramente una delle biocenosi di maggior pregio per i motivi di seguito riportati:

- l'endemismo della fanerogama: è l'unica specie del genere *Posidonia* presente nel nostro bacino in quanto tutte le altre specie congeneriche sono confinate nell'emisfero australe;
- l'estensione delle praterie: *P. oceanica* è l'unica specie nel Mediterraneo in grado di formare praterie continue che, dalla superficie, possono spingersi oltre la batimetria dei 40m senza interruzione, sia su substrati sabbiosi e rocciosi, sia su concrezionamento organogeno, come coralligeno o "matte";
- l'importanza dell'ecosistema che forma: la biomassa allocata dalla pianta è estremamente elevata rispetto ad altre fanerogame e viene in maggior parte riciclata all'interno del sistema; le piante, inoltre, costituiscono un supporto fisico e trofico per le comunità vegetali ed animali associate che si presentano perciò molto diversificate.

Un generalizzato fenomeno di regressione delle praterie, purtroppo in atto in tutto il bacino Mediterraneo (Pergent *et al.*, 2000), ha mobilitato l'interesse nazionale e internazionale, scientifico e non, atto a tutelare questo importante sistema. Allo scopo, sono stati formulati decreti legislativi per la sua salvaguardia nonché piani operativi, volti al monitoraggio dell'attuale, che possano permettere di seguire la dinamica temporale e spaziale di tale sistema.

L'esigenza di tentare di classificare questi sistemi per valutarne lo stato di salute e da questo derivare quello della fascia costiera, ha guidato la ricerca di descrittori idonei che, riferiti a vari comparti della pianta, della prateria e delle comunità associate, potessero essere utilizzati come bioindicatori del sistema *in toto*.

Attualmente, i principali descrittori del sistema a *Posidonia oceanica* sono distinti in fisici, fisiografici, strutturali e funzionali (Buia *et al.*, 2003). Tra i descrittori fisici, figurano, ad esempio, la geomorfologia, la litologia, il regime idrodinamico; tra i descrittori fisiografici, ricordiamo la tipologia delle praterie e dei limiti mentre tra i descrittori strutturali quello più noto è la densità; infine, tra i descrittori funzionali, citiamo la biomassa e la produzione. Anche le comunità associate possono dare informazioni sul funzionamento del sistema ma il loro impiego come bioindicatori non ha trovato fino ad ora largo uso.

L'identificazione del descrittore da usare non fornisce da sola indicazioni utili alla valutazione di una particolare situazione ambientale a meno di fornire anche un sistema di classificazione, basato sul 'range' di variazione del parametro stesso in relazione a diverse variabili ambientali e geografiche. A titolo d'esempio, si cita la classificazione delle praterie in funzione della sola densità, proposta da Giraud nella sua tesi, nel lontano 1977 e ancora ampiamente utilizzata. In questa classificazione l'unica variabile è il numero dei fasci, senza considerare che lungo il gradiente batimetrico la diminuzione della luce disponibile comunque determina una rarefazione della prateria. Questa classificazione, encomiabile per i tempi in cui è stata fatta, non è più attuale, non perché la struttura delle praterie sia cambiata ma perché la quantità di dati acquisita nell'arco di 30 anni (almeno per il bacino occidentale del Mediterraneo) è tale da permettere di tentare un'altra classificazione, che permetta di utilizzare questo descrittore (la densità) in relazione ad altre caratteristiche ambientali. Pergent *et al.*, (1995) hanno proposto così una classificazione in cui i valori di densità sono rapportati alla profondità e all'impatto antropico, identificando 4 classi. A dimostrazione della diversa valutazione del sistema ottenuta con le due classificazioni, si prenda il caso di una stazione a 35m che abbia una densità di 180 fasci m<sup>-2</sup>. Secondo Giraud, la classe in cui ricade la stazione è la IV, assimilabile ad una prateria molto rada, ovvero ad una prateria o in regressione, o soggetta ad erosione o di nuova formazione. Al contrario, seguendo la classificazione di Pergent *et al.* (1995), il valore osservato fa considerare normale la densità registrata a quella profondità o ancora, secondo la definizione data da Buia *et al.* (2003), come una prateria in equilibrio con le forzanti ambientali.

La difficoltà nella scelta dei descrittori per il sistema a *Posidonia oceanica* e della loro classificazione è essenzialmente legata alle differenti scale spaziali e temporali a cui rispondono i descrittori precedentemente menzionati (Buia and Mazzella, 2000; Buia, 2004).

L'importanza della scala spaziale, per quanto riguarda l'aspetto batimetrico, risulta evidente dall'esempio precedentemente riportato; l'aspetto biogeografico non è ancora stato indagato, a causa della differenza numerica di informazioni sulle praterie del bacino orientale del Mediterraneo (scarse) rispetto a quello occidentale (numerose).

Per quanto riguarda la scala temporale, si possono evidenziare comparti del sistema che hanno dinamiche temporali differenti e perciò difficilmente comparabili, secondo lo schema riportato di seguito:

Comparto	Scala temporale	Variabile
Epigeo (foglie)	Stagionale	Lunghezza, larghezza, superficie e biomassa delle foglie; copertura prateria.
	Annuale	Produzione fogliare.
Ipogeo (rizomi)	Annuale	Densità della prateria; progressione o regressione dei limiti; produzione del rizoma.
	Pluriannuale	Produzione del rizoma

Lo scopo del presente lavoro è quello di analizzare il maggior numero possibile di dati sul sistema a *Posidonia oceanica*, da noi acquisiti nel corso degli anni nell'ambito di programmi differenti, al fine di individuare, per ogni descrittore prescelto, 5 classi di variazione, come richiede la Direttiva Europea sulla classificazione delle acque, secondo uno schema che può essere generalizzato come segue:

	Classe	Valutazione
1		Ottimo
2		Buono
3		Sufficiente
4		Insufficiente
5		Pessimo

Data l'eterogeneità dei nostri dati, si è ritenuto di non limitare la scelta ad alcuni descrittori specifici ma, al contrario, di utilizzare tutti quelli disponibili, sia della pianta, sia del sistema, sia delle comunità associate.

La mole di dati in nostro possesso, la loro molteplicità (descrittori di sistema, di pianta, con la differente dinamica spaziale e temporale) e la loro dissimilarità tra siti (programmi con finalità differenti) impongono una strategia di raccolta ed analisi diversa da quelle tradizionalmente impiegate (es. foglio Excel ed ANOVA). Si rende perciò necessario costruire una banca dati che permetta di gestire in maniera ottimale una grande quantità di dati e soprattutto un facile accesso alle porzioni di dati di interesse per la successiva analisi. Tale struttura dati è comunemente chiamata DATA BASE RELAZIONALE e l'intero processo d'analisi di cui esso ne è una delle componenti operazionali prende il nome di Data Warehousing.

Nel caso dei dati sul sistema *P.oceanica*, le esigenze principali sono sia di gestire al meglio i dati raccolti in passato sia di poter implementare i dati attuali con altri ricavati da ricerche future. Uno dei possibili metodi per far fronte alla complessità strutturale dei dati ed alla successiva analisi è il processo di Knowledge Discovery in Database (KDD) al fine di valutare, su ampia scala spaziale e temporale, lo stato delle praterie lungo le coste dell'ecoregione Mediterranea, per essere poi tradotto in un indicatore di qualità delle acque.

## MATERIALI E METODI

Nello svolgimento di ogni attività, sia a livello individuale sia in organizzazioni di ogni dimensione, sono essenziali la disponibilità di informazioni e la capacità di gestirle in modo efficace; ogni organizzazione è dotata di un sistema informativo, che gestisce le informazioni necessarie per perseguire gli scopi dell'organizzazione stessa (Atzeni *et al.*, 1999). È in quest'ottica che si inquadra il concetto di Data Warehousing (DW) (Fig. 2). Esso viene definito come il processo necessario per ottenere, a partire dai dati operazionali, informazioni che aiutino nelle analisi dei dati stessi (www.kirio.it/documenti/datawarehousing.pdf).

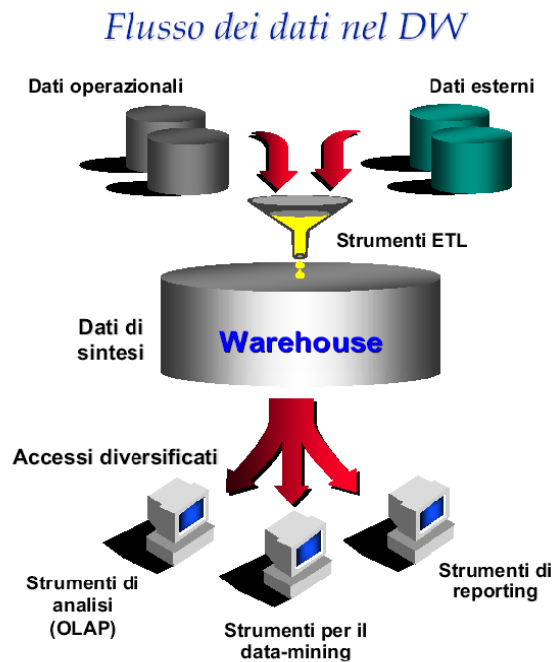


Fig. 2. Flusso dei dati nel Data Warehouse.

Un Data Warehouse è un singolo, completo e consistente archivio di dati, estratti da diverse sorgenti e resi disponibili agli utenti finali in una forma da questi comprensibile ed utilizzabile nel contesto della ricerca. La costruzione di un DW, che descriva tutti i dati di una problematica, è un obiettivo ambizioso ma anche molto difficile da realizzare. Pertanto, è prevalente l'approccio di costruire il DW concentrandosi separatamente su sottoinsiemi molto semplici dei dati, per i quali sia ben chiaro l'obiettivo dell'analisi. Ciascuno schema semplificato dei dati prende il nome di Data Mart.

I dati sono organizzati secondo una tipica struttura, detta schema multidimensionale, per indicare la presenza di molteplici dimensioni di analisi.

Si definisce "fatto" un fuoco di interesse per il processo conoscitivo. È essenziale che un fatto abbia aspetti dinamici, ovvero, evolva nel tempo.

Le "misure", invece, sono attributi a valori continui, tipicamente numerici, che descrivono il fatto da diversi punti di vista.

Le "dimensioni" sono attributi che determinano la granularità minima di rappresentazione dei fatti.

I dati presenti nel DW possono essere analizzati tramite differenti tecniche tra cui quella di "Data mining".

### *Basi di dati e sistemi di gestione*

Una base di dati è una collezione di dati utilizzata per rappresentare le informazioni di interesse per un sistema informativo coordinata da un sistema di gestione di basi di dati (Data Base Management System, DBMS ). Un DBMS è uno strato software che si frappone tra l'utente ed i dati ed è in grado di gestire collezioni di dati che possono essere grandi, condivise e persistenti, assicurando la loro affidabilità e privacy. Come ogni prodotto informatico, un DBMS deve essere efficiente ed affidabile. E' necessario inoltre che il sistema di gestione del database controlli la consistenza dei dati, ovvero sia che i nuovi dati appena inseriti non siano in contraddizione con quelli memorizzati e validati, sia che non siano in contraddizione con regole generali preimpostate. Questo problema è legato a quello più complesso dell'integrità dei dati (Atzeni *et al.*, 1999).

La progettazione di una base di dati costituisce solo una delle componenti del processo di sviluppo di un sistema informativo complesso e va quindi inquadrata in un contesto più ampio, quello del ciclo di vita dei sistemi informativi (Fig. 3).



Fig. 3. Fasi del ciclo di vita di un sistema informativo.

Progettare una base di dati significa perciò definire in modo preciso il suo contenuto informativo. Si tratta di un processo nel quale bisogna prendere delle decisioni delicate e l'uso di opportune metodologie è indispensabile per la realizzazione di un prodotto efficiente ed efficace.

La progettazione di una base di dati è generalmente organizzata come un processo incrementale costituito da tre fasi principali (Fig.4).

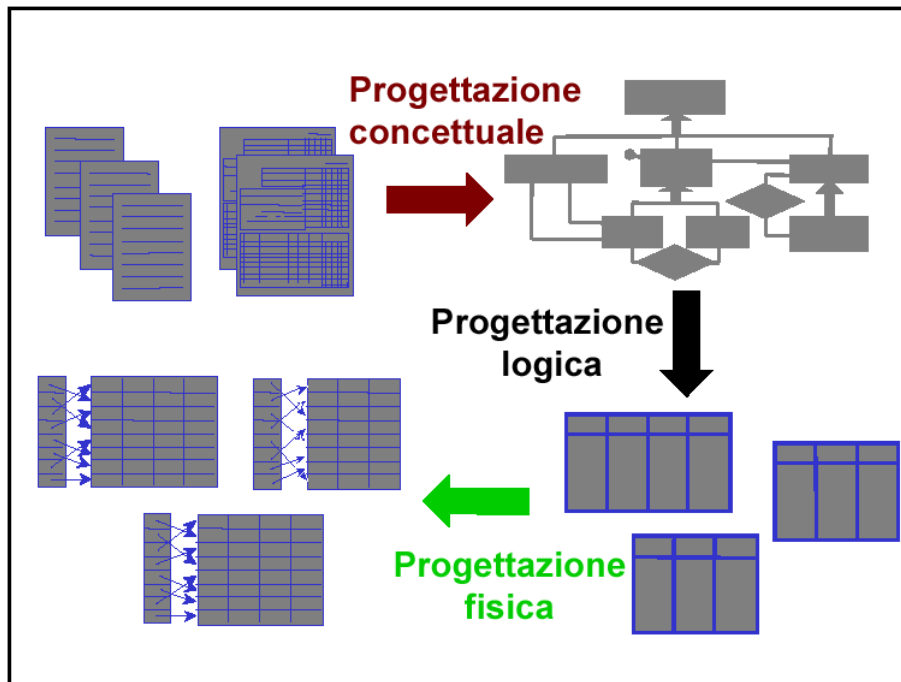


Fig. 4. Fasi del processo di progettazione di una base di dati.

I.  Progettazione Concettuale

Lo scopo di questa fase è di fornire una rappresentazione formale del contenuto informativo della base di dati, che possa essere utilizzata come punto di partenza per le fasi successive. Questa formalizzazione è basata sull'utilizzo di un opportuno modello concettuale, ossia di un modello che consenta di descrivere ad alto livello la semantica delle informazioni che costituiranno la base di dati, trascurando gli aspetti implementativi. Risultato di tutto ciò è lo schema concettuale della base di dati, ossia uno schema del tutto indipendente dallo specifico DBMS adottato.

II. Progettazione Logica

Nella progettazione logica il risultato della fase precedente è tradotto nel modello dei dati supportato dal DBMS prescelto. Al termine otterremo uno schema logico dei dati definito nel linguaggio di definizione dei dati dello specifico DBMS utilizzato.

III. Progettazione Fisica

In questa fase sono scelte le caratteristiche fisiche della base di dati, cioè uno schema che descriva le strutture di memorizzazione e di accesso ai dati.

Il software utilizzato come Relational Data Base Management System (RDBMS) che consenta la realizzazione e la gestione di una base di dati relazionale è Microsoft Access2000.

L'interfaccia del sistema sfrutta le potenzialità dell'ambiente grafico di Windows e offre un ambiente facile da usare, sia per il progettista, sia per l'utente.

Access può essere visto come uno strumento che permette di evitare di scrivere in codice Structured Query Language (SQL) in quanto effettua interrogazioni tramite una rappresentazione grafica facilmente comprensibile (Iacono, 2003; Silvestre, 2003; Tiberti, 2003).

Le query consentono di visualizzare i dati desiderati, nella sequenza desiderata. Esse consentono inoltre di effettuare calcoli sui dati, creare raggruppamenti di dati per maschere, report, grafici, effettuare modifiche globali alle tabelle e creare nuove tabelle. Quando si esegue la maggior parte delle query, il DBMS raccoglie i dati richiesti dall'utente in un

dynaset. Il dynaset ha l'aspetto e il comportamento di una tabella ma, in realtà, è una visualizzazione dinamica e viva di una o più tabelle.

Il tipo di query usato più frequentemente è la 'query di selezione' che consente di selezionare record, creare nuovi campi calcolati e riepilogare i dati. Altri tipi di query sono rappresentati da 'query di creazione tabella', 'query di aggiornamento', 'query di eliminazione', 'query di definizioni dati', etc.

Si fa notare inoltre che MS Access supporta un ambiente di programmazione Visual Basic for Applications (VBA) per la definizione e la manipolazione dei dati.

#### *Organizzazione dei dati*

Come si evince dalla Fig. 5, la maggior parte dei dati a nostra disposizione sono stati reperiti nel Mediterraneo occidentale, con particolare riguardo al settore centro-meridionale. I siti di studio sono in totale 130 e coprono tutto il gradiente di distribuzione batimetrica di *Posidonia oceanica* (da 0 a 38m).

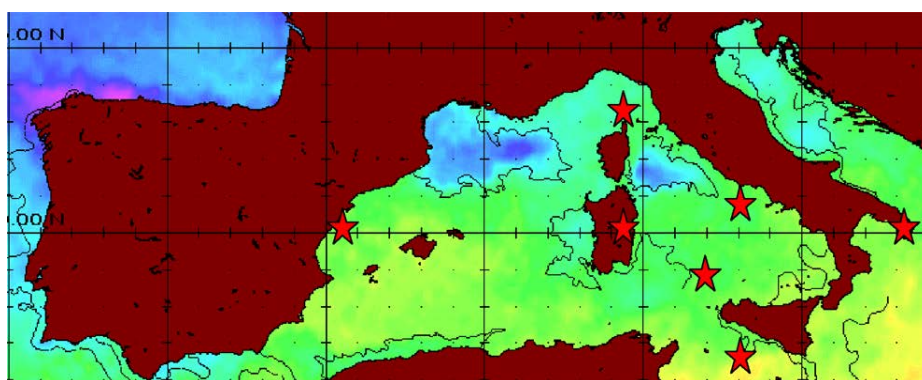


Fig. 5. Rappresentazione delle aree costiere del bacino mediterraneo a cui si riferiscono i dati biologici esaminati nel corso del Programma.

Le serie storiche analizzate (lungo un arco temporale di oltre 10 anni) sono state ottenute grazie all'applicazione della lepidocronologia, una tecnica di retrodatazione basata sulle variazioni di spessore delle basi fogliari, l'unica parte della foglia che rimane sul rizoma per tempi anche molto lunghi (Fig. 6A). L'individuazione di due minimi successivi di spessore (m in Fig 6B) identifica un anno lepidocronologico (Fig. 7), la cui durata risulta di poco inferiore ad un anno solare.

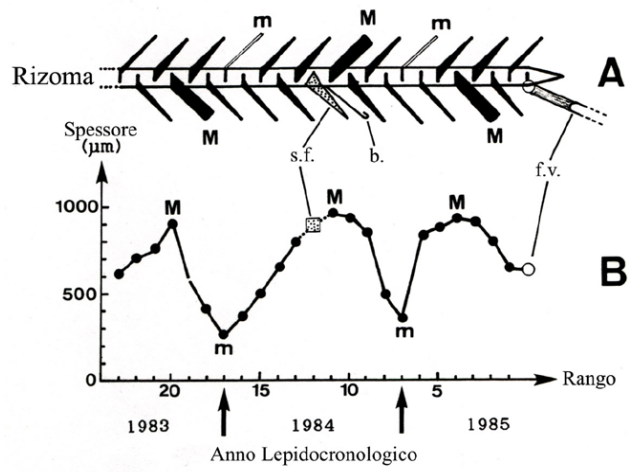


Fig. 6. Schematizzazione della distribuzione delle basi fogliari sul rizoma (A) e rappresentazione grafica degli andamenti di spessore con l'individuazione dell'anno lepidocronologico (B). (m= base di spessore minimo; M= base di spessore massimo; s.f.= peduncolo fiorale) (da Buia *et al.*, 2003)

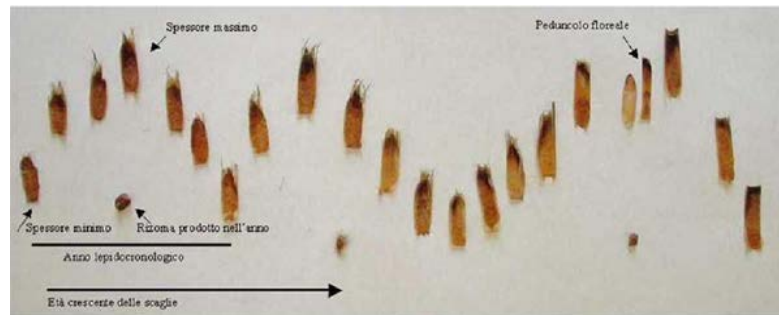


Fig. 7. Basi fogliari e tronco di rizoma appartenenti a distinti anni lepidocronologici. Si noti la differente morfologia del peduncolo fiorale rispetto alle basi (da Buia *et al.*, 2003)

I dati del “progetto” in nostro possesso erano sia in formato cartaceo che digitale. Questi ultimi erano memorizzati su fogli elettronici Ms Excel, aventi struttura simile ai fogli cartacei (Fig. 8) su cui i dati stessi venivano registrati in fase di esame dei campioni.





Stazione	A	B	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	
<b>Stazione A1-24</b>																					
<b>Biomassa</b>																					
Risom	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	mm/anno	d.s.	c.v.	MEDIA	D.S.	C.V.		
Anni																					
2001	13,2	20,5	76,8	34,5	5,1	14,5	7,7	5,6	1,7	13,5	6,5	2,9	4,8	15,9	20,	1273					
2000	28,9	51,6	191,0	12,6	38,7	30,3	35,9	16,7	18,3	111,1	27,3	26,0	24,8	47,3	49,	1063	77,1	20,2	26%		
1999	58,1	56,8	280,4	50,4	67,4	86,8	35,1	29,2	66,8	73,1	39,0	32,3	45,0	70,9	65,	923					
1998	103,2	176,0	61,2	65,3	102,1	84,4	33,6	53,1	59,1	48,4	36,8	63,0	70,8	38,	543						
1997	93,8	195,6	77,6	72,5	163,0	61,3	48,9	53,5	55,5	48,4	50,1	86,2	82,7	45,	523						
1996	98,4	172,0		70,7	117,5	105,7	53,2	63,2	78,7	96,9	66,3	71,9	69,5	88,7	32,	373					
1995	79,9	114,7		72,2	103,9	29,9	63,7	102,2	38,8	63,7	48,9	43,5	69,2	28,	413						
1994	110,5				99,4	51,4	49,9	105,1	62,4	72,8		40,4	74,0	27,	373						
1993	69,3					50,3		134,9	70,0	71,8			78,1	35,	413						
1992	42,2							84,2						63,2	29,	473					
1991									124,9					124,9		77,1					
<b>Altezza ramoscello</b>																					
Risom	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	mm/anno	d.s.	c.v.	MEDIA	D.S.	C.V.		
Anni																					
2001	4,44	4,31	9,35	3,57	1,46	3,38	2,46	1,05	1,00	2,12	2,92	1,00	1,83	2,99	2,2	753					
2000	7,55	9,51	13,47	4,89	7,68	6,44	5,21	3,66	4,17	8,12	5,35	4,19	4,19	5,57	2,7	423	10,06	3,06	30%		
1999	9,68	8,33	17,70	5,74	11,30	13,44	4,71	5,73	9,27	6,24	5,39	5,75	5,06	8,44	3,8	453					
1998	15,10	12,62	5,92	9,41	14,17	7,68	6,96	11,79	5,02	7,40	6,11	6,24	9,19	3,2	323						
1997	14,30	24,23		7,45	10,29	23,02	7,80	8,13	8,74	5,32	5,50	7,58	7,88	10,85	6,4	593					
1996	14,24	20,52		6,72	13,86	13,45	6,77	10,19	10,18	9,23	8,24	8,13	7,93	10,85	4,1	383					
1995	10,54	13,70			9,64	13,26	4,29	9,16	13,87	4,23	7,54	6,22	6,17	8,97	3,6	403					
1994	14,31					11,91		5,96	8,07	13,24	8,03	8,39		6,34	9,49	3,9	323				
1993	9,34							5,58	19,26	6,42	8,25			9,77	5,3	563					
1992	5,81								11,19					8,50	3,8	453					
1991									15,01					15,01		10,06					
<b>Numero scaghi</b>																					
Risom	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	sc/anno	d.s.	c.v.	MEDIA	D.S.	C.V.		
Anni																					
2001	1	2	3	2	2	2	3	3	3	2	2	1	2,2	0,	323						
2000	7	8	8	8	7	7	7	5	6	6	8	9	7,1	1,	173	7,3	0,7	10%			
1999	7	7	11	7	7	7	7	6	8	7	7	8	6	7,2	1,	183					
1998	9	9	9	8	7	8	7	6	6	7	7	7	9	7,4	1,	153					
1997	9	11	9	8	7	9	7	9	7	7	8	7	8	7	8,1	1,	123				
1996	7	6	9	8	8	5	7	8	8	7	11	8	7	7	1,	203					
1995	8	9		6	8	7	7	7	7	7	8	8	7	7,5	0,	113					
1994	8				8	7	7	7	6	5	8	6	6,8	1,	153	7,3					
1993	7					8	7	6	8	5	8	6	6,8	1,	193	7,3					
1992	8							9					8,5	0,	83	7,3					
1991									8				6,0		7,3						

Fig. 9. File “nomestazione.xls”, foglio lepidio. In blu sono evidenziati i tre fogli del file.

La scelta dei parametri per la classificazione di tale sistema è stata vincolata alle differenti scale spaziali e temporali a cui questo risponde (Buia, in press). Così, a causa dell’elevata eterogeneità delle variabili esaminate e della loro differente tempistica di acquisizione, è stato necessario trascurare sia quei descrittori caratterizzati da variabilità stagionale sia quelli rilevati su un limitato numero di stazioni (come la diversità specifica delle comunità associate e quella genetica della pianta).

Si è giunti così, in questa fase, alla selezione di sei descrittori da utilizzare nella successiva analisi dei dati e di seguito riportati:

- 1) **Densità della prateria:** nr fasci /m<sup>2</sup>
- 2) **Produzione del rizoma:** mg/rizoma/anno
- 3) **Allungamento rizoma:** mm/rizoma/anno
- 4) **Produzione fogliare:** nr. foglie/anno
- 5) **Larghezza della foglia intermedia più lunga:** cm
- 6) **Profondità:** m.

I parametri di produzione annuale della pianta, desunti attraverso la tecnica lepidocronologica, sono ottenuti omettendo dal computo i tre anni di retrodatazione più recenti, a causa delle modalità di crescita dei vari comparti della pianta (Buia et al., 2004).

La larghezza della foglia intermedia è stata scelta in quanto, come descrittore funzionale relativo al comparto epigeo, a parità di condizioni ambientali, non risente di variazioni stagionali; al contrario le sue variazioni risultano legate a fattori quali profondità e luce (Zupo et al., 1997).

La profondità è stata trattata come dato continuo.

### *Analisi dei dati: Autoclass C e Data Mining*

Autoclass C, software scelto per l'analisi dati, è un programma di classificazione bayesiana non supervisionata. La teoria alla base di Autoclass è il clustering statistico, basato su un modello statistico misto finito. Il risultato dell'elaborazione di set di dati mediante l'uso del software Autoclass C è una caratterizzazione degli stessi attraverso relazioni, similitudini e differenze. Il software consente la suddivisione in classi (sottoinsiemi) dell'insieme dei dati. A seconda delle operazioni di preparazione che intervengono sul dataset, è possibile l'individuazione ed il riconoscimento di pattern spaziali e temporali. La classe che viene attribuita a ciascun elemento è un'etichetta che distingue un gruppo di elementi dagli altri, in base a caratteristiche comuni.

L'approccio di Autoclass C è di tipo probabilistico, in quanto viene fornita una probabilità di appartenenza di un elemento ad una certa classe.

Il formato dati richiesto dal software è il '\*.db2' per cui è stato implementato un algoritmo che converte le tabelle access in file.db2.

### *Strumenti di Visualizzazione*

I risultati dei processi di classificazione sono stati visualizzati graficamente e interpretati mediante il software Miner3D Access. A tale scopo i files di output del classificatore sono stati convertiti da un appropriato algoritmo in files di tipo Access, supportati dal suddetto software.

Miner3D Access 3.1 Professional ("Dimension5") è un software per rappresentazioni multidimensionali (Fig. 10). È un analizzatore di dati che fornisce una molteplicità di soluzioni per la rappresentazione grafica dei dati. Oltre ai soliti assi nello spazio tridimensionale X, Y, Z, esso dispone di ben altre 17 dimensioni di rappresentazione: colore, forma, dimensione, ecc.

Miner 3D è fornito degli strumenti "Selector" e "Calculator"; questi permettono l'analisi esplorativa dei dati e uniscono le informazioni visive con i calcoli statistici in tempo reale. Il selettore, infatti, effettuando delle 'query' sulla tabella Access di input, seleziona le sole informazioni che si desidera, mentre il calcolatore effettua diverse operazioni sui dati selezionati, quali conta, somma, media e calcolo delle percentuali.

### *Sistema di classificazione*

L'approccio metodologico adottato per la classificazione delle praterie ha comportato 3 passaggi sequenziali:

- Definizione delle tipologie.
- Identificazione delle linee guida per la scelta delle praterie di riferimento.
- Sviluppo dei sistemi di classificazione.

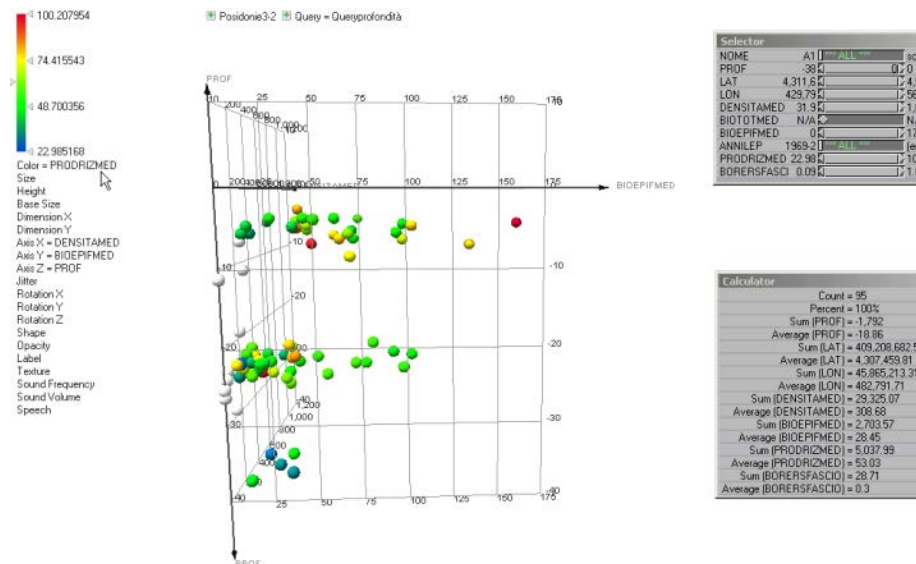


Fig. 10. Esempio di rappresentazione grafica ottenuta con Miner 3D.

I fattori che hanno guidato la definizione delle tipologie sono stati la profondità e il tipo di costa. Per quanto riguarda la profondità, è stata effettuata una discretizzazione dei dati in tre fasce batimetriche: superficiale (tra 0 e -15m), profonda (tra -16 e 28m) e limite (oltre 28m). Per quanto riguarda il tipo di costa, sono state considerate le tipologie costiere proposte per l'eco-regione mediterranea (Direttiva 60/2000 CE), che comunque non considera la natura del substrato su cui è impiantata la prateria. Si è giunti così alla selezione di sei tipologie, di seguito elencate:

1. Superficiale - costa rocciosa
2. Superficiale – costa sabbiosa
3. Profonda - costa rocciosa
4. Profonda - costa sabbiosa
5. Limite-costa rocciosa
6. Limite-costa sabbiosa

Si è passati quindi alla scelta dei fattori utili all'individuazione dei siti di riferimento, per ogni tipologia stabilita. In ordine di priorità, è stata presa in considerazione:

1. Appartenenza ad un'Area Marina Protetta (AMP), ad un'Area a Tutela Biologica (ATB) o comunque ad un'area interdotta alle attività antropiche (es. carcere di massima sicurezza) (Franceschetti *et al.*, 1999; <http://www.parks.it>);
2. anno di istituzione della protezione;
3. zonizzazione dell'area marina in cui giace la stazione (zona a tutela A, B o C);
4. destinazione d'uso dei suoli;
5. distanza dalla costa;
6. distanza dai centri urbani;
7. eventuali altre considerazioni.
- 8.

Queste informazioni sono state reperite mediante una rappresentazione cartografica digitale su supporto di tipo GIS, preventivamente implementata con i nostri dati, completa di destinazione d'uso dei suoli (progetto CORINE Land Cover,

[http://www.mais.sinanet.apat.it/cartanetclc2000/clc2000/consulta\\_cartografia.asp](http://www.mais.sinanet.apat.it/cartanetclc2000/clc2000/consulta_cartografia.asp)) e foto aeree delle coste interessate (Fig. 11 e 12).

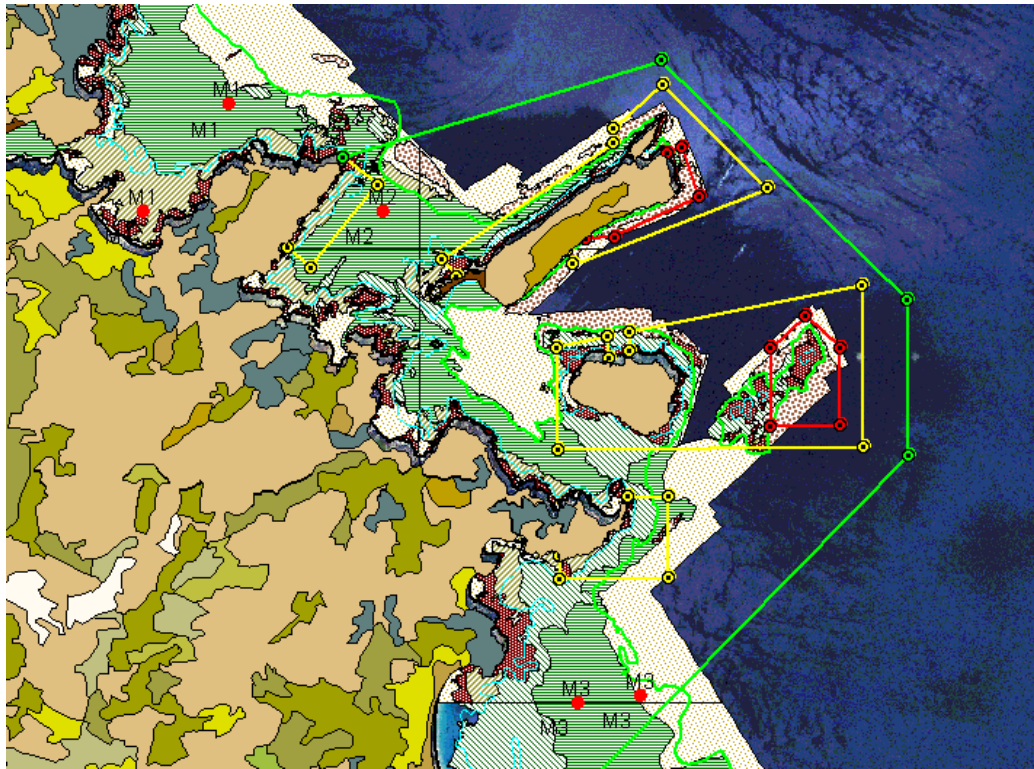


Fig. 11. Land Use e zonizzazione dell' Area Marina Protetta di Tavolara – P.ta Coda Cavallo.

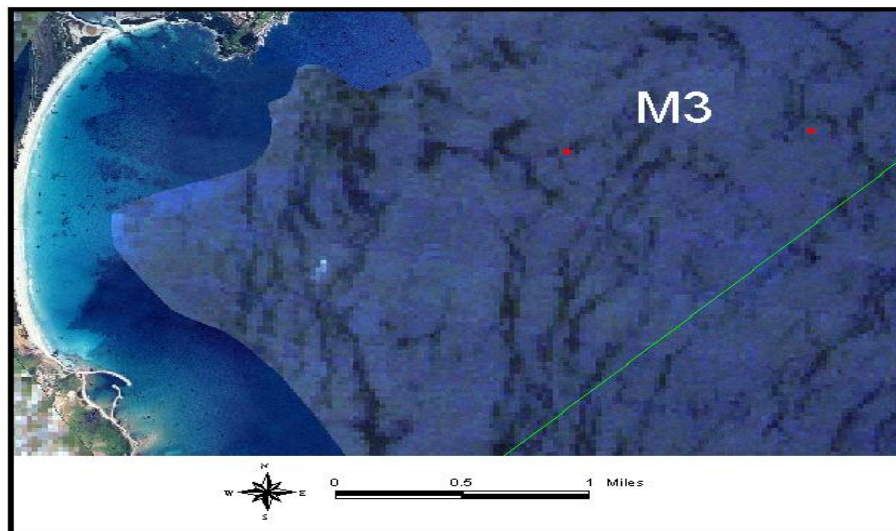


Fig. 12. Particolare della costa prospiciente la prateria di San Teodoro (Tavolara – Sardegna).

## Risultati e Discussioni

### *Il Data Base*

Il programma ha dato la possibilità di raccogliere un grandissimo numero di dati (circa 520.000), provenienti da diverse campagne studio su sistemi a *P. oceanica*. Tale mole di dati

di diversa tipologia e frequenza, insieme alla natura gerarchica degli stessi, ha richiesto la necessità di adottare un efficiente sistema di gestione relazionale, l'RDBMS.

Il processo di costruzione del data base ha previsto tre fasi:

I. Progettazione

II. Implementazione (creazione di un sistema automatizzato per l'alimentazione)

III. Validazione e Collaudo

I. Progettazione: in questa fase si è definita la struttura del data base relazionale e si sono stabilite le entità e le relazioni tra di esse.

Si è stabilito di realizzare una base di dati che permettesse di ripartire l'insieme delle variabili in più "oggetti" organizzati secondo uno schema gerarchico del tipo ' Regione - Transetto - Stazione - Subarea - Fascio - Anno lepidocronologico - Foglia' (Fig. 11).

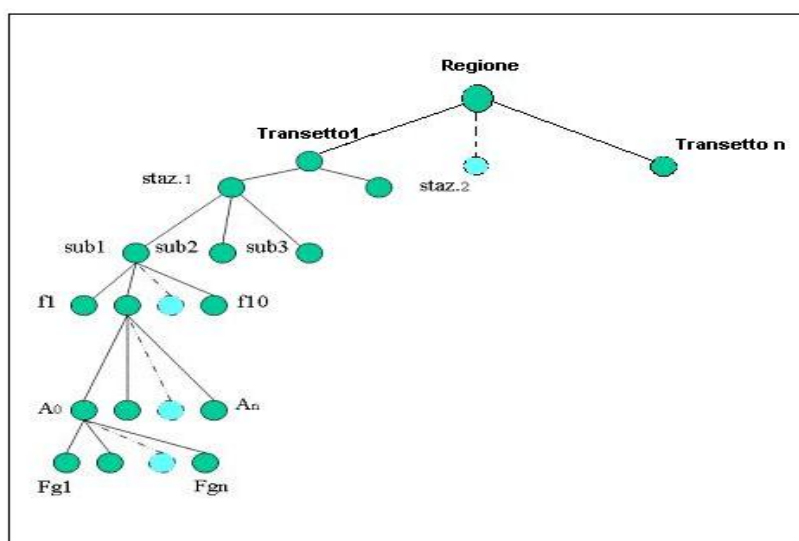


Fig.11. Modello gerarchico "top-down". Dalla prima all'ultima, le gerarchie elencate sono: Regione, Transetto, Stazione, Sub-area, Fascio, Anno, Foglia.

In riferimento al modello top-down, le gerarchie presenti nello schema sono state analizzate e sostituite da entità e relazioni. In questo modo gli oggetti diventano entità e le associazioni diventano relazioni del tipo " appartiene a ", con cardinalità uno a molti, in quanto ad un' istanza di ogni entità corrispondono molte istanze dell'entità del livello inferiore (es: ad ogni stazione appartengono trenta rizomi). Nella successiva fase di ristrutturazione sono state eliminate le variabili che potevano essere ridondanti perché derivabili da altre. Per quel che riguarda la scelta degli identificatori si è stabilito di creare degli appositi attributi contenenti un codice numerico di tipo progressivo (contatore), denominato "ID". Per ciò che concerne gli identificatori esterni, essi sono stati nominati in riferimento all'entità di cui sono chiave esterna, ad esempio "ID\_Fascio" è chiave esterna verso l'entità "Fascio". In questa fase di riorganizzazione dello schema logico, si è prodotto quello che si definisce lo schema E-R ristrutturato, finalizzato ad una rappresentazione dei dati che tenga conto degli aspetti realizzativi.

Successivamente si è passati alla traduzione dello schema E-R ristrutturato e alla definizione dello schema logico finale, ovvero dello schema relazionale. Questa fase è stata caratterizzata dalla generazione delle relazioni (tabelle) corrispondenti alle entità dello schema E-R ristrutturato: si definisce il nome della tabella, si specificano le proprietà degli attributi (nome, dominio,





### III. Validazione e Collaudo

È la fase che è servita a verificare il corretto funzionamento e la qualità del sistema informativo. La sperimentazione deve prevedere, per quanto possibile, tutte le condizioni operative.

Il sistema informativo diventa quindi operativo ed esegue i compiti per i quali era stato originariamente progettato. Un' efficace tecnica di collaudo di un DBMS così strutturato consiste nell'effettuare semplicemente delle query che selezionano più campi dalle diverse relazioni e verificare effettivamente che i dati in essi memorizzati siano relazionati nel modo corretto. A titolo di esempio si riporta l'estrazione dei dati relativi alla biomassa (Fig. 14), referenziati alla stazione ed al fascio di appartenenza. La verifica della veridicità dei dati si può appurare con il confronto con le tabelle Excel d'origine.

	NOME	PROF	NUMFASCIO	ANNO	BIOMASSA
▶ A1		-8	1	2001	17,4
A1		-8	1	2000	63,1
A1		-8	1	1999	60,4
A1		-8	1	1998	68,7
A1		-8	1	1997	81,2
A1		-8	1	1996	86,8
A1		-8	1	1995	88,2
A1		-8	1	1994	52,7
A1		-8	1	1993	51
A1		-8	1	1992	34,4
A1		-8	1	1991	
A1		-8	1	1990	
A1		-8	1	1989	
A1		-8	1	1988	
A1		-8	1	1987	
A1		-8	1	1986	
A1		-8	2	2001	7
A1		-8	2	2000	14,7
A1		-8	2	1999	18,3
A1		-8	2	1998	31,9
A1		-8	2	1997	33
A1		-8	2	1996	41,8
A1		-8	2	1995	36,4
A1		-8	2	1994	42,3
A1		-8	2	1993	49,4
A1		-8	2	1992	43,4
A1		-8	2	1991	37,7
A1		-8	2	1990	46,9
A1		-8	2	1989	36,5
A1		-8	2	1988	38,2
A1		-8	2	1987	30
A1		-8	2	1986	31,5
A1		-8	3	2001	17,3
A1		-8	3	2000	38

Record: 1 di 40669  
Nome

Fig.14. Esempio di collaudo.

	A	B	C	D	E	F	G
1	Stazione		A1-08				
2	Biomassa						
3	Rizomi	1	2	3	4	5	6
4	Anni						
5	2001	17,4	7,0	17,3	19,3	1,7	7,9
6	2000	63,1	14,7	38,0	44,0	19,0	69,4
7	1999	60,4	18,3	44,1	34,0	26,0	55,4
8	1998	68,7	31,9	49,0	66,0	35,4	84,8
9	1997	81,2	33,0	60,8	49,7	53,0	68,8
10	1996	86,8	41,8	107,0	64,2	42,8	81,7
11	1995	88,2	36,4	111,8	71,3	37,7	81,5
12	1994	52,7	42,3	154,3			39,8
13	1993	51,0	49,4				39,0
14	1992	34,4	43,4				60,7
15	1991		37,7				54,8

Fig. 15. Collaudo-foglio Excel d'origine.



La banca dati così realizzata è risultata strutturata in 8 tabelle relazionate che, nel loro insieme, gestiscono un totale di 241 variabili, il tutto memorizzato in un database Access che alloca una memoria di 6.50 Mb. È rilevante a questo punto apprezzare la differenza di memoria allocata che sussiste tra questo Data Base e quello "provvisorio" non normalizzato né relazionato (15.8 Mbyte).

In Tab. 1 viene riportata la struttura delle diverse relazioni in termini di numero di campi (variabili) e records (eventi):

DATABASE RELAZIONALE "Db_Posidonie"		
RELAZIONI	CAMPI	RECORDS
TblRegioni	1	7
TblTransetti	4	108
TblStazioni	107	148
TblSpecie_Epifite	91	73
tblMedie_Annuali	4	1396
TblFasce	15	3549
TblAnni	8	29679
TblFoglie	11	17681

Tab. 1. Campi e records del Data Base "Posidonie".

Il "Software" realizzato risulta estremamente dinamico e offre la possibilità di essere ulteriormente implementato e alimentato nel tempo da tutti i dati provenienti da campagne, sia future che passate, sul sistema a *Posidonia oceanica*. Inoltre, la sua versatilità permette di ricalibrare il sistema ad ogni esigenza di memorizzazione dati per quel che riguarda l'inserimento di altre variabili, la derivazione di campi calcolati quali correlazioni, regressioni, indici, etc.

Sorprendente inoltre, la facilità e l'efficacia di connessione alle altre componenti operazionali dell'intera Data Warehouse. Grazie all'ambiente di programmazione VBA che MS Access supporta, infatti, il DBMS può all'occorrenza: connettersi con la sorgente dati (fogli di calcolo MS Excel), con lo strumento di analisi (Autoclass C), oppure con quello di visualizzazione (Miner 3D). A tal proposito sono stati implementati opportuni moduli (linee di codice in linguaggio Visual Basic for Application) che danno la possibilità, rispettivamente, di accedere ai dati sorgente e di importarli nella struttura relazionale; di convertire il sub-set di dati selezionato per l'analisi nel formato richiesto dal software di autotrasferimento (formato ".db2"); ed infine di convertire i risultati della classificazione (formato ".class-data") nel formato MS Access per la visualizzazione Multidimensionale con Miner3D.

VBA è uno strumento molto potente per la gestione dei dati. Esso sfrutta principalmente la tecnologia DAO (Data Access Objects), orientata agli oggetti, come metodo di accesso ai Data Base.

Un'applicazione che utilizza DAO effettua le seguenti operazioni per accedere ad una fonte dati:

- Crea uno spazio di lavoro definendo la sessione utente, l'ID utente, la password e il tipo di Data Base.
- Apre il Data Base, cioè specifica una stringa di connessione alla fonte dati.
- Apre il set di record con una query SQL.
- Usa i risultati della query per l'applicazione. È possibile visualizzare e modificare i dati delle righe.
- Annulla i risultati della query e poi chiude il set di record.
- Chiude il Data Base e interrompe la connessione.

### Tipologie di riferimento

Valutando i fattori scelti per l'individuazione dei siti di riferimento, sono state selezionate alcune stazioni da considerarsi come "bianco" per le sei tipologie individuate (Tab. 2, 3, 4). Le stazioni di riferimento per ogni tipologia sono dislocate in aree marine protette ed in aree a tutela biologica.

	AMP	ANNO ISTITUZIONE	AREA	LANDUSE	DISTANZA COSTA (m)	DISTANZA ZONE URBANE (m)	NOTE
<b>STAZIONI SUPERFICIALI COSTA SABBIOSA</b>	ASINARA	1997	B	Boschi, vegetazione, pascoli naturali	90	11500	Area B dista 1500 m
	CAPO CARBNARA	1999	C	Spiaggia, boschi, colture, tessuto urbano	700		

<b>STAZIONI SUPERFICIALI COSTA ROCCIOSA</b>	SINIS MALDIVENTRE	1997	B	Seminativi, paludi salmastre	9000	11500	Area A dista 1400 m
	ASINARA	1997	B	Vegetazione e rada	120		
	CAPO CARBONARA	1999	C	Vegetazione rada Boschi di conifere	1800	4200	Area B dista 180 m
	CAPO CARBONARA	1999	C	Vegetazione, boschi, colture, tessuto urbano	224	1100	

Tab.2. Praterie di riferimento per le tipologie 'superficiale – costa sabbiosa' e 'superficiale –costa rocciosa'.

	AMP	ANNO ISTITUZIONE	AREA	LANDUSE	DISTANZA COSTA (m)	DISTANZA ZONE URBANE (m)	NOTE
<b>STAZIONI PROFONDE COSTA ROCCIOSA</b>	SINIS MALDIVENTRE	1997	B	Seminativi, paludi salmastre	8800	11500	Area B dista 2000 m
	TAVOLARA	1997	C	Vegetazione rada sclerofila	1400	3300	Area B dista 550 m
	CAPO CARBONARA	1999	C	Vegetazioni, boschi, colture	11500	4000	Area A dista 180 m
	CAPO CARBONARA	1999	C	Vegetazioni, boschi, colture	1500	1500	

<b>STAZIONI PROFONDE COSTA SABBIOSA</b>	ASINARA	1997	B	Seminativi, aree non irrigue, vegetazione rada	700		
	TAVOLARA	1997	C	Centro urbano, colture agrarie, stagni, fiumi	2100	2100	Area B dista 3000 m
	CAPO CARBONARA	1999	C	Spiaggia, boschi, colture, tessuto urbano	1400	2100	Area B dista 180 m

Tab. 3. Praterie di riferimento per le tipologie ‘profonda – costa rocciosa’ e profonda – costa sabbiosa’

	AMP	ANNO ISTITUZIONE	AREA	LANDUSE	DISTANZA COSTA (m)	DISTANZA ZONE URBANE (m)	NOTE
<b>STAZIONI LIMITE COSTA SABBIOSA</b>	TAVOLARA	1997	C	Centro urbano, colture agrarie, stagni, fiumi	3500	3500	Area B dista 28000 m
<b>STAZIONI LIMITE COSTA ROCCIOSA</b>	PUNTA LICOSA (ATB)	1991		Vgetazione sclerofila	1900	5000	

Tab. 4. Praterie di riferimento per la tipologia ‘limite – costa sabbiosa’ e ‘limite – costa rocciosa’ .

#### *Sistema di Classificazione*

Per ogni livello di aggregazione o livello gerarchico dei dati (vedi anche modollo top-down di Fig.11), tramite una query, dal DataBase è stato possibile estrarre un subset di dati, detto "training set", che rappresenta il fuoco d'interesse per l'elaborazione con "Autoclass C" (Cheeseman and Stutz, 1995). In termini di Data Warehouse esso prende il nome di "Data Mart". Ogni subset è una tabella i cui campi sono i parametri selezionati, i cui record sono i vettori delle caratteristiche della prateria, della pianta o del singolo comparto, a seconda del livello di aggregazione dei dati scelto. Il primo passo dell'esplorazione dei dati è stata l'analisi del livello più alto di aggregazione: la prateria. Una tabella avente come campi le variabili riportate in Tab. 5 è stata estratta dal Database, convertita in un file tipo "db2" mediante un apposito algoritmo e fornita come input al software Autoclass C. Il risultato dell'elaborazione del set di dati mediante l'uso del classificatore automatico è stato una caratterizzazione dello stesso attraverso relazioni, similitudini e differenze delle 6 variabili utilizzate. Il software ha realizzato una suddivisione in classi (sottoinsiemi) del set di dati e la classe che è stata attribuita a ciascun elemento è un'etichetta che distingue un gruppo di elementi dagli altri, in base a caratteristiche comuni. A tal proposito, si sottolinea che il software ha effettuato una classificazione di tipo non supervisionato che ha seguito la "naturale" disposizione dei dati nello spazio degli stati, generando un numero di classi che non è quello assegnato a priori dalla direttiva CE 60/2000.

Tab. 5. Variabili di classificazione e relativa influenza nel processo di clustering

Variabile	Influenza globale
Profondità (m)	1
Densità (nr ciuffi/m2)	0.735
Allungamento del rizoma (mm/anno)	0.528
Produzione del rizoma (mg/anno)	0.528
Produzione fogliare (nr foglie/anno)	0.318
Larghezza foglia intermedia più lunga (mm)	0.157

Sono stati individuati 3 raggruppamenti con una probabilità media di appartenenza dei casi elevata: 97.24%. Questi raggruppamenti sono caratterizzati da combinazioni di valori numericamente decrescenti dal cluster 1 al 3, individuando pertanto un **cluster Elevato**, uno **Medio** ed uno **Basso** (Tab 6).

Tab. 6. Valori medi ( $\pm$  errore standard) nei tre cluster

<b>Cluster 1: Elevato</b>	media $\pm$ e.s.
Produzione del rizoma (mg/anno)	72.27 $\pm$ 4.61
Allungamento del rizoma (mm/anno)	10.34 $\pm$ 0.38
Produzione fogliare (nr foglie/anno)	7.47 $\pm$ 0.096
Larghezza foglia intermedia più lunga (cm)	0.86 $\pm$ 0.016
Densità (nr ciuffi/m <sup>2</sup> )	619.00 $\pm$ 40.49
<b>Cluster 2: Medio</b>	
Produzione del rizoma (mg/anno)	65.14 $\pm$ 1.96
Allungamento del rizoma (mm/anno)	7.43 $\pm$ 0.19
Produzione fogliare (nr foglie/anno)	7.21 $\pm$ 0.06
Larghezza foglia intermedia più lunga (mm)	0.91 $\pm$ 0.005
Densità (nr ciuffi/m <sup>2</sup> )	277.00 $\pm$ 9.98
<b>Cluster 3: Basso</b>	
Produzione del rizoma (mg/anno)	37.62 $\pm$ 2.71
Allungamento del rizoma (mm/anno)	5.59 $\pm$ 0.29
Produzione fogliare (nr foglie/anno)	6.93 $\pm$ 0.1
Larghezza foglia intermedia più lunga (mm)	0.82 $\pm$ 0.015
Densità (nr ciuffi/m <sup>2</sup> )	168.00 $\pm$ 13.62

Si è quindi passati alla classificazione dei bianchi, ossia all'analisi della loro distribuzione all'interno dei cluster: le praterie superficiali di riferimento si sono posizionate nel **cluster 1**, quelle profonde nel **cluster 2** e quelle limite nel **cluster 3**, indipendentemente dalla tipologia della costa (Fig 16).

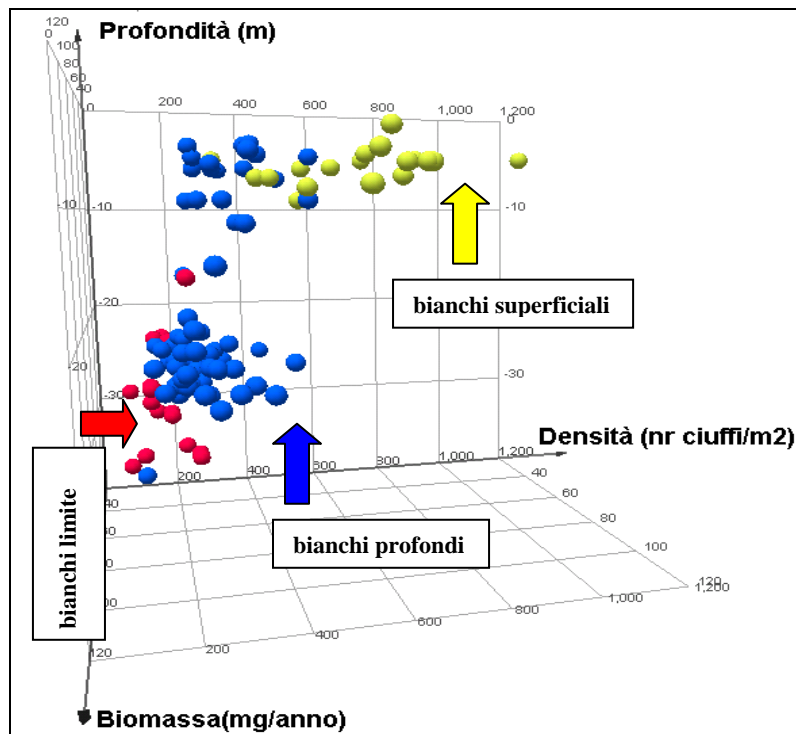


Fig. 16. Rappresentazione 3D dei tre cluster ed individuazione delle condizioni di riferimento.

In questa fase, le praterie di riferimento sono state considerate traccianti dello stato naturale del sistema a *Posidonia oceanica*. Operando in questo modo, le classi in cui il software ha posizionato tali markers sono rappresentative dello "stato naturale" o "ottimale" delle praterie. Da questa analisi, si ricava che il cluster 1 può essere considerato rappresentativo dello "stato naturale" o "ottimale" delle praterie superficiali; il cluster 2 può essere rappresentativo dello "stato naturale" o "ottimale" delle praterie profonde e infine il cluster 3 individua lo "stato naturale" o "ottimale" delle praterie sul limite inferiore.

Grazie all'elaborazione grafica ottenuta con il software Miner 3D (<http://www.miner3d.com>), è stata possibile una prima classificazione delle praterie per fascia batimetrica. Infatti, come si evince dalla Fig. 17, le praterie superficiali e quelle profonde possono raggrupparsi in due classi, di cui una corrispondente allo "stato naturale" o "ottimale" e una seconda corrispondente ad uno "stato non naturale" o "non ottimale". Per le praterie sul limite, l'unica classe emersa riflette lo "stato naturale" o "ottimale" dei siti vicino al limite di distribuzione della specie. D'altronde, la presenza di praterie a profondità di gran lunga maggiori (38m) rispetto alla media mediterranea, conferma le buone condizioni a cui si trovano queste praterie.

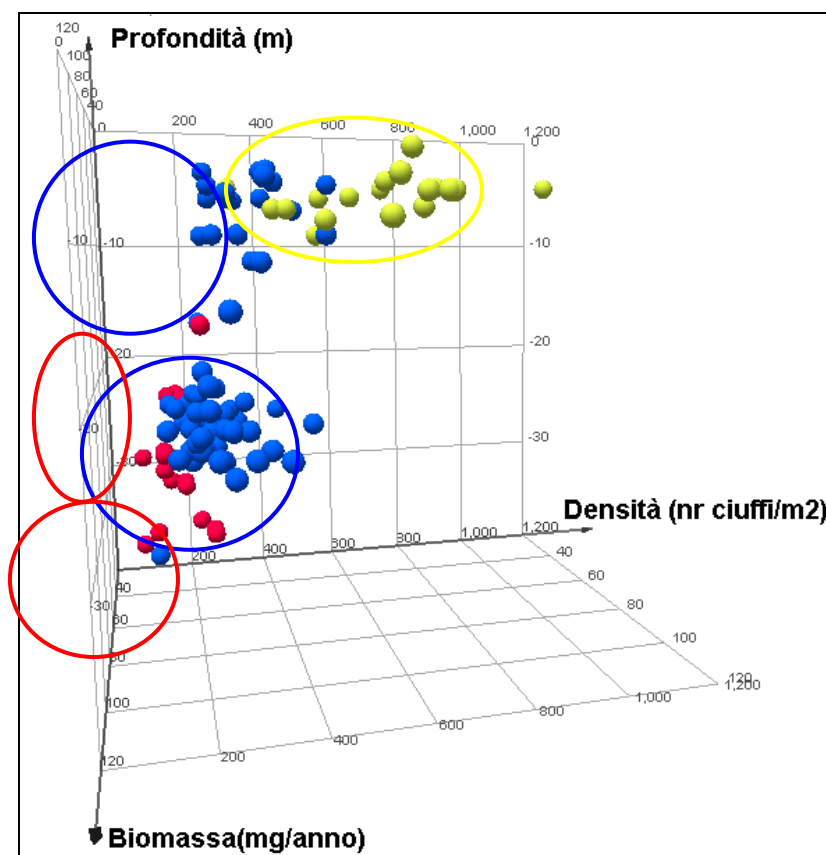


Fig. 17. Schematizzazione delle due condizioni di stato delle praterie superficiali e profonde e dell'unica condizione di stato delle praterie sul limite inferiore.

Analizzando singolarmente le praterie sulla base della classificazione ottenuta si osserva che:

1. Il 25% delle praterie è in "stato non naturale" (in rosso in Fig. 18)
2. Il 50% delle praterie superficiali è "in stato non naturale" (in rosso nella Fig. 19)
3. Il 13% delle praterie profonde è in "stato non naturale" (in rosso nella Fig. 20)
4. Il 91% delle stazioni sul limite inferiore è in "stato naturale".

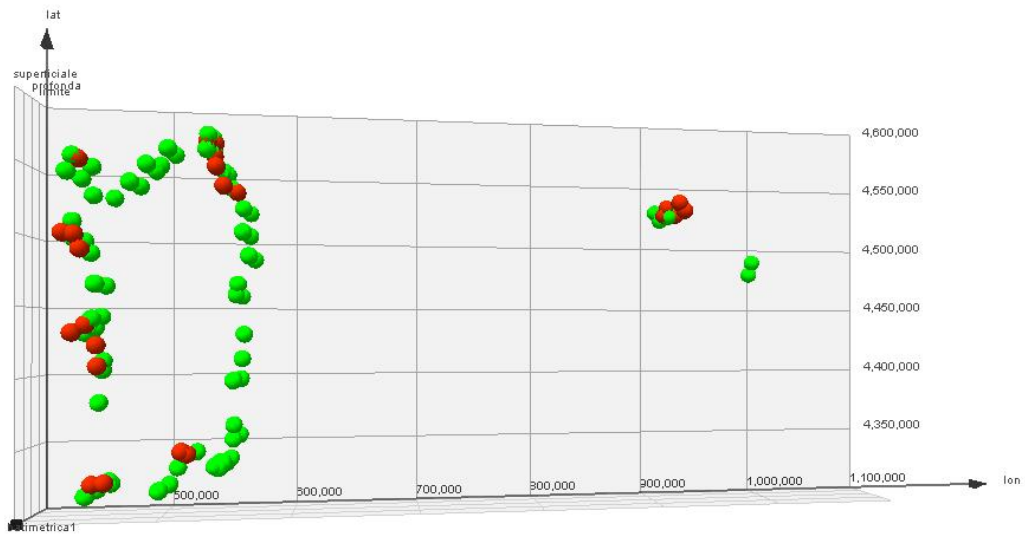


Fig. 18. Praterie analizzate divise in "stato naturale" (verde) e "stato non naturale" (rosso).

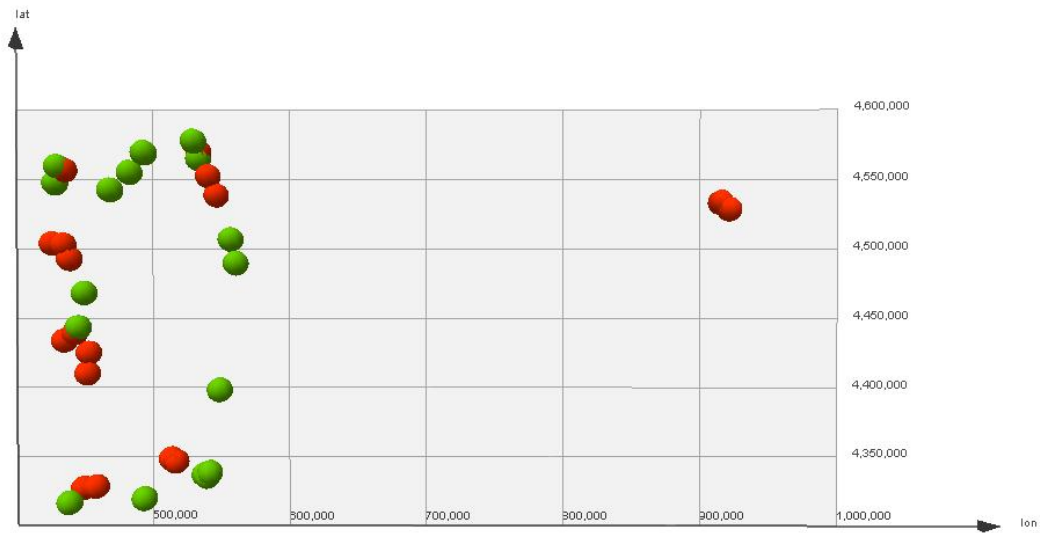


Fig. 19. Praterie superficiali divise in "stato naturale" (verde) e "stato non naturale" (rosso).



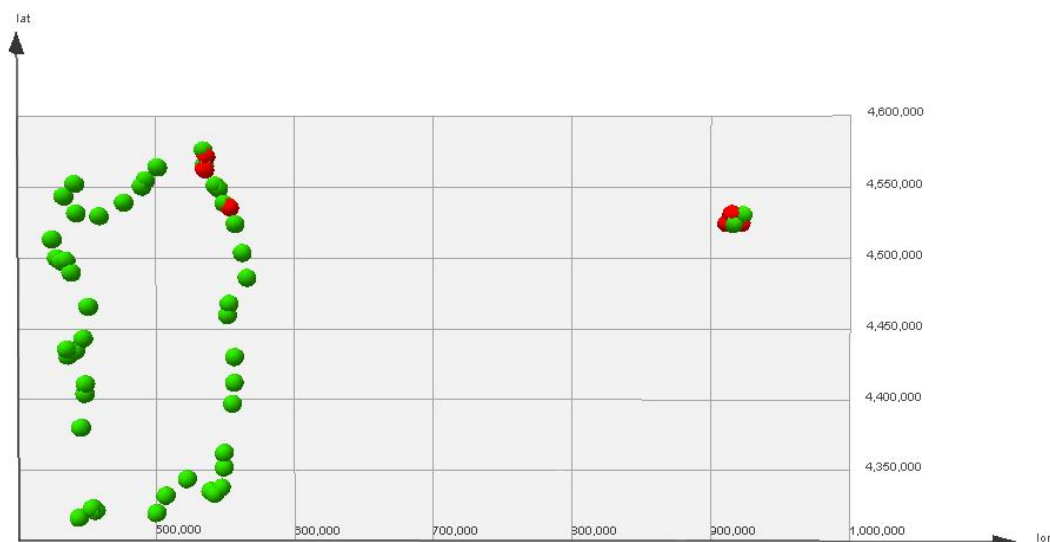


Fig. 20. Praterie profonde divise in "stato naturale" (verde) e "stato non naturale" (rosso).

In base ai dati in nostro possesso ed ai risultati ottenuti, si è tentato, in via preliminare, di fornire una classificazione delle praterie secondo densità, larghezza fogliare e tassi di produzione in accordo con la direttiva europea (Tab. 7, 8, 9).

Le classificazioni sono distinte per i tre range batimetrici individuati.

Tab. 7. Classificazione per le praterie superficiali.

	MB		B		M		E		ME
Densità (nr fasci/m <sup>2</sup> )	←	498	↔	538	↔	700	↔	740	→
Larghezza (cm)	←	0,81	↔	0,83	↔	0,89	↔	0,91	→
Produzione fogliare (nr/y)	←	7,2	↔	7,3	↔	7,7	↔	7,8	→
Allungamento rizoma (mm/y)	←	9,18	↔	9,5	↔	11,1	↔	11,48	→
Produzione rizoma (mg/y)	←	58,44	↔	63,05	↔	81,49	↔	86,1	→

Tab. 8. Classificazione per le praterie profonde

	MB		B		M		E		ME
Densità (nr fasci/m <sup>2</sup> )	←	247	↔	257	↔	297	↔	307	→
Larghezza (cm)	←	0,89	↔	0,9	↔	0,92	↔	0,93	→
Produzione fogliare (nr/y)	←	7,03	↔	7,09	↔	7,33	↔	7,39	→
Allungamento rizoma (mm/y)	←	6,86	↔	7,05	↔	7,81	↔	8,0	→
Produzione rizoma (mg/y)	←	59,26	↔	61,22	↔	69,06	↔	71,02	→

Tab. 9. Classificazione per le praterie sul limite profondo

	MB		B		M		E		ME
Densità (nr fasci/m <sup>2</sup> )	←	127	↔	141	↔	195	↔	209	→
Larghezza (cm)	←	0,77	↔	0,79	↔	0,85	↔	0,87	→
Produzione fogliare (nr/y)	←	6,6	↔	6,7	↔	7,1	↔	7,2	→
Allungamento rizoma (mm/y)	←	4,72	↔	5,01	↔	6,17	↔	6,46	→
Produzione rizoma (mg/y)	←	29,49	↔	32,2	↔	43,04	↔	45,75	→

In base alle classificazioni proposte, che comunque non devono essere considerate definitive, delle 130 stazioni da noi studiate il 45% di quelle superficiali, il 38% di quelle profonde e soltanto il 18% di quelle oltre la batimetrica dei 28m ricadono negli stati Basso e Molto Basso. Si noti come la percentuale più elevata di praterie la cui classificazione dovrebbe riflettere un cattivo stato di qualità della fascia costiera sono praterie superficiali, nella zona cioè dove l'impatto antropico è maggiore.

## CONCLUSIONI

La memorizzazione dei dati in strutture non relazionali crea banche dati inefficienti dal punto di vista logico, risultando queste ultime non normalizzate e presentando di conseguenza un elevato grado di ridondanza. Inoltre, l'indipendenza dei vari fogli di calcolo rende ogni operazione di estrazione di informazioni molto lenta e laboriosa. Risulta molto complicato infatti, fare ricerche incrociate su più fogli per estrarre una determinata tipologia di dato (es: il numero di foglie prodotte nell'anno 1999 dai rizomi di tutte le stazioni superficiali). Tali difficoltà sono ampiamente superate ricorrendo ad un Data Base relazionale. Questa decisione è stata maturata per i seguenti motivi:

1. Robustezza ed affidabilità dei sistemi relazionali;
2. Standardizzazione dei sistemi per le interrogazioni del database;
3. Possibilità di connessione fra database remoti grazie a metodologie comuni a più piattaforme hardware-software;
4. Indipendenza dai linguaggi di programmazione con cui si sviluppano le applicazioni.

Tuttavia, questa scelta ha determinato la necessità di implementare, attraverso un modello relazionale, una base di dati caratterizzati da una naturale gerarchizzazione propria dei modelli ad oggetti (Montella R., 1998).

In realtà, la capacità di effettuare query rappresenta il motivo essenziale dell'uso di applicazioni per la gestione di database quando si tratta di gestire grossi volumi di dati correlati.

È opportuno sottolineare che le nuove funzionalità introdotte in MS Access 2000 rendono possibile copiare i dati da tabelle relazionali ed incollarli in fogli di calcolo Excel. Sarebbe pertanto auspicabile che in future ricerche, i dati vengano organizzati in strutture di memorizzazione relazionali, opportunamente integrate con strutture Excel, per sfruttare eventualmente le sue potenzialità di calcolo e reporting.

In virtù della successiva analisi del dato si è preferito inquadrare la gestione dei dati nell'ottica Data Warehousing finalizzata alle tecniche di Datamining.

Non avendo a disposizione parametri di tipo abiotico, l'obiettivo del nostro studio è stato quindi quello di ottenere una suddivisione delle praterie di *Posidonia oceanica* in base a classi di "stato biologico" del sistema.

La complessità dell'ambiente marino costiero, i cui fattori di variazione sono molteplici e mai gerarchicamente lineari, non ha permesso di individuare un gradiente prioritario nella scelta delle praterie di riferimento. Pertanto, si è deciso di non scegliere una sola prateria per tipologia ma di mantenerle tutte.

Per ciò che concerne la classificazione, la diversa natura, tipologia e frequenza dei dati ci ha messo di fronte a diversi approcci metodologici in relazione alle differenti possibilità di aggregazione dei dati stessi. Nell'analisi dei sistemi a *Posidonia oceanica* si possono considerare tre livelli di aggregazione dei dati, relazionati in una struttura gerarchica, ciascuno con i suoi descrittori. Il livello più alto è rappresentato dalla prateria, costituita da un insieme di piante, che rappresentano a loro volta il livello gerarchicamente inferiore; a questi due livelli ne fa seguito un ultimo, individuato dai singoli comparti che compongono la pianta stessa.

In conclusione, la tecnica adottata, pur se limitata a sole sei variabili, ha permesso la classificazione di un elevato numero di stazioni. Si vuole comunque sottolineare che la natura stessa dell'approccio da noi scelto offre la possibilità di ricalibrare il modello incrementando la quantità di dati usati per generarlo. Pertanto, il modello generato da Autoclass è destinato ad irrobustirsi sulla stessa base di dati che è chiamato a classificare. Utilizzando il modello

ottenuto, sarà possibile classificare nuovi dati grazie alla funzione di "prediction" prevista dal software, fornendo inoltre la relativa probabilità di appartenenza alle classi.

## **BIBLIOGRAFIA**

Atzeni, P., Ceri, S., Paraboschi, S. and Torlone, R., 1999. Teoria delle basi di dati. Mc Graw ed., 538 p.

Bryant, D., Rodenburg, E., Cox T. and Nielsen, D., 1995. Coastlines at Risk: An Index of Potential Development-Related Threats to Coastal Ecosystems. WRI Indicator Brief (World Resources Institute, Washington, D.C.).

Buia, M.C., 2004. *Posidonia oceanica*: Limiti e vantaggi nell'uso di descrittori. *Biologia Marina Mediterranea*, 11(1), 68-77.

Buia, M.C., Gambi, M.C. and Dappiano, M., 2003. I sistemi a fanerogame marine. In: M.C. Gambi M.C. and M. Dppiano (Editors), *Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos mediterraneo*. *Biologia Marina Mediterranea*, 10(suppl.), 145-198.

Buia, M.C. and Mazzella, L., 2000. Diversity in seagrass ecosystems: biological descriptors at different temporal scales. *Biologia Marina mediterranea*, 7(2), 203-206.

Casazza, G., Lopez y RoYo C. and Silvestri, C., 2004. Implementazione della Direttiva 2000/60/CE, per le acque costiere, nell'ecoregione mediterranea. *Biologia Marina Mediterranea*, 11(1).

Cebrian, J. and Duarte, C.M., 1997. Patterns in leaf herbivory on seagrasses. *Acquatic Botany*, 60, 67-82.

Cheeseman, P. and Stutz, J., 1995. Bayesian classification (Autoclass): Theory and results. In: U.M. Fayyad, G. Piatetsky-Shapiro, P. Smyth, R. Uthurusamy (Editors), *Advances in Knowledge Discovery and Datamining*, AAAI Press, 153-181.

Della Croce, N., Cattaneo Vietti R. and Danovaro, R. (Editors), 1997. *Ecologia e protezione dell'ambiente marino costiero*. UTET Libreria, 426 p.

den Hartog, C., 1970. The seagrasses of the world. *Verhandelingen der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen Afdeling Natuurkunde*, 59, 1-275.

Duarte, C.M. and Cebrian, J., 1996. The fate of marine autotrophic production. *Limnology and Oceanography*, 41, 1758-1766.

EEA, 1998. *Europe's Environment: Second Assessment*. European Environment Agency, Copenhagen. Office for Official publications of the European Communities and Elsevier Science Ltd., 293 p.

Enriquez, S., Duarte, C.M. and Sand-Jansen, K., 1993. Patterns in decomposition rates among the photosynthetic organisms: the importance of C:N:P content. *Oecologia*, 94, 457-471.

- Giraud, G., 1977. Contribution à la description et la Phénologie Quantitative des Herbiers de *Posidonia oceanica* (L.) Del. Thèse 3ème cycle Univ. Aix-Marseille II, 150 p.
- Green, E. P. and Short, F.T., 2003. World Atlas of Seagrasses. University of California press, 298 p.
- Guidetti, P., Lorenti M., Buia M.C. and Mazzella, L., 2002. Temporal dynamics and biomass partitioning in three Adriatic seagrass system: *Posidonia oceanica*, *Cymodocea nodosa*, *Zostera marina*. P.S.Z.N.I: Marine Ecology, 23(1), 51-67.
- Harrison, P.G., 1989. Detrital processing in seagrasses system: a review of the factors affecting decay rates, remineralization and detritivory. Aquatic Botany, 23, 263-288.
- Hemminga, M. and Duarte, C.M. (Editors), 2000. Seagrasses ecology. Cambridge University Press, 298 p.
- Iacono, G., 2003. Analisi spaziale della produzione di praterie a *Posidonia oceanica* su scala regionale. Un approccio Data Warehousing. Tesi di Laurea, Università Parthenope Napoli, 156 p.
- Montella, R., 1998. Sviluppo di un sistema GIS per applicazioni marine. Tesi di Laurea, Università Parthenope Napoli, 150 p.
- Pergent, G., Pergent-Martini, C. and Boudouresque, C.F., 1995 Utilisation de l'herbier a *Posidonia oceanica* comme indicateur biologique de la qualité du milieu littoral en Méditerranée : état des connaissances. Mésogée, 54, 3-27.
- Pergent, G., Pergent-Martini, C., Buia, M.C. and Gambi, M.C. (Editors), 2000. Proceeding Fourth International Seagrass Biology Workshop, Biologia marina Mediterranea, 7(2), 1-443.
- Short, F. T. and Wyllie-Echeverria, S., 1996. Natural and human induced disturbance of seagrasses. Environmental consevation, 23, 17-27.
- Silvestre, F., 2003. Tecniche di Data Mining per l'analisi della produzione di praterie a *Posidonia oceanica*. Tesi di Laurea, Università Parthenope Napoli, 141 p.
- Tiberti, L., 2003. Analisi temporale della produzione di praterie a *Posidonia oceanica* Un approccio. Data Warehousing. Tesi di Laurea. Università Partheope Napoli, 156 p.
- UNCED, 1992. Agenda 21(17), 44 p
- WRI1. World Resources Institute: <http://www.wri.org/wri/enved/oceans/tgo-fact.html>.
- Zupo, V., Buia, M.C. and Mazzella, L., 1997. A production model for *Posidonia oceanica* based on temperature. Estuarine, coastal and Shelf Science, 44, 483-492.





## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs.152/99”**

### **Sottoprogetto**

**“Identificazione, selezione e realizzazione di casi di studio per la definizione di descrittori e scale temporali significative nel monitoraggio degli ecosistemi di transizione costieri.”**

**Responsabile scientifico: Prof. Alberto Basset  
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali  
Università Degli Studi di Lecce**

**Autori: Alberto Basset, Letizia Sabetta, Nicola Galuppo**



## ABSTRACT

Il sottoprogetto è stato sviluppato dal Laboratorio di Ecologia dell'Università di Lecce attraverso raccolta, organizzazione ed analisi di dati pubblicati o comunque disponibili al gruppo di ricerca sulle principali caratteristiche fisiografiche, idrologiche e fisiche degli ecosistemi lenticidi di transizione italiani e sugli elementi biologici di qualità costituiti da macrobenthos e fitoplancton. La raccolta dati, che ha consentito la realizzazione di un inventario e di un data-base sui sistemi lenticidi di transizione in Italia, è stata finalizzata all'analisi, su diverse scale, della variabilità di descrittori degli elementi biologici di qualità, allo scopo di valutare: a) le caratteristiche fisiche, relativamente indipendenti dalle attività umane (e.g. caratteristiche fisiografiche), in grado di spiegare la variabilità degli elementi biologici di qualità (i.e., contributo alla definizione di una *Tipologia*); e b) l'idoneità dei descrittori a quantificare lo stato ecologico degli ecosistemi (i.e., contributo alla definizione di un sistema di *Classificazione*). In particolare, è stata sottoposta a verifica sperimentale l'idoneità, in termini comparativi ed assoluti, di descrittori non tassonomici legati alle dimensioni corporee degli individui a valutare lo stato ecologico degli ecosistemi acquatici di transizione. Raccolta ed analisi dei dati sono state organizzate su due scale spaziali differenti, una scala nazionale ed una scala locale di ecosistema, in rapporto alle richieste delle normative nazionali (D.Lgs 152/99 e successive modificazioni) e comunitarie (Water Framework Directive, WFD, CE 60/2000). Relativamente al primo livello di scala (di seguito nella relazione definito come **prima fase**), l'analisi è stata effettuata sull'elemento biologico di qualità *macrobenthos*, per cui è disponibile su una mole di dati pubblicati sufficiente; per il secondo livello di scala (di seguito nella relazione definito come **seconda fase**), l'analisi è stata effettuata su fitoplancton e macrobenthos. Progettazione di un data-base, realizzazione di un inventario di ecosistemi, identificazione di casi di studio, realizzazione di casi di studio, realizzazione di eventi di disseminazione hanno rappresentato le *milestones* principali di progetto, cui corrispondono come *deliverables* o prodotti il data-base su Access (Microsoft) e l'inventario a schede degli ecosistemi lenticidi di transizione in territorio italiano, la proposta di *Tipologia*, il report sulla idoneità di descrittori legati alla dimensione corporea degli individui per la *Classificazione*, il manuale di "Metodologie di analisi della struttura dimensionale di fitoplancton e macrobenthos" ed i seminari di divulgazione dei risultati tenuti a Tirana ed a Lecce. Complessivamente in territorio nazionale sono stati censiti 171 ecosistemi lenticidi di transizione, distribuiti in 10 regioni italiane, per una superficie complessiva di circa 1619 km<sup>2</sup>; in termini numerici gli ecosistemi di transizione sono concentrati nelle regioni insulari e meridionali, in termini di superficie sono concentrati nell'area dell'Adriatico settentrionale. Tendenzialmente sono piccoli (~90% con superficie inferiore a 10 km<sup>2</sup>), poco profondi ( $\mu=0,7\text{m}$ ), con ridotto range di marea (i.e., micro o non tidali) e relativamente eterogenei per quanto riguarda il contenuto salino. Per ciascuna laguna sono riportati dati relativi ad un massimo di 25 caratteristiche ed a 4 caratteristiche (composizione tassonomica, ricchezza in specie, diversità filogenetica, taglia individuale) per gli elementi di qualità macrobenthos e fitoplancton. Il popolamento di dati sugli elementi biologici è stato sufficiente ad effettuare una analisi solo per gli invertebrati macrobentonici per cui esistono dati consistenti su 26 lagune italiane (40 lagune in totale). L'analisi dei dati ha evidenziato una estrema eterogeneità della composizione tassonomica delle lagune italiane, una maggiore invarianza della struttura dimensionale rispetto ad altri descrittori ed una dipendenza della variazione degli stessi da alcune caratteristiche abiotiche degli ecosistemi, i.e., range di marea, lunghezza e larghezza degli outlet, area superficiale e salinità. E' stato proposto su tale base uno schema di *Tipologia* basato su tre fattori di classificazione: regime idrologico, range di marea ed area di superficie. Su alcuni gruppi di ecosistemi salentini sono stati realizzati casi di studio specifici sui descrittori che hanno evidenziato: (a) le strutture dimensionali di fitoplancton e macrobenthos costituiscono buoni descrittori potenziali poiché,  $a_1$ . mostrano gradienti di variazione consistenti sempre con le forzanti ambientali, e  $a_2$ . evidenziano una maggiore sensibilità rispetto a descrittori tassonomici o macro descrittori di taglia; (b) tra i descrittori delle strutture in taglia i descrittori di ampiezza e di forma mostrano variazioni più consistenti dei descrittori di tendenza centrale ai fini di una *Classificazione*. Una proposta di descrittori prioritari per la *Classificazione* è riportata e discussa nelle considerazioni conclusioni relative alle attività realizzate nell'ambito del sotto progetto.

## INTRODUZIONE

La ricerca di una definizione quantificabile di stato ecologico e/o stato di salute degli ecosistemi acquatici, che consenta valutazioni di stato e di cambiamento di stato rilevabili attraverso un *monitoraggio*, costituisce una sfida per il mondo scientifico, sia a livello concettuale sia a livello applicativo. La sfida consiste nel definire lo stato o la salute degli ecosistemi acquatici in termini di organizzazione e funzionamento delle sue componenti strutturali, così da poter derivare in modo esplicito descrittori idonei della *performance* globale.

In termini formali lo stato ecologico di un ecosistema è definito come “*un’espressione della qualità della struttura e del funzionamento degli ecosistemi*”, lo stato di salute può essere definito come “*organizzazione, resilienza e vigore dell’ecosistema* (Costanza, 1992)” o come “*espressione dei servizi per una specie in grado di controllarli e difenderli* (Calow, 2000)”. Le definizioni proposte contengono tutte una componente qualitativa o una complessità intrinseca che rende difficile dare un contesto quantitativo ai concetti e quindi derivarne dei descrittori appropriati. D’altra parte, l’interazione sui cui tutta la struttura trofica degli ecosistemi si basa, il rapporto preda-predatore, è di per se stessa conflittuale e l’ottimizzazione del rapporto, che implicherebbe uno stato di salute ottimale, è molto difficile da concettualizzare, diversamente alla ottimizzazione del comportamento sia delle prede sia del predatore. Conseguentemente, stato ecologico e stato di salute vengono generalmente riferiti in termini comparativi a condizioni, assunte ottimali in riferimento alle caratteristiche climatico-abiotiche locali, in cui siano assenti o minime pressioni selettive direzionali legate alla attività umana (i.e., ecosistemi geografici di riferimento) o a fenomeni interattivi quantificabili a livello teorico (i.e., modellistica ecologica). Nel primo caso, più che nel secondo, il problema dei descrittori di stato sussiste comunque per la necessità di definire relazioni causa effetto tra attività antropica e cambiamenti. Fino a pochi anni or sono, la stechiometria chimica degli ecosistemi veniva considerata il principale strumento di descrizione, per la relativa facilità di condurre analisi quantitative e per le consolidate evidenze della chimica e tossicologia ambientale e più recentemente della eco-tossicologia. Tuttavia, è evidente come in riferimento al concetto di stato ecologico o salute, la componente chimico-abiotica dell’ecosistema non possa che costituire uno spazio di nicchia dell’ambiente, più o meno ampio e selettivo mentre la componente biologica costituisce l’oggetto di interesse, la cui salute o il cui stato possono variare nel tempo. Nel tracciare il contesto generale per la definizione della classificazione e il monitoraggio dello stato ecologico degli ecosistemi acquatici dell’area europea, la recente Direttiva Comunitaria Water Framework Directive (WFD, CE60/2000) adotta questo approccio innovativo, ma basato su principi scientificamente consolidati; concentrando l’attenzione sugli elementi biologici di qualità degli ecosistemi e sui loro descrittori. In particolare, la WFD specifica gli elementi di qualità da analizzare, ma fornisce solo indicazioni generali sui

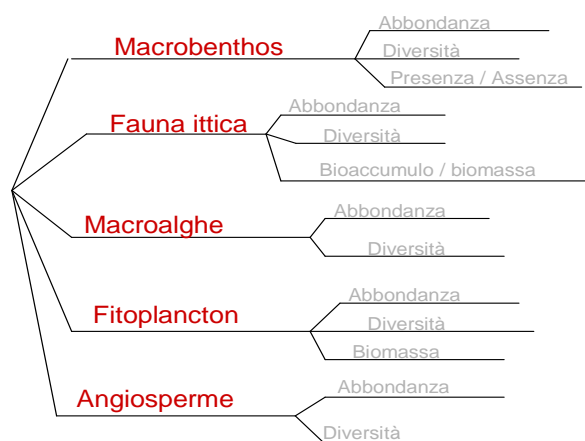


Fig. 1 Rappresentazione schematica relativa alla selezione degli elementi biologici di qualità per gli ambienti acquatici di transizione (da Guidance on Monitoring under WFD, 2003)

relativi descrittori (Fig. 1), cioè le variabili misurabili di tali elementi. I descrittori, nell'ambito della WFD, costituiscono l'anello di base per definire sia le *Tipologie* di ecosistemi acquatici da monitorare, sia le procedure di *Classificazione* e la *Classificazione* dello stato ecologico degli ecosistemi, attraverso il confronto con valori osservati in *Ecosistemi di Riferimento* o derivati dalla teoria ecologica esistente. Gli ecosistemi acquatici di transizione costituiscono nella Direttiva una classe di ecosistemi per la cui classificazione e monitoraggio la sfida è particolarmente impegnativa. Infatti, per le loro caratteristiche intrinseche gli ecosistemi di transizione sono caratterizzati da elevata produttività, bassa trasparenza, elevata complessità di habitat (in termini di variabilità stocastica e deterministica alta su scala sia spaziale sia temporale) e bassa diversità. Ecosistemi con tali caratteristiche verrebbero definiti di basso stato ecologico in altre classi, indicando come negli ecosistemi di transizione anche la transizione tra stati debba essere su scale differenti, molto più brevi, che in altri ecosistemi acquatici.

#### *Basi teoriche dei descrittori degli elementi biologici di qualità*

I descrittori che per ciascun elemento biologico di qualità possono essere utilizzati in un programma di monitoraggio sono numerosi e il costo e l'efficienza possono differire largamente tra essi (vedi Muillot et al., 2005). Nello schema in figura 2 è riportata una panoramica dei descrittori (indicatori o indici) biologici attualmente disponibili in letteratura. Per ciascuno degli elementi biologici di qualità sono stati proposti e applicati un certo numero di descrittori tassonomici, relativi a ricchezza in specie e biodiversità o alla presenza di taxa indicatori, e di descrittori non tassonomici, lo sviluppo dei quali è stato ed è attualmente stimolato soprattutto da alcuni problemi sollevati dai descrittori tassonomici. Innanzitutto, il riconoscimento tassonomico a livello di specie può essere una operazione complicata come conseguenza delle dimensioni ridotte degli individui da riconoscere, della presenza di specie fenotipicamente molto simili o della presenza di specie criptiche (Knowlton, 1993); infatti, diversi errori di classificazione tassonomica sono stati segnalati in pregressi studi di valutazione ecologica (e.g. Sheppard, 1998). Inoltre, la ricchezza tassonomica osservata

<b>Elementi biologici di qualità</b>	<b>descrittori tassonomici</b>	ricchezza / diversità	N° specie; Hs (Shannon and Wiener, 1949); D (Simpson, 1949); J Pielou, 1966); D' (Warwick & Clarke, 1995); abc method (Warwick, 1986)
		taxon indicatori / indici tassonomici	E.E.I. (Orfanidis, 2001); Saprobic index (Zelinka, 1961); B-IBI (Weisberg, 1997); Lesina (Breber et al., 1997); S.Q.M.C.I. (Stark, 1998); A.M.B.I. (Borja, 2000); B.I. (Simboura et al., 2002); F.A.I.I. (Kleynhans, 1999)
	<b>descrittori non-tassonomici</b>	biomassa / produttività	
		ecotossicologici	EROD (Dixon et al., 1987); Physiological [(steroid hormones (Donaldson, 1990)); Biochemical [MFO (Hodson et al., 1991), PAHs, Cyt-P450 (Goksøyr et al., 1992)]; Abundance, size & age distribution, sex ratio, reproductive integrity (Donaldson, 1990).
		funzionali	Functional diversity (Bremner et al. 2003, Bady et al. 2005) Exergy (Jorgensen, 1992) Biomass of functional groups
		taglia corporea/ struttura in taglia	I.S.D.= Index of size distribution (Reizopoulou & Nicolaidou, in press) Width and shape of size abundance distribution (Basset et al., 2004)

Fig. 2 Schema riassuntivo dei descrittori degli elementi biologici di qualità disponibili in letteratura

risulta spesso una sottostima della vera ricchezza tassonomica delle comunità monitorate e l'errore in questione dipende dallo sforzo di campionamento (Gaston, 1996), che raramente è

costante fra i siti. Infine, la relazione tra la diversità o la ricchezza in specie di una comunità e lo stato di salute dell'ecosistema risulta discutibile: un aumento di diversità è stato osservato per livelli medi di disturbo o stress (Huston, 1979; Mackey, 2001), una bassa ricchezza in specie può essere il risultato di un alto livello di stress, a cui pochissime specie sono in grado di sopravvivere, o a un basso livello di stress che consente ai competitori migliori di prendere il sopravvento (Connell, 1978; Huston, 1979). Simili risposte non lineari sono state osservate comparando due componenti centrali del concetto di stato ecologico e salute degli ecosistemi: biodiversità e funzionamento degli ecosistemi (vedi Johnson *et al.* 1996). E', infine, ben noto che ricchezza tassonomica, ed in minor misura diversità, in sistemi insulari, quali possono essere considerati gli ecosistemi di transizione nel paesaggio costiero, sono funzione diretta della superficie dell'isola (MacArthur & Wilson, 1967), indipendentemente dal livello di perturbazione o disturbo. L'efficacia e il reale contenuto informativo di molti descrittori tassonomici non è, pertanto, chiaramente quantificato; inoltre, in molti casi la loro applicabilità su scale spaziali ampie risulta scarsa. Questo è particolarmente vero per gli ecosistemi acquatici di transizione, come foci fluviali, lagune e laghi costieri, che sono caratterizzati da una elevata eterogeneità intra- e inter-habitat.

Numerosi descrittori non tassonomici sono stati proposti (e.g., Mouillot *et al.*, 2005); tra i descrittori non tassonomici quelli legati alla taglia individuale degli organismi hanno alcuni vantaggi rispetto a quelli basati sulla tassonomia: sono facili da determinare, non richiedono elevate competenze tassonomiche e permettono di ridurre le *bias* legate al riconoscimento tassonomico, sono comparabili, tra differenti ecosistemi, tra scale spaziali e, traslando la scala logaritmica di rappresentazione della mole corporea, anche tra elementi biologici di qualità. Inoltre, i descrittori legati alla taglia individuale si basano su un solido *background* teorico che prevede variazioni della struttura in taglia corporea delle comunità con le pressioni ambientali. Studi teorici e sperimentali hanno enfatizzato, negli ultimi decenni, la rilevanza della struttura in taglia corporea come caratteristica strutturale delle comunità. La taglia corporea influenza il comportamento degli individui (e.g., comportamenti di selezione ed abbandono del *patch* negli organismi animali, tasso di assorbimento radicale nelle piante superiori, tasso di sedimentazione nel fitoplancton), l'energetica degli individui (e.g., richieste di materia organica e di nutrienti), l'abbondanza della popolazione (e.g. distribuzioni taglia-abbondanza) e le dinamiche della popolazione (e.g., tassi di crescita). Basi teoriche in ecologia di comunità supportano l'importanza della taglia corporea nelle relazioni di coesistenza tra specie e nell'organizzazione delle comunità [e.g., ripartizione di nicchia legata alla taglia (Hutchinson, 1959); ripartizione dell'energia legata alla taglia (Basset, 1995)]. Infine, pattern comuni di variazione della struttura in taglia delle comunità sono stati osservati in termini di distribuzioni taglia-specie (Damuth, 1981; 1987), distribuzioni taglia-abbondanza (Morse *et al.*, 1988) e distribuzioni taglia-energia (Brown e Maurer, 1987).

## OBIETTIVI

Il sottoprogetto, sviluppato dal Laboratorio di Ecologia dell'Università di Lecce attraverso raccolta ed organizzazione di dati pubblicati o comunque disponibili al gruppo di ricerca, ed analisi dei modelli di variazione, su diverse scale, di descrittori degli elementi biologici di qualità, aveva due finalità principali: 1. contribuire alla definizione di una *Tipologia* degli ecosistemi di transizione italiani, attraverso una analisi della influenza delle principali caratteristiche fisiche, relativamente indipendenti dalle attività umane (e.g. caratteristiche fisiografiche), sulla variabilità tra ecosistemi degli elementi biologici di qualità; e, 2) contribuire alla definizione di un sistema di *Classificazione* dello stato ecologico, attraverso identificazione e realizzazione di casi di studio su efficacia ed adeguatezza di descrittori degli elementi di qualità ad esprimere variazioni nello stato ecologico degli ecosistemi. Per quanto

riguarda la seconda finalità il sottoprogetto ha sottoposto a verifica sperimentale l' idoneità, in termini comparativi ed assoluti, di descrittori non tassonomici legati alle dimensioni corporee degli individui. Raccolta ed analisi dei dati sono state organizzate su due scale spaziali differenti, una scala nazionale ed una scala locale di ecosistema, in rapporto alle richieste delle normative nazionali (D.Lgs 152/99 e successive modificazioni) e comunitarie (Water Framework Directive, WFD, CE 60/2000) ed alla necessità di affrontare tematiche riguardanti sia la *Tipologia* sia la *Classificazione*. Relativamente al primo livello di scala (di seguito nella relazione definito come **prima fase**), l'analisi è stata effettuata sull'elemento biologico di qualità invertebrati macrobentonici (i.e., *macrobenthos*), per cui è disponibile su una mole di dati pubblicati sufficiente; per il secondo livello di scala (di seguito nella relazione definito come **seconda fase**), l'analisi è stata effettuata su fitoplancton e macrobenthos. Uno schema concettuale riassuntivo del disegno sperimentale è riportato in tabella 1.

Tabella 1. Schema concettuale del disegno sperimentale realizzato nel sottoprogetto

Attività e Fasi della ricerca	Finalità	Basi teoriche di riferimento
1. Raccolta e sistematizzazione dati su caratteristiche abiotiche e biotiche degli ecosistemi acquatici di transizione in territorio italiano (Tabella 2)	Individuazione "a posteriori" di tipologie caratteristiche degli ecosistemi acquatici di transizione	Teoria della nicchia (Hutchinson, 1957)
	Determinazione dei più idonei descrittori degli elementi di qualità	Teoria dei sistemi e biogeografia delle isole (e.g.,McArthur e Wilson, 1967)
2. Validazione analitica, su dati pregressi, di descrittori del fitoplancton e del macro-benthos legati alle dimensioni individuali	Implementazione WFD, con standardizzazione metodologica e procedurale di descrittori a basso costo, alto contenuto informativo ed alta trasferibilità.	Teoria della competizione e della comunità (e.g., Roughgarden, 1996) Teoria della mole corporea (Peters, 1983; Basset, 1995)
	Individuazione delle scale temporali di campionamento ottimali per i descrittori di elementi di qualità	Geostatistica (Matheron, 1963)

Progettazione di un data-base, realizzazione di un inventario di ecosistemi, identificazione di casi di studio, realizzazione di casi di studio, realizzazione di eventi di disseminazione hanno rappresentato le *milestones* principali di progetto, cui corrispondono i seguenti obiettivi: 1. realizzazione di un inventario degli ecosistemi lenticidi di transizione italiani; 2. realizzazione di un data-base aperto, implementabile in continuo, sulle caratteristiche fisiografiche, ideologiche, sedimentologiche, fisico-chimiche e biologiche degli ecosistemi lenticidi di transizione italiani; 3. analisi *a posteriori* della *Tipologia* degli ecosistemi di transizione italiani individuando casi di studio sul data-base nazionale idonei a sottoporre a verifica sperimentale il ruolo delle diverse componenti fisiografico-fisiche strutturali degli ecosistemi come fonte di variazione della componente biologica degli elementi di qualità; 4. individuazione e realizzazione di casi di studio, su dati pregressi, idonei a sottoporre a verifica sperimentale l' idoneità di caratteristiche delle strutture dimensionali (i.e., macroclassificazioni dimensionali) e delle distribuzioni taglia-abbondanza come descrittori dello stato di salute degli ecosistemi; 5. produrre una analisi metodologica dei descrittori delle distribuzioni taglia abbondanza finalizzata alla *Classificazione* dello stato ecologico degli ecosistemi; 6. produrre, su dati pregressi, una analisi procedurale delle scale spaziali e

temporali applicabili al monitoraggio negli ecosistemi lentici di transizione. Nei successivi paragrafi, metodologie di analisi e risultati relativi alle due fasi della ricerca saranno descritte separatamente. In termini di obiettivi, i primi tre obiettivi fanno riferimento alla I Fase della ricerca ed i secondi tre obiettivi alla II Fase.

## MATERIALI E METODI

### *I Fase della ricerca*

La prima fase della ricerca ha previsto la realizzazione di un data-base tematico di caratteristiche abiotiche e biotiche degli ecosistemi acquatici di transizione italiani, finalizzato alla individuazione di tipologie caratteristiche di questi ambienti ed alla determinazione delle lacune conoscitive sugli elementi biologici di qualità indicati nella Direttiva e sui loro descrittori. Con queste finalità è stata avviata la raccolta, sistematizzazione ed analisi dei dati esistenti sugli ecosistemi acquatici di transizione presenti in territorio italiano, reperiti da data-base nazionali e internazionali, e disponibili come pubblicazioni scientifiche e bibliografia grigia costituita da relazioni tecniche. Sui dati raccolti è stata effettuata una metanalisi dei dati finalizzata allo studio delle relazioni tra caratteristiche morfologico-fisiche degli ecosistemi, indipendenti dalle pressioni, e descrittori degli elementi biologici di qualità; sono stati sottoposti a verifica su macro-scala i modelli teorici di variazione delle caratteristiche sintetiche degli elementi biologici di qualità negli ecosistemi di transizione italiani con la loro superficie, utilizzando il background della teoria insulare (MacArthur e Wilson, 1967) come sistema di riferimento.

### *Metodologie di raccolta dei dati*

- La raccolta dati ha previsto una fase iniziale che ha avuto come obiettivo quello di stilare una lista degli ambienti acquatici presenti in territorio nazionale identificabili come ecosistemi di transizione secondo il D.L 152/99 e la WFD, di caratterizzarli secondo la tipologia classica (delta/estuario, laguna, lago costiero) e di localizzarli geograficamente al fine di produrre una carta della distribuzione degli stessi nel territorio nazionale. Nel perseguire questo obiettivo la ricerca su internet ha avuto un ruolo fondamentale; inserendo nei vari motori di ricerca le parole chiave relative all'argomento in oggetto (ecosistemi di transizione, lagune, estuari, delta, stagni, laghi costieri, etc) sono stati selezionati e visitati numerosi siti, tra i quali i siti ufficiali delle Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente (ARPA) e delle varie amministrazioni (regioni, province, comuni) caratterizzate dalla presenza di ecosistemi di transizione nel territorio di pertinenza. Successivamente, la ricerca delle conoscenze disponibili su tutti gli ambienti identificati è stata concentrata soprattutto su tre tipi di dati (Cfr. Tabella 2):

Tabella 2 Scheda tipo sulla ricerca e raccolta dati

<b>Denominazione del sito:</b>	
<b>Tipologia classica (delta/estuario – laguna - lago costiero):</b>	
<b>Posizione amministrativa:</b>	
<b>Posizione geografica:</b>	
Caratteristiche morfologiche	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Superficie</li> <li>• Perimetro</li> <li>• Frattale di costa</li> <li>• Lunghezza massima</li> <li>• Larghezza massima</li> <li>• Profondità media</li> <li>• Profondità massima</li> <li>• N° affluenti</li> </ul>
Caratteristiche fisiche	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temperatura dell'aria</li> <li>• Fetch</li> <li>• Precipitazioni</li> <li>• Temperatura dell'acqua</li> <li>• Salinità</li> <li>• Tempo di ricambio dell'acqua</li> <li>• Idrodinamismo</li> <li>• Granulometria sedimenti</li> <li>• Contenuto organico sedimenti</li> </ul>
Caratteristiche dello stato trofico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Indici di stato trofico</li> </ul>
Caratteristiche biotiche di:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abbondanza</li> <li>• Composizione tassonomica / Struttura in taglia</li> <li>• Diversità tassonomica / diversità in taglia</li> </ul>
a) fitoplancton,	
b) macroinvertebrati bentonici,	
c) fauna ittica.	

- caratteristiche morfologiche-descrittive (superficie, perimetro, profondità, asse maggiore, asse minore, lunghezza e larghezza outlet);
- caratteristiche fisico-chimiche e idrologiche (salinità, temperatura, idrodinamismo, indicatori e indici di stato trofico, range di marea);
- caratteristiche biotiche (abbondanza, composizione tassonomica, struttura in taglia di fitoplancton e macroinvertebrati bentonici).

La raccolta di queste informazioni per la costruzione del data-base tematico sono stati estrapolati da fonti pubblicate (testi e articoli scientifici) che sono state selezionate attraverso (1) interrogazione dei principali motori di ricerca su web; (2) richiesta a tutte le amministrazioni pubbliche (Province, Regioni e ARPA) (3) interrogazione dei principali data-base elettronici on-line (i.e., *ASFA*, *WebSpirs*, *Biological Abstracts*, *Current Contents* e *Zoological Records*), (4) analisi delle riviste nazionali (i.e., *Accademia Peloritana*, *Il naturalista siciliano*, *Oebalia*, *Rendiconti del Seminario della Facoltà di Scienze dell'Università di Cagliari*, *Thalassia Salentina*) e (5) degli atti delle società italiane impegnate nel campo dell'ecologia e della zoologia acquatica (i.e., *Associazione Italiana di Oceanografia e Limnologia*, *Società Italiana di Biologia Marina*, *Società Italiana di Ecologia*, *Società Sarda di Scienze Naturali*). La ricerca è stata limitata alle pubblicazioni relative agli ultimi 30 anni.

In particolare, relativamente alla raccolta dei dati biologici la ricerca data-base elettronici on-line è stata condotta attraverso una combinazione fattoriale a tre vie delle seguenti parole chiave: a) Italy, Italian; b) lagoon, coastal lake, coastal pond, saltmarsh, saltern, brackish; c) benthos, macrobenthos, macroinvertebrate, benthic invertebrates, benthic fauna, phytoplankton. La ricerca su riviste e proceeding nazionali è stata condotta attraverso la consultazione dell'indice di tutti i volumi pubblicati nel periodo considerato, e quando si è reso necessario, anche degli abstract. Tre rapporti non pubblicati disponibili presso il laboratorio di Ecologia dell'Università di Lecce sono stati considerati.

Globalmente, sono stati raccolti 406 articoli scientifici e 44 testi riguardanti ecosistemi di transizione italiani.

#### Analisi delle relazioni specie-area relative all'elemento di qualità macrobenthos

La verifica analitica su macro-scala dei modelli teorici di variazione delle caratteristiche sintetiche degli elementi biologici di qualità negli ecosistemi di transizione italiani con la loro superficie utilizzando, il background della teoria insulare, è stata condotta sui dati relativi al macrobenthos, per il quale sono stati reperiti il maggior numero di lavori scientifici pubblicati. Infatti, 205 degli articoli che sono stati raccolti con la procedura descritta nel paragrafo precedente riportano liste tassonomiche relative a questo elemento biologico di qualità.

Al fine di limitare gli inconvenienti metodologici legati alla costruzione di liste tassonomiche da dati bibliografici [e.g. (i) omogeneità in numero, stagionalità e frequenza dei campionamenti, (ii) approfondimento tassonomico e (iii) rappresentatività di singoli gruppi] i 205 articoli sono stati selezionati in accordo a tre criteri: a) risoluzione tassonomica (la maggior parte dei taxa classificati a livello di genere o di specie); b) completezza tassonomica (la lista tassonomica di una laguna, derivata da uno o più articoli, non può essere relativa ad un numero limitato di phyla); c) il disegno sperimentale applicato (campionamenti condotti almeno a livello stagionale). In accordo a questi criteri, sono stati selezionati per l'analisi 168 articoli relativi a 26 ecosistemi lagunari (Fig. 2).

I 26 ecosistemi di transizione selezionati sono distribuiti lungo la fascia costiera di 15 Province appartenenti a 7 regioni (Fig. 3) e coprono una superficie complessiva di 1133.43 km<sup>2</sup> che rappresenta circa il 70% di quella totale nazionale.

Di ciascuno dei taxa di macroinvertebrati bentonici rinvenuti nei 26 ecosistemi di transizione sono stati determinati i livelli di classificazione gerarchici superiori fino al livello di ordine e,

utilizzando dati riportati in chiavi di classificazione e testi sulla zoologia degli invertebrati la taglia corporea media (i.e lunghezza corporea).

La relazione specie-area è stata analizzata utilizzando la nota funzione di (Arrhenius, 1921):

$$S = cA^z, \text{ or}$$

$$\log S = \log C + z \log A,$$

dove A rappresenta la superficie degli ecosistemi, S è il nume di taxa, e c e z I coefficienti di regressione.

L'analisi è stata condotta a differenti livelli di risoluzione tassonomica (i.e., specie/genere, famiglia e ordine) e all'interno di singoli gruppi tassonomici (i.e., Anellida, Arthropoda, Mollusca).

Metodiche di analisi statistiche multivariate (e.g. CCA, Canonical Correspondence Analysis e Regressione Multivariata) sono state utilizzate per quantificare e partizionare il ruolo delle caratteristiche abiotiche degli ecosistemi di transizione sulla struttura delle comunità di macroinvertebrati bentonici.

## II Fase

Per la realizzazione della seconda fase del sottoprogetto sono stati utilizzati dati disponibili presso il laboratorio di Ecologia dell'Università di Lecce, relativi a due elementi biologici di qualità: il fitoplancton e i macro-invertebrati bentonici.

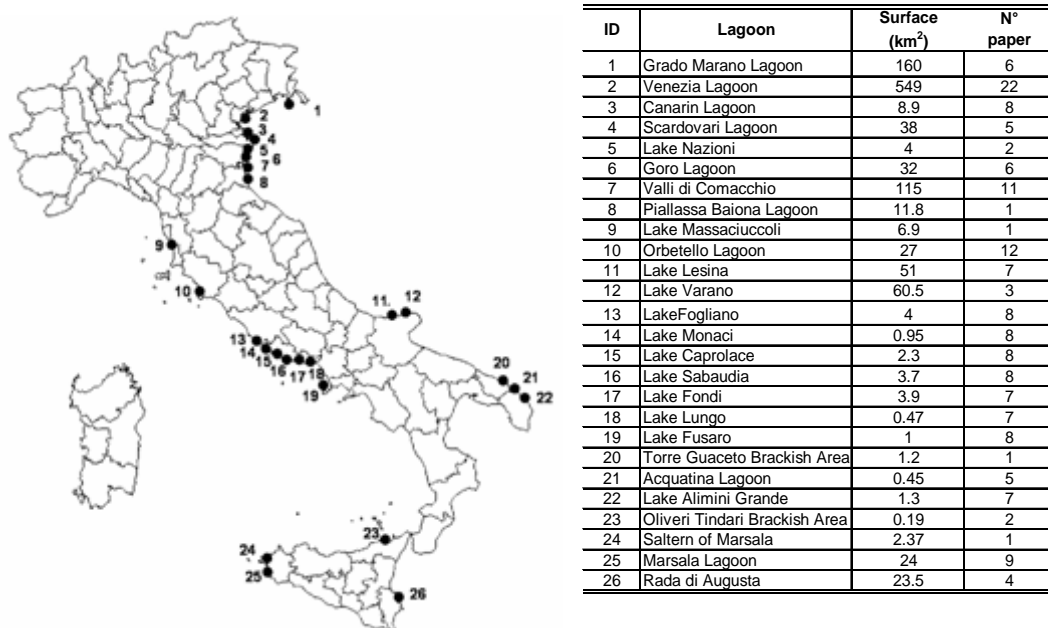


Fig. 3 Distribuzione geografica dei 26 ecosistemi di transizione selezionati. Per ciascun ecosistema sono riportati superficie e numero di articoli raccolti.



Per quanto riguarda le corporazioni fitoplanctoniche sono stati utilizzati due set di dati, per l'analisi della dipendenza funzionale delle caratteristiche delle strutture dimensionali del fitoplancton da alcune principali forzanti ecologiche su differenti livelli di scala. Il primo set di dati è relativo all'area marina costiera antistante la penisola salentina (Fig. 4, area 8), compresa tra Brindisi e Porto Cesareo per una distanza dalla costa fino a 20 miglia. Dati chimico-fisici e biologici, relativi alla biomassa, totale e frazionata, alla composizione tassonomica e dimensionale delle corporazioni fitoplanctoniche, sono stati raccolti stagionalmente (Marzo, Giugno, Settembre e Dicembre) lungo 7 transetti perpendicolari alla linea di costa in tre stazioni per transetto e tre profondità per stazione (per una descrizione dettagliata vedi Sabetta *et al.*, 2005).

Il secondo set di dati è relativo a 7 ecosistemi di transizione, distribuiti lungo tutta la fascia costiera pugliese (Fig. 4, ecosistemi 1-7 in blu). I dati chimico-fisici e biologici, relativi alle corporazioni fitoplanctoniche, sono stati raccolti contemporaneamente in un tutti gli ecosistemi, campionando 6 stazioni superficiali in ciascun sito di studio.

I entrambi i data-set l'analisi delle distribuzioni taglia-abbondanza delle corporazioni fitoplanctoniche sono stati utilizzati dati di biovolume raccolti con un sistema di analisi immagine LUCIA (Nikon), ad un ingrandimento di 400x, su sub-campioni di 200 cellule per campione.

Per quanto riguarda le corporazioni di invertebrati bentonici, la verifica diretta della idoneità delle caratteristiche delle strutture dimensionali degli elementi di qualità come descrittori dello stato ecologico degli ecosistemi acquatici è stata effettuata su dati raccolti, su scala temporale stagionale, in alcuni ecosistemi di transizione della penisola salentina, il lago Alimini Grande, la Riserva Naturale Terrestre di Torre Guaceto e il sistema di ecosistemi salmastri dell'area costiera di Brindisi (Fig. 4, ecosistemi 1-3 in rosso). In tutti gli ecosistemi di studio i dati disponibili fanno riferimento alle principali caratteristiche chimico-fisiche, comprese le concentrazioni di metalli pesanti, dell'acqua e dei sedimenti e alla composizione tassonomica e dimensionale delle corporazioni di macroinvertebrati bentonici. I dati relativi alle strutture dimensionali dei macroinvertebrati bentonici sono rappresentati da dimensioni lineari e biomassa quantificate a livello di singolo individuo. Le misure di dimensioni lineari sono state ottenute tramite analisi immagine e le analisi di biomassa derivano da procedure di

Ecosistema	Prov	N° Siti
Laguna di Lesina (1)	FG	6
Laguna di Varano (2)	FG	6
Saline di Margherita di Savoia (3)	FG	6
Mar Piccolo (4)	TA	6
Stagno di Acquatina (5)	LE	6
Le Cesine (6)	LE	6
Isola di S. Andrea (7)	LE	6
Area marina costiera salentina (8)	LE-BR-TA	35

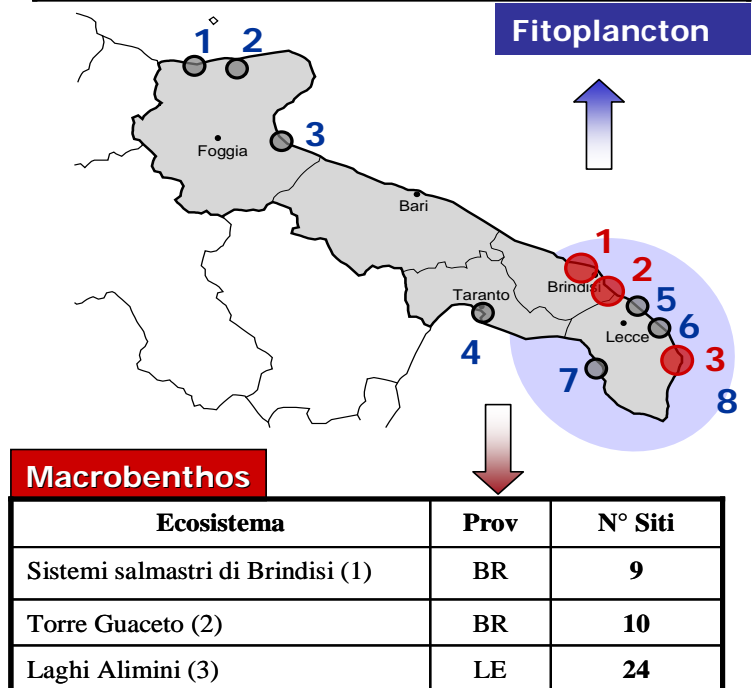


Fig. 4 Localizzazione geografica dei siti di campionamento delle guild fitoplanctoniche e di macroinvertebrati bentonici.

analisi gravimetriche effettuate tramite essiccazione in stufa a 60°C per 72h e combustione in muffola a 450°C per 24h, con determinazioni analitiche di massa effettuate su bilancia micro-analitica con accuratezza  $\pm 1\mu\text{g}$ .

#### Definizione dei descrittori legati alla taglia individuale degli elementi biologici di qualità.

La struttura in taglia di una corporazione biologica può essere convenientemente descritta in termini di distribuzioni in classi di taglia, al fine di evidenziarne in maniera sintetica le proprietà principali.

La distribuzione taglia-abbondanza di una corporazione biologica, sia essa fitoplanctonica o di macroinvertebrati bentonici, descrive la suddivisione degli individui in intervalli (classi) di dimensione corporea e mostra l'abbondanza relativa delle differenti classi.

Di seguito è descritta la procedura per la costruzione delle distribuzioni in classi di taglia a partire dalle misura di biomassa individuale degli individui di una corporazione biologica e per la derivazione di descrittori sintetici delle distribuzioni.

#### Costruzione delle distribuzioni in classi di taglia delle corporazioni biologiche

1. Definizione delle classi di taglia - Nella costruzione di una distribuzione in classi di taglia il primo passaggio consiste nella definizione delle classi di frequenza. Le misure di biomassa individuale di una corporazione biologica variano normalmente su diversi ordini di grandezza, conseguentemente una trasformazione logaritmica dei dati si rende necessaria al fine di ridurre l'intervallo di variazione dei dati e consentire una analisi statistica delle distribuzioni. Una trasformazione logaritmica delle misure di biomassa individuale è anche suggerita dalle evidenze sperimentali che mostrano come le relazioni che gli individui stabiliscono con le risorse siano in modo matematico funzione del logaritmo del loro peso corporeo (relazioni allometriche, Peters 1983).

La definizione del numero di classi all'interno delle quali raggruppare i logaritmi dei valori di biomassa individuale rappresenta un punto critico nella costruzione delle distribuzioni in taglia. Un numero troppo basso di classi, raggruppando eccessivamente i dati, determina una perdita di informazione, rendendo impossibile evidenziare qualunque caratteristica della distribuzione. Allo stesso tempo, un numero troppo elevato di classi disperde i valori e non rende manifesta la forma della distribuzione.

Il numero di classi di taglia ottimale dipende dal numero totale di osservazioni e dall'intervallo di variazione dei dati. Per stimare in modo oggettivo il numero di classi, sono disponibili vari metodi; tra essi ricordiamo quello di Scott che nel 1979 ha determinato l'ampiezza ottimale delle classi (dalla quale ovviamente dipende direttamente anche il numero di classi), mediante la relazione  $h = (3.5 \cdot s) / \sqrt{N}$  dove  $h$  è l'ampiezza ottimale delle classi di taglia,  $s$  è la deviazione standard delle misure del campione ed  $N$  il numero di osservazioni.

Una volta stabilito il numero ottimale di classi si può procedere alla determinazione dei valori estremi delle classi. L'individuazione del valore minimo e del valore massimo della serie di osservazioni, attraverso ad esempio la seriazione dei valori di biomassa individuale in ordine crescente o decrescente, consente di definire il campo o intervallo di variazione dei valori osservati. Nella formazione delle classi, il limite inferiore della prima classe ed il limite superiore dell'ultima classe non devono essere necessariamente i valori osservati, ma li devono ovviamente comprendere.

Tra le altre avvertenze importanti nella costruzione delle distribuzioni, è da ricordare che, poiché le misure di biomassa individuale sono una variabile continua, è necessario definire con precisione il valore minimo e quello massimo di ogni classe, onde evitare incertezze nell'attribuzione di un singolo dato tra due classi contigue. Inoltre, la classe iniziale e quella terminale non devono essere classi aperte (e.g.,  $<1$  quella iniziale e  $>12$  quella finale). Con classi estreme aperte, si perde l'informazione del loro valore minimo o massimo e quindi del

valore centrale di quella classe; la conseguenza è la perdita di un dato indispensabile, per calcolare i parametri descrittivi della distribuzione (cfr. paragrafo successivo).

2. – Costruzione delle distribuzioni in classi taglia - Una volta stabilite le classi di taglia si può procedere in maniera molto semplice alla costruzione della distribuzione taglia-abbondanza della corporazione biologica esaminata attraverso il conteggio del numero di osservazioni (organismi) che ricadono all'interno dell'intervallo di taglia definito da ciascuna classe. In particolare per ciascuna classe di taglia si può determinare:

- la *frequenza assoluta* della classe, cioè il numero di volte con la quale compare;
- la *frequenza relativa* della classe cioè la sua frequenza assoluta divisa per il numero totale;
- la *frequenza cumulata* di una classe (che può essere stimata con quelle assolute e/o con quelle relative) è la somma di tutte le frequenze delle classi minori con quella della classe stessa.

La trasformazione da frequenza assoluta a frequenza relativa risulta utile quando si vogliono confrontare due o più distribuzioni, che hanno un differente numero complessivo di osservazioni. La frequenza cumulata offre informazioni importanti quando si intende stimare il numero totale di osservazioni inferiore (o superiore) ad un valore prefissato.

La distribuzione taglia-abbondanza fornisce una lettura sintetica delle caratteristiche più importanti della serie di osservazioni relative alla struttura in taglia della corporazione biologica studiata. Al fine di evidenziare in maniera semplice e immediata tali proprietà si può ricorrere alla rappresentazione grafica sotto forma di istogramma. Negli istogrammi delle distribuzioni taglia-abbondanza lungo l'asse orizzontale sono riportate le classi di taglia mentre l'asse verticale rappresenta il numero assoluto, oppure la frequenza, con cui compaiono i valori di ogni classe.

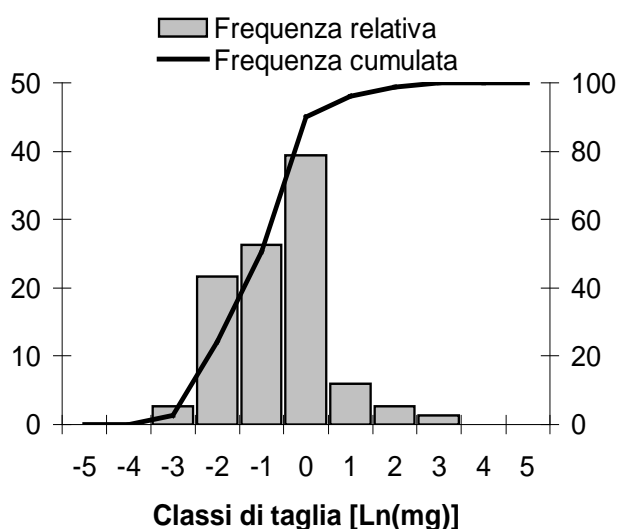


Fig. 5 Rappresentazione grafica della distribuzione in classi di taglia di una corporazione di macroinvertebrati bentonici.

In figura 5 è riportato un esempio di distribuzione in classi di taglia relativa e cumulata di una corporazione di macroinvertebrati bentonici.

#### Descrizione quantitativa delle distribuzioni in classi di taglia delle corporazioni biologiche

L'analisi quantitativa delle distribuzioni taglia-abbondanza può essere condotta attraverso la determinazione di alcune statistiche che descrivono in maniera sintetica le proprietà fondamentali dei dati sperimentali raccolti. Tipicamente queste misure descrittive sintetiche sono legate a tre proprietà principali delle distribuzioni:

- 1) tendenza centrale;
- 2) dispersione;
- 3) forma.

1) Le misure di tendenza centrale servono per individuare il valore intorno al quale i dati sono raggruppati. Esistono diverse statistiche che possono fornire questo tipo di informazione e la scelta dipende fondamentalmente dalle caratteristiche della distribuzione. Sono misure di tendenza centrale: media, moda e mediana. Relativamente alle distribuzioni taglia abbondanza

si propone la **mediana** (Fig. 6) come misura sintetica di tendenza centrale. La mediana è una misura di tendenza centrale molto robusta, in quanto poco influenzata dalla presenza di dati anomali, inoltre non richiede la condizione di normalità della distribuzione, essendo una statistica non parametrica e funziona bene anche per distribuzioni multimodali.

La mediana di una distribuzione taglia-abbondanza è quel valore di taglia corporea che si trova a metà della distribuzione, cioè tale che 50 per cento degli organismi abbia un valore di taglia uguale o inferiore a questo e il restante 50 per cento un valore superiore.

Per calcolare la mediana di un gruppo di dati, occorre:

a - disporre i valori in una fila ordinata in modo crescente oppure decrescente e contare il numero totale  $n$  di dati;

b - se il numero ( $n$ ) di dati è dispari, la mediana corrisponde al valore numerico del dato centrale, quello che occupa la posizione  $(n+1)/2$ ;

c - se il numero ( $n$ ) di dati è pari, la mediana è stimata utilizzando i due valori centrali che occupano le posizioni  $n/2$  e  $n/2+1$ ; con poche osservazioni, come mediana viene assunta la media aritmetica di queste due osservazioni intermedie; con molte osservazioni raggruppate in classi, si ricorre talvolta alle proporzioni.

2) Le misure di dispersione consentono di quantificare l'ampiezza di una distribuzione taglia-abbondanza, ovvero di definire quanto la distribuzione sia più o meno raccolta intorno al valore centrale. La più semplice ed intuitiva misura di dispersione è il campo di variabilità dei dati sperimentali, ovvero la differenza tra il valore minimo e quello massimo assunti dalle misure di taglia corporea degli individui. L'intervallo di variazione è però una misura poco efficiente della dispersione dei dati, poiché dipende dalla quantità dei dati osservati e può essere influenzata da occasionali valori eccezionali che non danno l'idea dell'effettiva dispersione dei dati sperimentali intorno al loro centro. In questo contesto la **differenza interquartile o range di quartile** (i quartili ripartiscono la distribuzione in 4 parti di pari frequenze) ha il vantaggio di eliminare i valori estremi collocati nelle code della distribuzione. Come misura di dispersione delle distribuzioni taglia-abbondanza si propone la differenza tra il 1°quartile e il 3°quartile (Fig. 7). Il primo quartile è il valore (o l'insieme di valori) di una distribuzione per cui il 25% delle osservazioni è minore uguale ad esso. Il terzo quartile è il valore (o l'insieme di valori) di una distribuzione per cui il 75% delle osservazioni è minore di esso. La differenza tra il 1° e il 3° quartile di una distribuzione taglia-abbondanza rappresenta

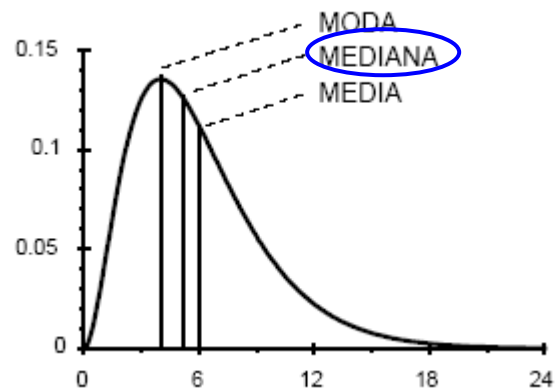


Fig. 6 Rappresentazione schematica delle misure di tendenza centrale di una distribuzione.

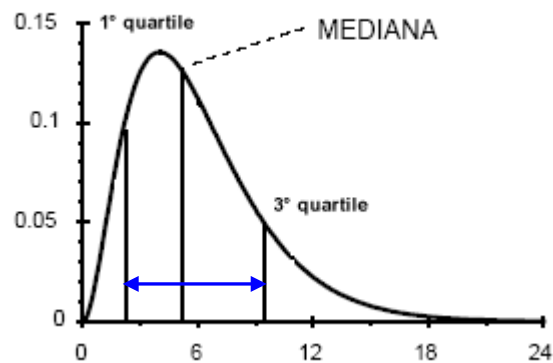


Fig. 7 Rappresentazione schematica della differenza interquartile tra il 1° e il 3° quartile come misura di dispersione di una distribuzione.

l'ampiezza dell'intervallo intorno alla taglia mediana che include il 50% delle osservazioni di biomassa corporea individuale.

Gli indici di forma consentono di quantificare due caratteristiche di forma della distribuzione taglia-abbondanza: la asimmetria e la curtosi.

Una distribuzione è simmetrica, se i valori che sono equidistanti dalla mediana hanno la stessa frequenza. Se la condizione non è verificata allora la distribuzione è:

- asimmetrica a destra quando i valori che si allontanano maggiormente dalla media sono quelli più elevati, collocate a destra dei valori centrali (Fig.8 a);

- asimmetria a sinistra quando i valori che si allontanano maggiormente dalla media sono quelli minori (Fig. 8 b). Esistono diversi indici per calcolare l'asimmetria o **skewness** (skew in inglese significa infatti sbilenco) di una distribuzione, tutti godono della stessa proprietà:

- 1) sono nulli (skewness = 0) quando la distribuzione è simmetrica;
- 2) sono positivi (skewness > 0) quando la distribuzione è asimmetrica destra;
- 3) sono negativi (skewness < 0) quando la distribuzione è asimmetrica sinistra.

Uno degli indici più comunemente utilizzati calcola la skewness di una distribuzione dal cubo degli scarti dalla media diviso il cubo della deviazione standard (Coefficiente di Skewness di Fisher):

$$skewness = \frac{1}{\sigma^3} \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^3}{N}$$

dove  $x_i$  sono i valori di taglia osservati,  $\bar{x}$  è il valore di taglia medio, N il numero di osservazioni e  $\sigma$  è la deviazione standard.

Essendo un rapporto tra misure statistiche della stessa distribuzione la misura è adimensionale, indipendente dal valore assoluto degli scarti dalla media; quindi può essere utilizzato per il confronto tra due o più distribuzioni.

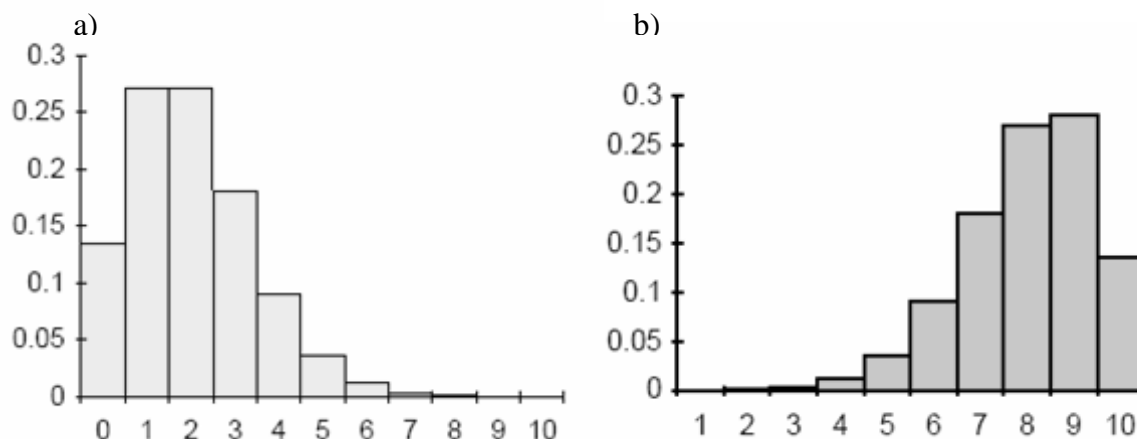


Fig. 8 Esempi di distribuzione asimmetrica destra (a) e asimmetrica sinistra (b) rispetto a una distribuzione normale.

Una seconda misura di forma è la **curtosi** (dal greco kurtos, che significa curvo o convesso), essa descrive il grado di appiattimento, rispetto alla curva normale o gaussiana.

Un indice comunemente utilizzato per calcolare la curtosi è l'indice di curtosi di Fisher corretto per spostare la variazione intorno allo 0:

$$curtosi = \frac{1}{\sigma^4} \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^4}{N} - 3$$

dove  $x_i$  sono i valori di taglia osservati,  $\bar{x}$  è il valore di taglia medio,  $N$  il numero di osservazioni e  $\sigma$  è la deviazione standard.

Una distribuzione è:

- mesocurtica (curtosi = 0), quando ha forma uguale alla distribuzione normale;
- leptocurtica (curtosi > 0; fig. 9 a), quando ha un eccesso di frequenza delle classi centrali, una frequenza minore delle classi intermedie ed una presenza maggiore delle classi estreme; è quindi una distribuzione più alta al centro e agli estremi e più bassa ai fianchi;
- platicurtica (curtosi < 0; fig. 9 b), quando rispetto alla normale presenta una frequenza minore delle classi centrali e di quelle estreme, con una frequenza maggiore di quelle intermedie; è quindi una distribuzione più bassa al centro e agli estremi mentre è più alta ai fianchi; la caratteristica più evidente è il numero più ridotto di valori centrali.

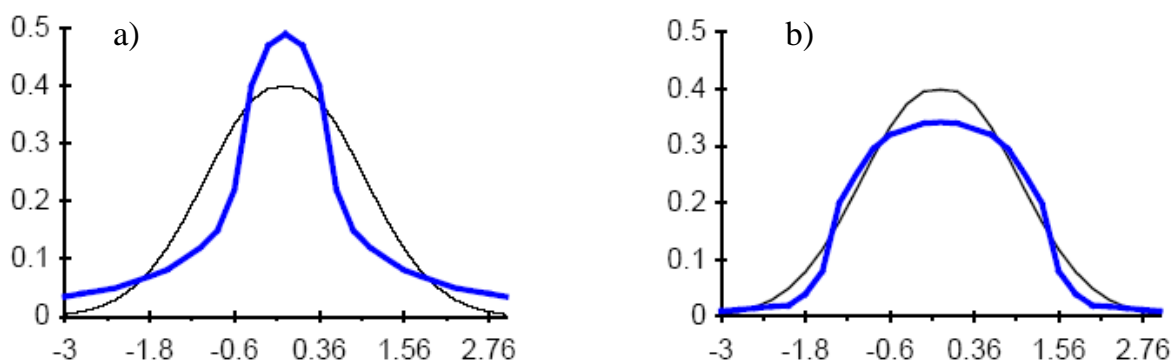


Fig. 9 Esempi di distribuzione leptocurtica (a) e platicurtica (b) rispetto a una distribuzione normale.

Misure di tendenza centrale, di dispersione e di forma rappresentano metriche descrittive delle proprietà delle distribuzioni in classi di taglia e possono, pertanto essere utilizzate come descrittori sintetici della struttura in taglia degli elementi biologici di qualità. In questa ricerca come misura di tendenza centrale è stata utilizzata la mediana, come misura di dispersione sono state utilizzati il range di quartile e i percentili e come misure di forma sono stati utilizzati skewness e curtosi.

#### Obiettivi dell'analisi statistica effettuata sui set di dati

Caratteristiche di popolazioni, comunità o ecosistemi possono rappresentare i descrittori degli elementi biologici di qualità e possono misurare lo stato ecologico di un ecosistema e le sue variazioni se:

1. sono caratteristiche ecologiche chiave degli elementi di qualità legate a pressioni selettive interne e forzanti ambientali esterne;
2. hanno una bassa variabilità interna e rispondono in modo coerente a pressioni selettive interne e forzanti ambientali esterne.

La validazione statistica, sui data-set relativi alle corporazioni fitoplanctoniche e di macroinvertebrati bentonici, di caratteristiche sintetiche delle strutture in taglia come descrittori quantitativi dello stato ecologico degli ecosistemi acquatici di transizione è stata condotta perseguendo i seguenti obiettivi:

- a) valutare la rilevanza delle distribuzioni taglia-abbondanza come proprietà strutturali delle comunità negli ecosistemi acquatici di transizione,
- b) valutare la variazione delle distribuzioni taglia-abbondanza con le forzanti ambientali;
- c) valutare l'efficacia dei parametri sintetici delle distribuzioni taglia-abbondanza a descrivere le variazioni delle forzanti ambientali.

Considerati i principali obiettivi della ricerca, un set di strumenti matematici è stato selezionato e applicato per operare la validazione statistica delle osservazioni. La tabella 3 mostra il razionale dell'analisi condotta sui set di dati.

Tabella 3 Razionale dell'analisi condotta sul set di dati e gli strumenti matematici utilizzati

Obiettivi	Ipotesi	Strumenti matematici	Tipo di risposta
Valutare la rilevanza delle distribuzioni taglia-abbondanza come proprietà strutturale delle comunità fitoplanctoniche e macrobentoniche degli ecosistemi acquatici di transizione	Le distribuzioni taglia-abbondanza non riflettono semplicemente la composizione tassonomica	Indice di Similarità proporzionale (Renkonen, 1938) Sovrapposizione di nicchia spaziale (Pianka, 1973)	Quantificazione della variazione spaziale e temporale della composizione tassonomica e della struttura in taglia delle comunità fitoplanctoniche e macrobentoniche.
	Le distribuzioni taglia-abbondanza mostrano pattern comuni	Valutazione comparative intra e inter-habitat dei descrittori sintetici delle distribuzioni	Regolarità della forma delle distribuzioni taglia-abbondanza
Valutare la variazione delle distribuzioni taglia-abbondanza con le forzanti ambientali	Le distribuzioni taglia-abbondanza sono influenzate dalle forzanti ambientali.	Analisi delle corrispondenze canoniche (CCA, Ter Braak, 1986)	Contributo di variabili ambientali note a spiegare la variazione delle distribuzioni taglia-abbondanza osservate.
Valutare l'efficacia dei parametri sintetici delle distribuzioni taglia-abbondanza a descrivere le variazioni delle forzanti ambientali	I descrittori delle distribuzioni variano coerentemente lungo gradienti di forzanti ambientali	Regressione uni- e multi variata tra i descrittori delle distribuzioni e le variabili ambientali.	Covarianza dei descrittori legati alla taglia individuale

L'analisi della similarità tra corporazioni in termini di composizione tassonomica e in classi di taglia è stata effettuata utilizzando l'indice di Similarità proporzionale (Renkonen, 1938). La sovrapposizione spaziale tra i taxa più rappresentati e tra le classi di taglia più rappresentate è stata quantificata attraverso l'indice simmetrico di sovrapposizione di Pianka (Pianka, 1973). L'analisi delle corrispondenze canoniche (CCA, Ter Braak, 1986) è stata utilizzata per quantificare il contributo delle forzanti ambientali a spiegare la variazione nelle distribuzioni in classi di taglia delle corporazioni biotiche in esame. Infine, regressioni uni- e multi-variate sono state utilizzate per valutare il grado e la direzione della variazione dei descrittori legati alla taglia lungo i gradienti di pressione ambientale e la loro covarianza con i descrittori biotici previsti dalla direttiva e già utilizzati nei programmi di monitoraggio.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### *Fase I*

#### Distribuzione geografica degli ecosistemi di transizione italiani

Limitatamente agli ecosistemi di acque lentiche, allo stato attuale dell'indagine, sono stati censiti 171 ecosistemi acquatici identificati come ambienti di transizione, secondo le definizioni riportate dal D.L. 152/99 e dalla WFD (2000/60/EC), distribuiti lungo la fascia costiera del territorio italiano per una superficie complessiva di 1619 km<sup>2</sup>. Per ciascun ecosistema è stata predisposta una scheda informativa con indicazione esplicita dello stato attuale di popolamento del data-base in riferimento sia agli elementi biologici di qualità sia alle caratteristiche fisiografiche, idromorfologiche e fisico-chimiche. Una scheda modello, riferita ai Laghi Alimini in Puglia è riportata in Appendice (Appendice 1).

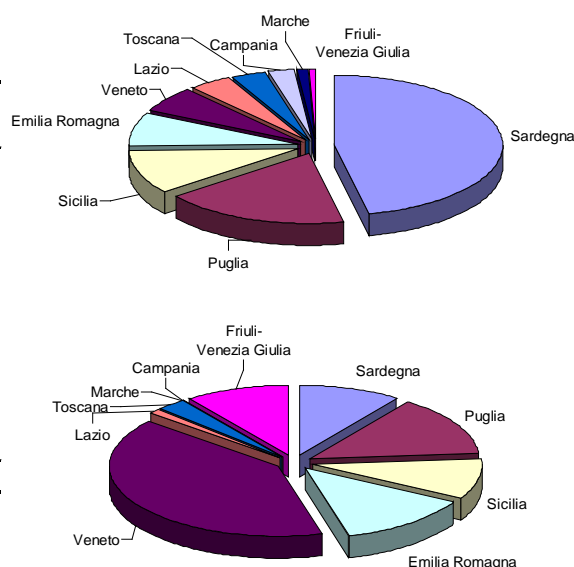
Gli ecosistemi di transizione di tipo lentico si distribuiscono sul territorio di pertinenza di 10 regioni (Tabella 4) concentrandosi in termini di numero nella parte meridionale del territorio nazionale (il 75% dei corpi d'acqua censiti è distribuito lungo le coste di Sardegna, Sicilia e Puglia) e in termini di superficie prevalentemente nelle regioni settentrionali, dove sono collocati i sistemi lagunari italiani più importanti. Infatti, il 40% della superficie totale delle

acque di transizione italiane si trova nel territorio della regione Veneto; inoltre l'unica laguna di pertinenza della regione Friuli Venezia Giulia, la Laguna di Grado e Marano, rappresenta da sola circa il 10% della superficie complessiva.

La Sardegna è la regione italiana con il maggior numero di ecosistemi acquatici lenticidi di transizione. Nel 1957 la SVIMEZ ne censì 114 per una superficie complessiva di 131.97 km<sup>2</sup>; in seguito alle rapide modifiche di questi ambienti, soggetti a costante evoluzione, lo "Studio

Tabella 4 Distribuzione geografica degli ecosistemi di transizione lenticidi censiti in termini di numero e di superficie (km<sup>2</sup>). I grafici riportano la distribuzione percentuale fra le regioni del numero (a) e della superficie complessiva (b) degli stessi.

Regione	Ecosistemi di transizione	
	N°	Sup. (Km <sup>2</sup> )
Sardegna	80	158.44
Puglia	30	226.02
Sicilia	18	150.50
Emilia Romagna	13	208.40
Veneto	10	651.70
Lazio	7	15.75
Toscana	6	44.91
Campania	4	3.53
Marche	2	0.01
Friuli-Venezia Giulia	1	160.00
<b>Totale complessivo</b>	<b>171</b>	<b>1619.26</b>



del Consiglio Regionale della Sardegna" nel 1981 ne riportava 100 per circa 100 km<sup>2</sup>, Rossi e Cannas (1992) 67 per un totale di 117.31 km<sup>2</sup> e nel più recente censimento Cannas, Cataudella e Rossi (1998) ne riportano 59 per una superficie di 143.70 km<sup>2</sup>. Le differenze di numero possono essere legate a diversi criteri di classificazione (stagni piccoli, temporanei o aree estuarine possono o meno essere considerati nei censimenti) o ad attività antropiche di bonifica, che nel tempo hanno ridotto o fatto scomparire alcuni di questi ambienti. Le differenze di superficie, rilevate talvolta anche per uno stesso stagno, possono essere il risultato di misure effettuate in periodi diversi e di conseguenza con diversi livelli di invaso.

In questo studio sono stati censiti 80 ecosistemi lenticidi di transizione sardi per una superficie complessiva di 158.44 km<sup>2</sup>. I più estesi sono le Saline di Macchiareddu in provincia di Cagliari (23.00 km<sup>2</sup>), lo Stagno di Cabras in provincia di Oristano (22.28 km<sup>2</sup>), lo Stagno di S. Gilla (15.00 km<sup>2</sup>) e lo Stagno Molentargius (13.00 km<sup>2</sup>) entrambi nella provincia di Cagliari. In termini di superficie, il Veneto è la regione con la maggiore percentuale di ambienti di transizione dell'intera penisola. È localizzata in questa regione la Laguna di Venezia, la più grande in Italia con i suoi circa 500 km<sup>2</sup> di superficie; date le considerevoli dimensioni della laguna le stime della sua superficie possono variare fino ad un valore massimo di 549 km<sup>2</sup> (Lasserre e Marzollo, 1999). Tra le lagune del Delta del Po veneto la Sacca di Scardovari (38 km<sup>2</sup>) è quella con la superficie maggiore.



## Descrittori abiotici degli ecosistemi di transizione italiani

### La superficie

Le lagune italiane sono in media piccole. La superficie degli ecosistemi lentici di transizione italiani varia da pochi ettari [e.g. Stagno di Piscinnì e Stagno di Murtas (CA) di 0.03 e 0.04 km<sup>2</sup>] ad alcune centinaia di chilometri quadrati [e.g. Laguna di Venezia (VE) di circa 500 km<sup>2</sup>]. Tuttavia, la distribuzione in classi logaritmiche in figura 10 mostra che la maggior parte di questi ambienti rientra in un intervallo di classi di superficie ristretto e spostato verso le classi più piccole (indice di skewness = 0.23) rispetto al *range* totale. Il 78% degli ambienti acquatici ha una superficie compresa tra 0.1 e 10 km<sup>2</sup>, l'11% ha superficie superiore e fra questi solo tre superano i 100 km<sup>2</sup> (e.g. Laguna di Venezia (VE) di 500 km<sup>2</sup>, Laguna di Grado e Marano (GO) di 160 km<sup>2</sup>, Valli di Comacchio (FE) di 115 km<sup>2</sup>), la restante percentuale di ecosistemi con superficie inferiore ai 10 ettari (5%) potrebbe essere una sottostima a causa delle difficoltà connesse al censimento completo di ambienti di così piccole dimensioni.

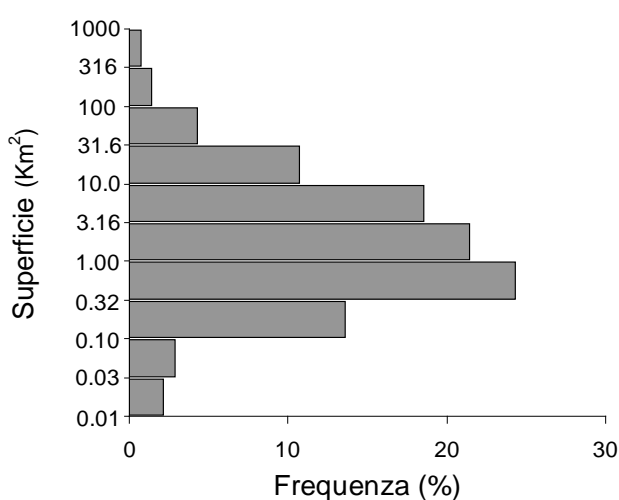


Fig. 10 Distribuzione in classi logaritmiche di superficie degli ecosistemi di transizione italiani.

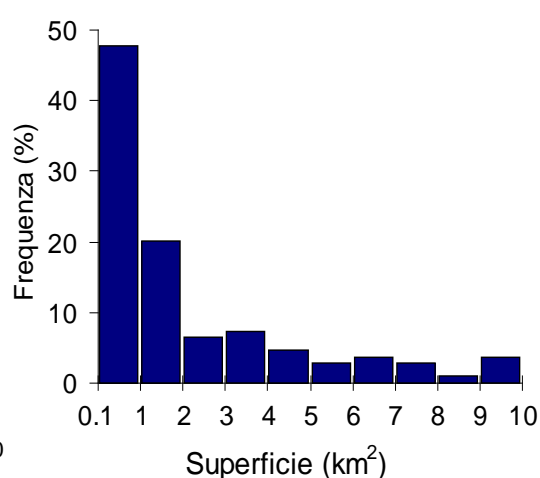


Fig. 11 Distribuzione in classi di superficie degli ecosistemi di transizione italiani con superficie compresa tra 0.1 e 10 km<sup>2</sup>.

Analizzando la distribuzioni in classi lineari da un chilometro quadrato degli ambienti di transizione con una superficie compresa tra 0.1 e 10 km<sup>2</sup>, si individua una soglia collocata a 2 km<sup>2</sup> che separa le due classi di superficie inferiore, che rappresentano da sole il 67% della superficie di questi ecosistemi, dalle classi di superficie superiore che risultano molto meno rappresentate (Figura 11). Gli ecosistemi di transizione distribuiti sul territorio nazionale sono, quindi, piccoli in termini di superficie; i primi 11 ambienti acquatici in termini superficie rappresentano il 70% della superficie totale (Figura 12).

### La profondità

I valori di profondità media delle acque di transizione italiane, variano da un

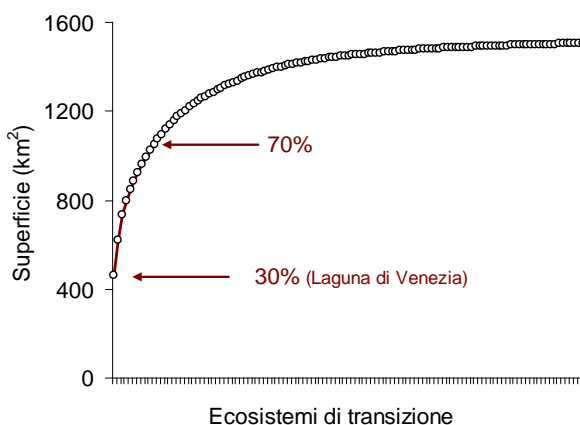


Fig. 12 Distribuzione cumulativa della superficie degli ecosistemi acquatici di transizione italiani.

minimo di poche decine di centimetri [e.g. Stagno di Notteri (CA), 0.3 m; Saline di Tarquinia (VT), 0.3 m] ad alcuni metri [e.g. Lago di Fondi (LT), 9 m; Lago di Faro (VT), 9 m]. Allo stato attuale di avanzamento relativamente ai dati di profondità il data-base non è completo, l'analisi riportata di seguito fa riferimento a 103 ecosistemi, per la profondità media, e 80 ecosistemi, per la profondità massima, dei 156 censiti su tutto il territorio.

Gli ecosistemi di transizione italiani sono corpi d'acqua poco profondi, il 67% di essi ha una profondità media inferiore a 1 metro; meno del 10% di questi ecosistemi ha una profondità media superiore a 2 metri, e solo 3 ecosistemi hanno una profondità media superiore a 4 m [Lago di Fondi (LT), Lago di Faro (ME) e il Mar Piccolo (TA)] (Figura 14). Relativamente ai valori massimi di profondità, l'86% degli ecosistemi di transizione italiani, per cui questo dato è disponibile, è caratterizzato da valori inferiori a 4 m e solo sei di essi hanno batimetrie elevate che superano i 9 m di profondità (Figura 14).

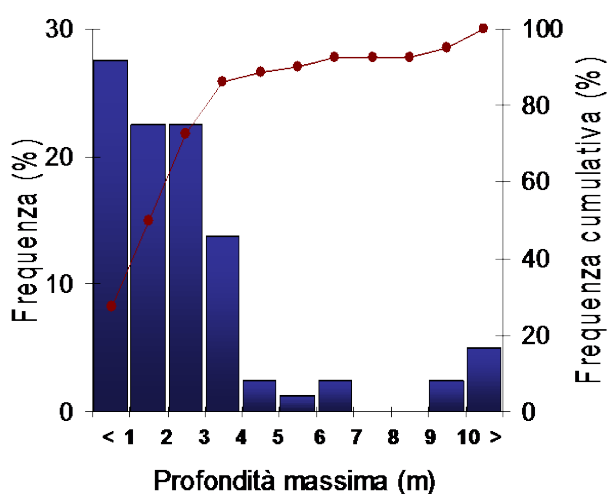


Fig. 14 Distribuzione in classi di profondità massima degli ecosistemi di transizione italiani.

La presenza di fosse profonde ha contribuito alla formazione, al di sotto dei 4 m di profondità, di masse d'acqua confinate con scarsissimo ricambio nelle quali si instaurano fenomeni di anossia più o meno stabili. Si ritiene che il Lago Fusaro abbia un'origine vulcanica per erosione marina di un'antica caldera, poi sbarrata dalla duna litorale. Un'attività pluriennale di estrazione di sabbia sul lato occidentale della laguna ha comportato un approfondimento del bacino fino a punte di 12 m.

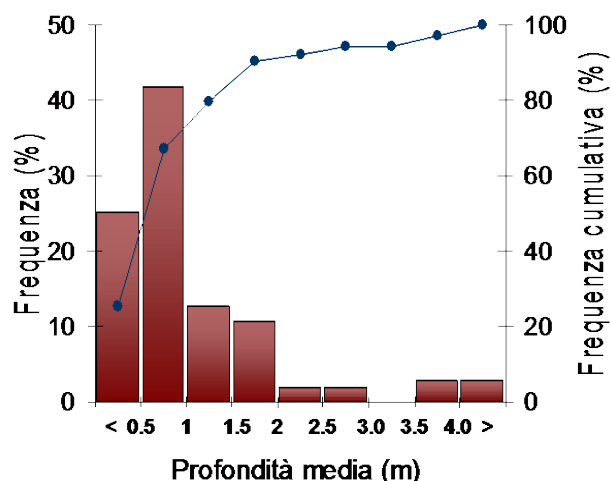


Fig. 13 Distribuzione in classi di profondità media degli ecosistemi di transizione italiani.

La presenza di fosse profonde ha contribuito alla formazione, al di sotto dei 4 m di profondità, di masse d'acqua confinate con scarsissimo ricambio nelle quali si instaurano fenomeni di anossia più o meno stabili.

Si ritiene che il Lago Fusaro abbia un'origine vulcanica per erosione marina di un'antica caldera, poi sbarrata dalla duna litorale. Un'attività pluriennale di estrazione di sabbia sul lato occidentale della laguna ha comportato un approfondimento del bacino fino a punte di 12 m. L'origine e l'evoluzione del bacino è alla base del profilo batimetrico dei corpi d'acqua. Riportiamo alcuni esempi, il Lago di Fondi (LT) è situato all'interno della piana di Fondi ai piedi di Monte Giusto e Monte Calvo, il suo ripido profilo batimetrico, che raggiunge nei punti di massima profondità valori di 22 m, concorre a determinare le caratteristiche salienti di questo sistema, un aloclino permanente e condizioni di anossia al di sotto dei 4 metri di profondità. Il Lago di Sabaudia (LT) si è formato in seguito a sbarramenti di valli fluviali, rappresentate attualmente da insenature profonde del perimetro lacustre, alla confluenza delle quali il bacino raggiunge profondità di 10 m. La

### La salinità

La salinità è un descrittore comunemente utilizzato per la classificazione degli ecosistemi acquatici di transizione. Allo stato attuale di avanzamento il database relativamente ai dati di salinità non è completo, l'analisi riportata di seguito fa riferimento a 93 dei 156 censiti su tutto il territorio. La salinità media annua degli ecosistemi di transizione italiani varia fra valori dulciacquicoli [ $<15\text{‰}$ ; e.g. Area umida di Rauccio (LE), Lago di Burano (GR), Stagno di S. Giusta (CA), Lago di Patria (NA)] e condizioni astatiche [ $>40\text{‰}$ ; e.g. Saline di Tarquinia (VT), Stagnone di Marsala (TP), Saline di Macchiareddu, Saline di Margherita di Savoia (FG)]. La distribuzione degli ambienti di transizione in classi di salinità è spostata verso le classi maggiori (indice di skewness = -0.61), il 60% degli ecosistemi ha una salinità media annua superiore a  $30\text{‰}$  (Figura 15)

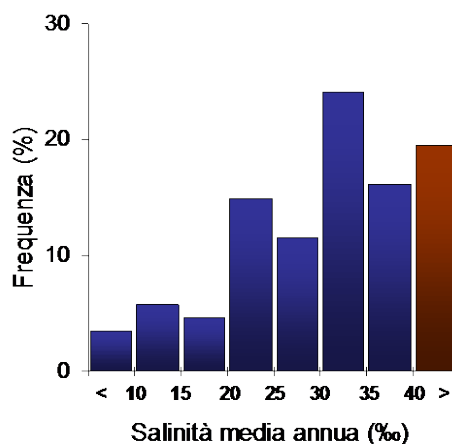


Figura 15 Distribuzione in classi di salinità degli ecosistemi di transizione

### *Descrittori biotici degli ecosistemi di transizione italiani: il macrobenthos*

#### Composizione tassonomica, ricchezza in specie e diversità

Tutte le analisi riportate nel presente paragrafo fanno quindi riferimento al data-set biologico relativo al subset di 26 ecosistemi (Fig. 3). Analisi comparative condotte utilizzando criteri rispettivamente meno o più selettivi di quelli che hanno portato a selezionare i 26 ecosistemi in oggetto hanno manifestato una robustezza dei risultati ottenuti (Sabetta *et al.*, 2005). Complessivamente per i 26 ecosistemi sono stati identificati sulla letteratura disponibile 1084 taxa di invertebrati bentonici, appartenenti a 351 famiglie, 106 ordini e 13 phyla. L'87% dei taxa presenti nel campione di 26 lagune italiane è stato riconosciuto a livello di specie. A livello tassonomico, i phyla dominanti sono costituiti da Molluschi, Anellidi ed Artropodi, che insieme raggruppano circa il 77% di tutti i taxa identificati nel campione di 26 lagune (Fig. 16).

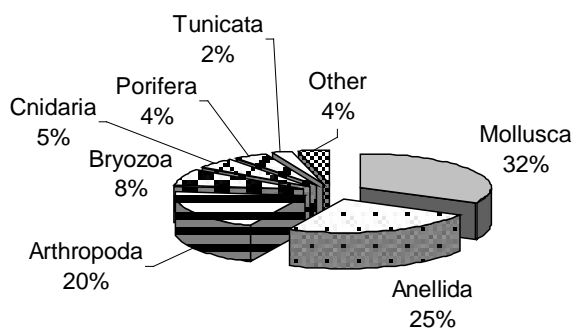


Fig. 16 Composizione tassonomica del macrobenthos nel campione di 26 lagune.

I taxa del macrobenthos hanno evidenziato a tutti i livelli di risoluzione tassonomica una estrema eterogeneità nella distribuzione spaziale. Al livello tassonomico più basso il 50% dei taxa è stato registrato in meno di 2 lagune, il 75% in meno di 5 ed il 95% in meno di 8 lagune. Solo 31 taxa sono stati registrati in almeno 10 lagune e di questi l'80% è stato riconosciuto a livello di specie ed il 16% a livello di genere. L'eterogeneità è evidente anche raggruppando le specie a livello di ordine: il 50% degli ordini è stato registrato in meno di 6 lagune ed il 75% in meno di 14 lagune. In parte, l'eterogeneità nella distribuzione tassonomica dipende da differenze nella ricchezza in specie tra lagune. La ricchezza tassonomica è risultata variare tra 18 e 356 taxa per laguna e, analogamente, i valori di diversità tassonomica e filogenetica

misurati con gli indici di Warwick & Clarke (2001)  $\Delta^+$   $\lambda^+$  mostrano una eterogeneità tra ecosistemi, seppur ridotta rispetto a quella evidenziata dalla ricchezza tassonomica.

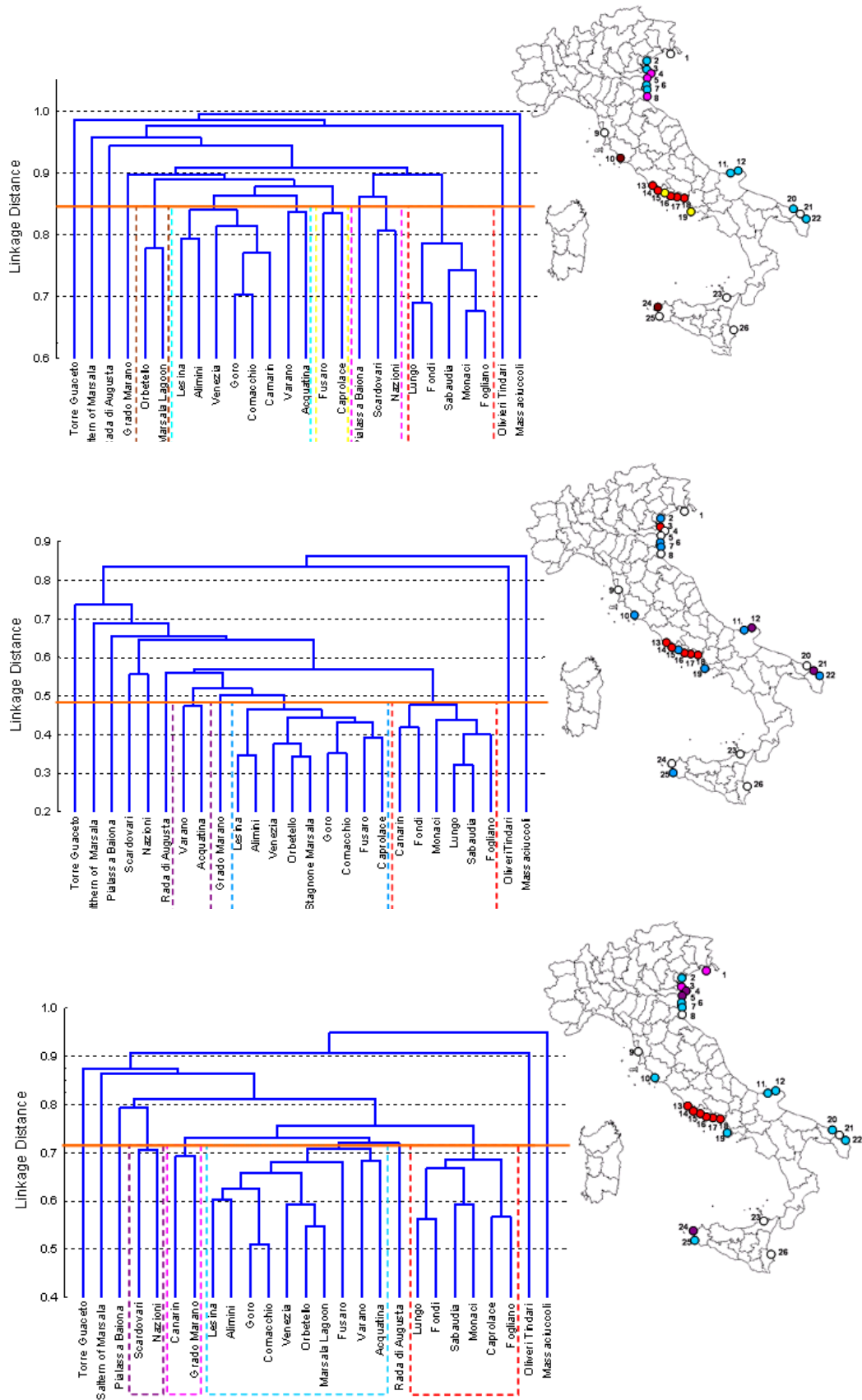


Fig. 17 Analisi della similarità nella composizione tassonomica del macrobenthos nel campione di 26 lagune. I codici identificativi degli ecosistemi di transizione sono riportati in figura 3.

La eterogeneità nel pattern di distribuzione del macrobenthos delle lagune italiane è ben

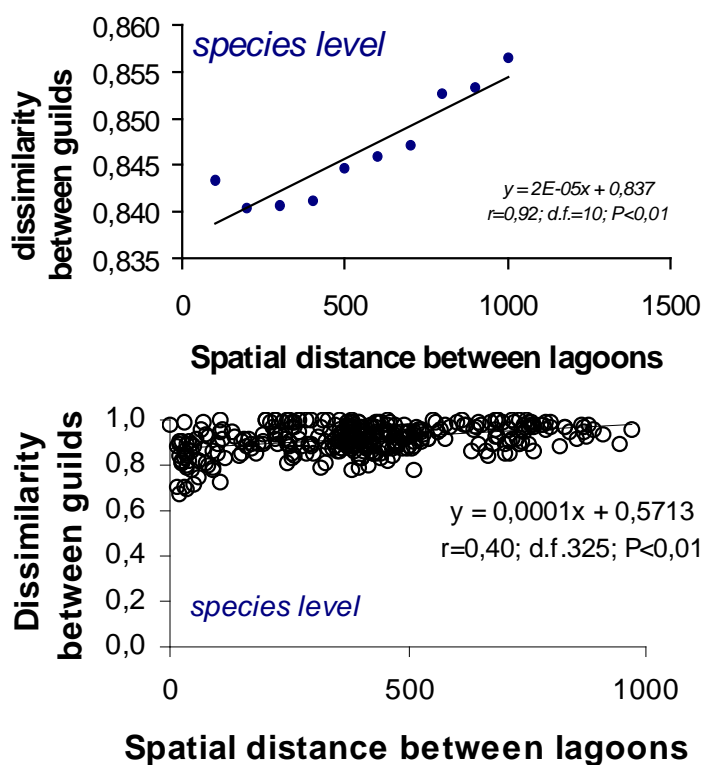


Fig. 18 Analisi della autocorrelazione spaziale nella composizione tassonomica del macrobenthos

rappresentata dai modelli di variazione della similarità tassonomica, consistenti a qualsiasi livello di approfondimento tassonomico. La similarità tra corporazioni di macroinvertebrati bentonici è estremamente bassa a livello di specie (P.S. =  $8.5\% \pm 6.5$ ) e non raggiunge il 40% a livello di ordine (P.S. =  $37.9\% \pm 14.0$ ). Pur tuttavia, si evidenziano pattern statistici di variazione spaziale con un chiaro raggruppamento di lagune tirrenico-laziali, che comprende i laghi costieri di Fondi, Lungo, Sabaudia, Monaci e Fogliano, ed un più ampio raggruppamento di lagune adriatiche che si mantengono sostanzialmente anche a livelli di risoluzione tassonomica più elevati (Fig. 17). L'esistenza di un modello generale di maggiore similarità tra lagune spazialmente vicine lungo

la linea di costa viene evidenziata da autocorrelazioni spaziali significative tra i valori di similarità nella composizione tassonomica del macrobenthos tra coppie di lagune a qualsiasi livello di risoluzione tassonomica (Fig. 18). Nel successivo paragrafo vengono riportati i risultati di una meta-analisi dei dati finalizzata alla valutazione

#### Modelli di variazione dei descrittori tassonomici del macrobenthos

La componente deterministica della estrema variabilità osservata nel macrobenthos degli ecosistemi italiani di transizione è stata sottoposta ad analisi sperimentale. Attraverso l'uso di analisi statistiche multivariate ed univariate, descritte in un precedente paragrafo, sono state valutate le fonti principali di variazione di composizione tassonomica, ricchezza tassonomica e diversità, calcolata su dati di presenza assenza come distinzione o correlazione filogenetica (Warwick and Clarke, 2001). Complessivamente, il 43.3% della variazione nella matrice di specie (1084 righe x 26 colonne) viene spiegata dalle variabili ambientali, fisiografiche, idrografiche e fisiche, considerate (CCA, CANOCO). Raggruppando i fattori ambientali in relazione alla loro influenza su dimensioni (e.g., superficie, perimetro), eterogeneità (e.g., frattale di costa, range di salinità) e sensibilità (e.g. ricambio idrico, volume) degli ecosistemi salmastri, il 17% della varianza del macrobenthos è risultata spiegata da fattori che influenzano la sensibilità degli ecosistemi ed il 14.5% da fattori che descrivono le dimensioni. L'eterogeneità complessiva della componente di invertebrati macrobentonici è determinata da due componenti: i.e., composizione tassonomica e ricchezza in specie. La variazione deterministica di entrambe è stata analizzata in rapporto alle variabili fisiografiche, idrografiche e fisiche considerate. La variabilità nella composizione tassonomica è stata valutata attraverso la famiglia di indici di affinità filogenetica e biodiversità di Warwick e

Clarke (2001).

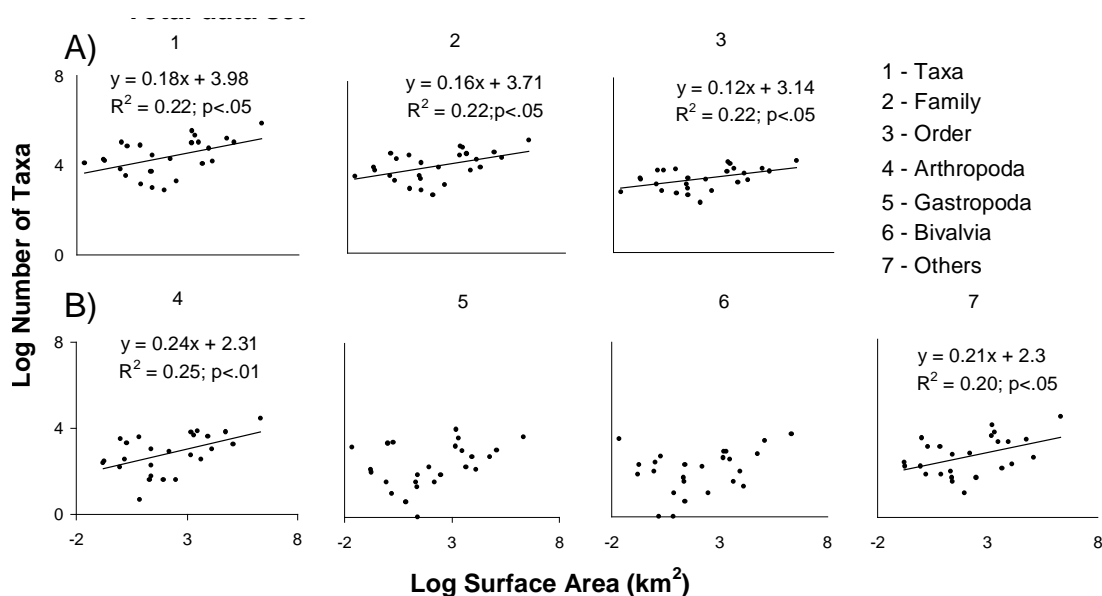


Fig. 19 Relazioni specie area a diverso livello di approfondimento tassonomico

I differenti indici proposti da Warwick e Clarke non hanno mostrato modelli consistenti di variazione con le forzanti ambientali; solo  $\Sigma\Delta^+$  ha evidenziato modelli altamente significativi con ampiezza dell'outlet, salinità ed asse minore, arrivando a spiegare il 67% della varianza totale. La ricchezza in specie ha evidenziato modelli deterministici di variazione molto più consistenti con le variabili ambientali. Area superficiale e larghezza dell'outlet spiegano ciascuna circa il 40% della variazione totale della ricchezza in specie tra ecosistemi. In combinazione con misure di salinità ed asse minore arrivano a spiegare oltre il 70% della variazione (Stepwise regression,  $P < 0.001$ ). In accordo con la teoria delle isole, la ricchezza tassonomica cresce su scala bi-logaritmica con l'area superficiale con valori di pendenza analoghi per qualsiasi livello di approfondimento tassonomico e per qualsiasi raggruppamento più ristretto di specie (Artropodi, Gasteropodi, Bivalvi, Altri; fig. 19). Oltre alle relazioni specie-area, sono state osservate anche relazioni significative taglia-area, sia per l'intero set di dati sia limitatamente al gruppo degli Artropodi ed agli altri gruppi meno numerosi (Analisi della regressione,  $P < 0,05$ ).

#### Considerazioni sulla Tipologia degli ecosistemi di transizione italiani

In accordo alla terminologia della WFD, la *Tipologia* può essere definita come la discriminazione dei corpi d'acqua in "tipi di ecosistemi" per ridurre la variabilità biologica e consentire la *Classificazione*.

Concettualmente la suddivisione degli ecosistemi acquatici di transizione in *Tipi* di ecosistemi può essere considerata analoga alla identificazione della nicchia ecologica degli ecosistemi all'interno di uno spazio di nicchia multidimensionale. La nicchia degli ecosistemi di transizione permette la descrizione dei modelli spaziali di variazione degli elementi biologici di qualità così come la nicchia di popolazioni coesistenti permette la spiegazione dei modelli di utilizzazione delle risorse negli ecosistemi. La nicchia degli ecosistemi di transizione può essere descritta attraverso alcune caratteristiche fondamentali, fisiografiche, idrografiche e sedimentologiche, relativamente indipendenti da pressioni antropiche, assimilate a dimensioni di nicchia. La metodologia e gli strumenti statistici della teoria della nicchia consentono quindi l'analisi della dimensionalità di nicchia, cioè l'identificazione del numero minimo di



dimensioni discrete su cui suddividere le *Tipologie* di ecosistemi esattamente nello stesso modo in cui vengono suddivise le nicchie delle popolazioni coesistenti (Fig. 20).

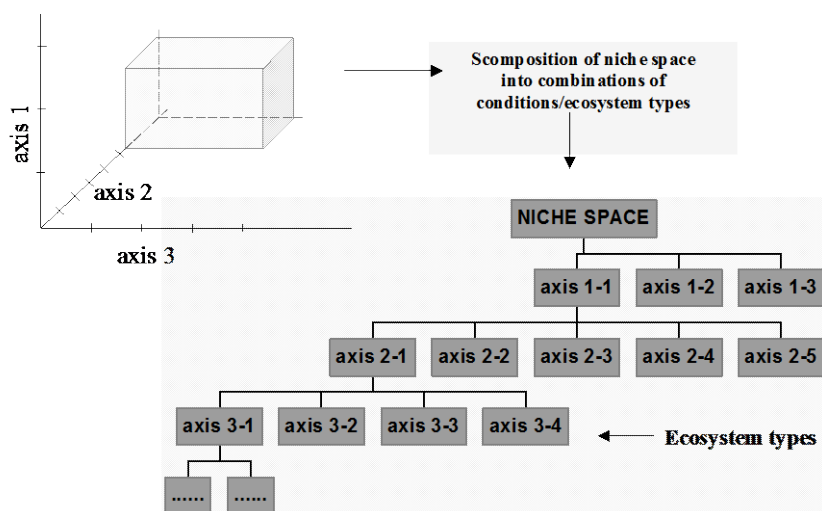


Fig. 20 Rappresentazione schematica della scomposizione della nicchia di un ecosistema.

Intervallo di marea, salinità, profondità, superficie, tempo di residenza e condizioni del substrato sono tra i principali fattori di cui è noto un effetto su abbondanza e distribuzione di fitoplancton, macrobenthos e pesci. L'analisi multivariata mostrata nel precedente paragrafo ha evidenziato come un sistema a quattro fattori di classificazione (larghezza outlet/superficie, asse minore, salinità massima

e variazione di salinità) è in grado di spiegare il 75% della variazione biologica nel data-set utilizzato. La superficie, in riferimento allo Schema B di classificazione tipologica indicato nella WFD, è una misura di forma dell'ecosistema e l'asse minore può essere una misura di variabilità. L'inclusione dell'area di superficie tra le dimensioni di nicchia principali per una suddivisione *Tipologica* degli ecosistemi di transizione italiani è sostenuta non solo dalle metanalisi dei dati effettuate ma anche dalle forti basi teoriche di una tale relazione. È interessante notare come pattern di variazione della ricchezza tassonomica con le superficie dell'isola, siano stati osservati anche per il fitoplancton, su un differente set di dati. Sulla base delle metanalisi effettuate è stato proposto uno schema di monitoraggio per i sistemi di transizione in territorio pugliese basato su un sistema a tre fattori di classificazione: i.e., idrologia superficiale, per distinguere tra sistemi ad acqua corrente e sistemi ad acqua stagnante; intervallo spaziale di marea, per distinguere tra sistemi micro tidali e non tidali; e area di superficie del sistema. Uno schema di classificazione della *Tipologia* è stato recentemente pubblicato (Basset et al. 2005) Copia dello schema proposto è riportato in appendice (Appendice 2).

## Fase II

I risultati emersi dall'analisi effettuata sui set di dati relativi alle corporazioni fitoplanctoniche e di macroinvertebrati bentonici degli ecosistemi acquatici di transizione e marino-costieri studiati possono essere schematicamente riassunti come segue:

- (1) Le distribuzioni taglia-abbondanza sono consistentemente meno variabili della composizione tassonomica
- (2) Le distribuzioni taglia-abbondanza esibiscono caratteristiche comuni
- (3) Le distribuzioni taglia-abbondanza sono influenzate dalle forzanti ambientali
- (4) I descrittori delle distribuzioni taglia-abbondanza rispondono a gradienti ambientali e covariano con i descrittori classici.

Di seguito, per ciascuno dei punti evidenziati, sono analizzati alcuni dei risultati ottenuti per i due elementi biologici di qualità considerati.



Le distribuzioni taglia-abbondanza sono consistentemente meno variabili della composizione tassonomica

*Macrobenthos*

Le corporazioni di macroinvertebrati bentonici dei Laghi Alimini risultano essere più omogenee in termini di struttura in taglia che in termini di composizione tassonomica, infatti la similarità media tra le distribuzioni in classi di tagli è più elevata della similarità tra le strutture tassonomiche a tutte le scale spaziali e temporali analizzate (Fig. 21), ovvero tra patch di risorse all'interno di un stessa stazione di studio, tra stagioni, tra stazioni di campionamento e tra habitat. La similarità tra patch è funzione del numero di individui in accordo ad una risposta funzionale del II tipo (Fig. 21, grafico in alto). La relazione osservata indica che esiste

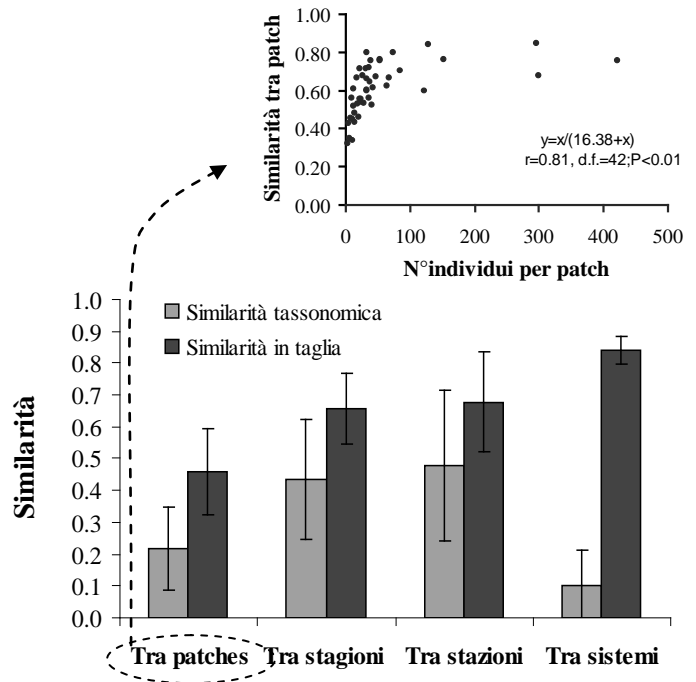


Fig. 21 Confronto tra similarità tassonomica e in classi di taglia delle corporazioni di macroinvertebrati bentonici nel Lago Alimini Grande a differenti scale spaziali

una densità di individui limite che deve essere superata affinché il confronto tra patch in termini di similarità delle corporazioni di macroinvertebrati sia possibile. Una relativa invarianza della distribuzione in taglia sembra una caratteristica comune delle corporazioni bentoniche in ambiente acquatico ed è stata già osservata sia in ambiente lacustre (Stayer, 1986) sia in ambiente marino (Warwick, 1984) e di transizione (Basset, 1994).

*Fitoplancton*

Le strutture in taglia risultano più conservative della composizione in specie anche nelle corporazioni fitoplanctoniche.

Analizzando i dati relativi all'area marino costiera intorno alla penisola salentina le distribuzioni in classi di taglia sono relativamente invariabili nello spazio e nel tempo, mentre la composizione tassonomica delle corporazioni fitoplanctoniche mostra una elevata eterogeneità spaziale e temporale sia in termini di similarità tra le corporazioni che di distribuzione delle specie. La similarità tra le corporazioni fitoplanctoniche dell'area marino-costiera è mediamente del  $64.82 \pm 14.72\%$  in termini di struttura in taglia e del  $32.22 \pm 15.52\%$  in termini di struttura tassonomica. Le distribuzioni in classi di taglie sono significativamente meno variabili della composizione tassonomica in ciascuno dei periodi di campionamento (Student t-test, Tab. 6). Infatti, la similarità media tra

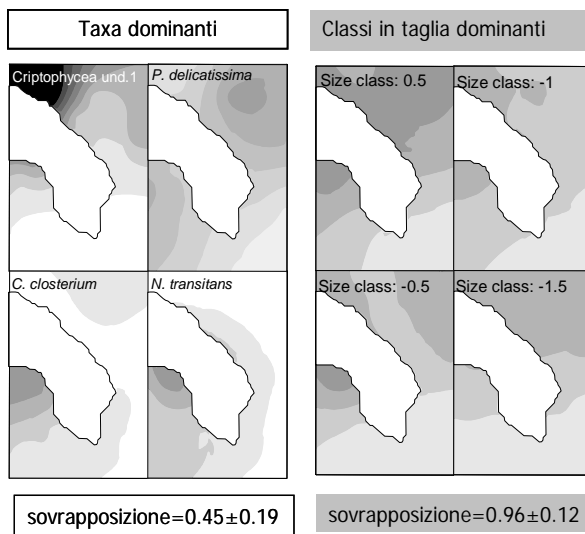


Fig. 22 Distribuzione spaziale della densità (cell/L) dei quattro taxa più rappresentati e delle quattro classi di taglia più rappresentate all'interno dell'area marino-costiera studiata nella crociera di giugno.

costiera intorno alla penisola salentina le distribuzioni in classi di taglia sono relativamente invariabili nello spazio e nel tempo, mentre la composizione tassonomica delle corporazioni fitoplanctoniche mostra una elevata eterogeneità spaziale e temporale sia in termini di similarità tra le corporazioni che di distribuzione delle specie. La similarità tra le corporazioni fitoplanctoniche dell'area marino-costiera è mediamente del  $64.82 \pm 14.72\%$  in termini di struttura in taglia e del  $32.22 \pm 15.52\%$  in termini di struttura tassonomica. Le distribuzioni in classi di taglie sono significativamente meno variabili della composizione tassonomica in ciascuno dei periodi di campionamento (Student t-test, Tab. 6). Infatti, la similarità media tra

le distribuzioni in taglia è 1.8-2.3 volte più alta della similarità media tra le composizioni tassonomiche delle corporazioni fitoplanctoniche campionate. Le classi di taglia dominanti mostrano anche una sovrapposizione nello spazio più alta di quella evidenziata tra i taxa dominanti (Student t-test,  $0.96 \pm 0.12$  vs  $0.45 \pm 0.12$ ). Le classi di taglia dominanti mostrano una distribuzione relativamente omogenea con ampie aree caratterizzate da valori di densità simili, mentre i taxa mostrano una distribuzione spaziale eterogenea caratterizzata da gradienti di densità molto più ripidi e ampie aree in cui la specie non è rilevata (Fig. 22).

L'invarianza delle distribuzioni in classi di taglia rispetto alla composizione tassonomica osservata sia nelle corporazioni di macroinvertebrati bentonici che di fitoplancton, indica che in questi elementi biologici di qualità la struttura in taglia non riflette semplicemente la composizione tassonomica, ma rappresenta una caratteristica strutturale rilevante delle comunità biologiche.

#### Le distribuzioni in classi di taglia esibiscono caratteristiche comuni

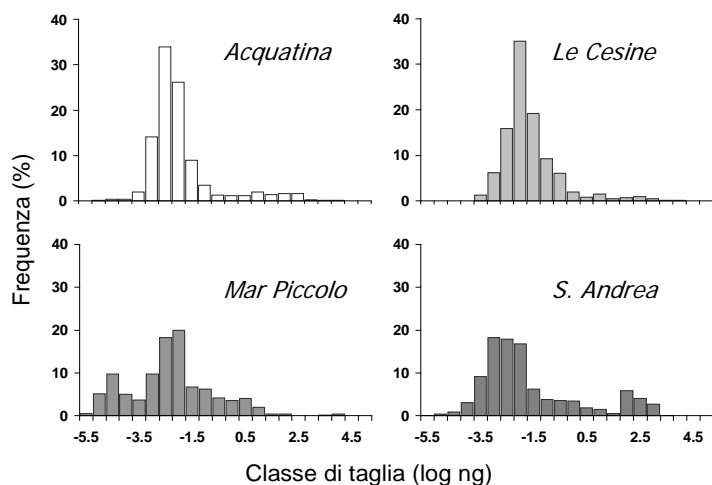


Fig. 23 Distribuzioni in classi di taglie delle corporazioni fitoplanctoniche in quattro ecosistemi di transizione pugliesi.

Le distribuzioni in classi di taglia delle corporazioni di macroinvertebrati bentonici e fitoplanctoniche mostrano caratteristiche comuni di forma. Le distribuzioni osservate risultano essere tendenzialmente unimodali, con le classi di taglia centrali più rappresentate rispetto alle classi estreme, asimmetriche destre, ovvero spostate verso le classi di taglia più piccole, e leptocuriche, con un eccesso di frequenza delle classi centrali, una frequenza minore delle classi intermedie ed una presenza maggiore delle classi estreme; è quindi una distribuzione più alta al centro e agli estremi e più bassa ai fianchi (Fig. 23).

Tabella 6 Similarità media (Indice di Similarità proporzionale; Renkonen, 1938) della composizione tassonomica e della struttura in classi di taglia delle corporazioni fitoplanctoniche dell'area marina costiera salentina

	Similarità		t	d.f.	p
	Taglia	Taxa			
<b>Marzo</b>	<b>46.06</b> (17.92)	<b>24.98</b> (16.37)	<b>30.73</b>	<b>594</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Giugno</b>	<b>65.11</b> (13.14)	<b>27.76</b> (14.55)	<b>99.25</b>	<b>1890</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Settembre</b>	<b>67.78</b> (11.78)	<b>38.61</b> (15.72)	<b>77.36</b>	<b>1225</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Dicembre</b>	<b>68.77</b> (11.96)	<b>34.00</b> (13.59)	<b>88.65</b>	<b>1769</b>	<b>&lt;0.001</b>

Le distribuzioni in classi di taglia degli elementi biologici di qualità non sono casuali, ma mostrano significativi modelli di variazione lungo i gradienti ambientali. La CCA mostra che le forzanti ambientali influenzano in maniera significativa la struttura in taglia sia dei macroinvertebrati che del fitoplancton e ne spiegano la maggior parte della variazione (e.g. Fig. 24). Forzanti ambientali abiotiche, biotiche e spaziali/fisiografiche spiegano la maggior parte della variabilità delle distribuzioni taglia-abbondanza delle corporazioni fitoplanctoniche nell'area marina costiera salentina (varianza spiegata media,  $65.9 \pm 6.4\%$ ) e negli ecosistemi di transizione pugliesi considerati (varianza spiegata media:  $67.0\%$ ). Nel lago Alimini Grande le forzanti ambientali di carattere abiotico, biotico e fisiografiche spiegano il 51% della eterogeneità delle distribuzioni in classi di taglia dei macroinvertebrati bentonici. Nel sistema di zone salmastre di Brindisi le forzanti ambientali spiegano il 66% dell'eterogeneità osservata nelle strutture in taglia delle corporazioni di macroinvertebrati bentonici. Le proprietà invarianti delle distribuzioni in taglia delle corporazioni biologiche esaminate rispondono direttamente alle pressioni ambientali.

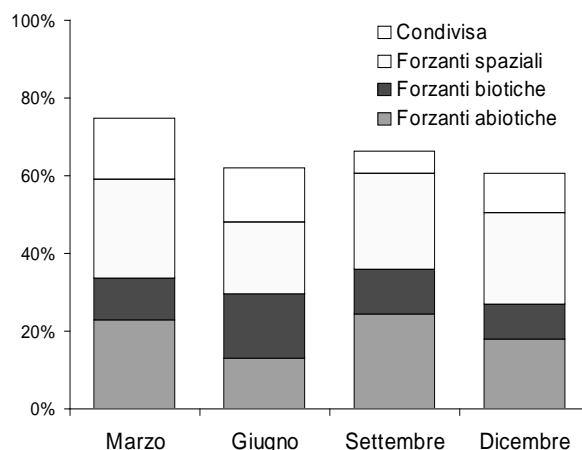


Fig. 24 Varianza delle distribuzioni in classi di taglia spiegata dalle forzanti ambientali in corporazioni fitoplanctoniche dell'area marino-costiera salentina.

I risultati ottenuti enfatizzano la rilevanza delle distribuzioni in classi di taglia come proprietà intrinseca delle corporazioni fitoplanctoniche e di macroinvertebrati, suggerendo una dipendenza funzionale delle strutture in taglia da costrizioni ecologiche legate a fattori trofici e di coesistenza all'interno delle corporazioni. La regolarità delle distribuzioni in classi di taglia può essere tradotta in parametri sintetici che possono rappresentare potenziali descrittori degli elementi biologici nel monitoraggio dello stato ecologico degli ecosistemi acquatici.

I descrittori delle distribuzioni in classi di taglia rispondono a gradienti ambientali e covariano con i descrittori classici.

I descrittori delle distribuzioni in classi di taglia degli elementi biologici di qualità variano in maniera significativa lungo i gradienti di forzanti ambientali. L'ampiezza (range di quartile) delle distribuzioni in classi di taglie delle corporazioni di macroinvertebrati bentonici diminuisce lungo

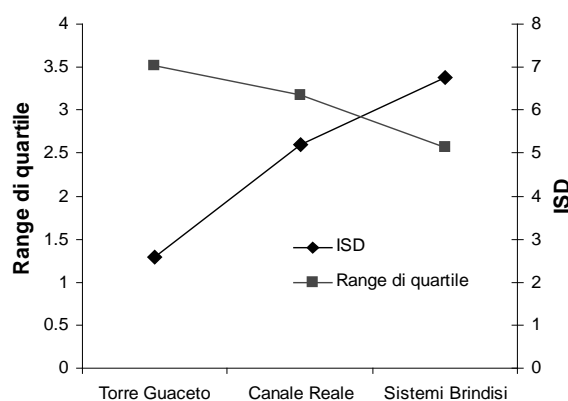


Fig.25 Valori di range di quartile e di ISD (Index of size distribution) delle distribuzioni in classi di taglia degli invertebrati bentonici in ecosistemi di transizione

il gradiente di pressione antropica che va dal bacino salmastro di Torre Guaceto, riserva naturale, agli ecosistemi salmastri dell'area costiera brindisina, fortemente impattati da una consistente attività industriale (Fig. 25). Lungo lo stesso gradiente i valori dell'indice di size

distribution (ISD, Reizopoulou and Nicolaidou, in press), proposto per valutare lo stato ecologico degli ecosistemi di transizione, aumentano.

La sensibilità dell'ampiezza delle distribuzioni a descrivere gradienti di pressioni ambientali è stata messa in evidenza anche attraverso una analisi intra-habitat. Nei sistemi salmastri dell'area costiera brindisina l'ampiezza delle distribuzioni diminuisce all'aumentare della concentrazione di metalli pesanti nei sedimenti. I descrittori della struttura in taglia delle corporazioni fitoplanctoniche rispondono ai gradienti ambientali. La percentuale di micro-fitoplancton (frazione di biomassa > 20 µm) diminuisce passando dagli ecosistemi di transizione all'ambiente marino, quindi lungo un gradiente decrescente di stato trofico (Fig. 26). Lungo lo stesso gradiente si osserva un incremento dell'ampiezza delle distribuzioni (range di quartile e percentile, Fig. 26).

In un'analisi intra-habitat a livello di ecosistemi di transizione è emerso che i macro descrittori legati alla taglia del fitoplancton, ovvero le frazioni di biomassa, non rispondono in maniera significativa ai gradienti ambientali. Mentre i descrittori derivati dalle distribuzioni in classi di taglia variano in maniera significativa con alcune delle forzanti ambientali considerate e covariano con i descrittori indicati dalla WFD e già inseriti in alcuni piani di monitoraggio (Tab. 7).

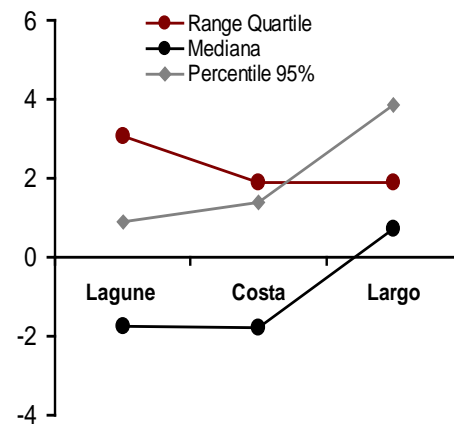
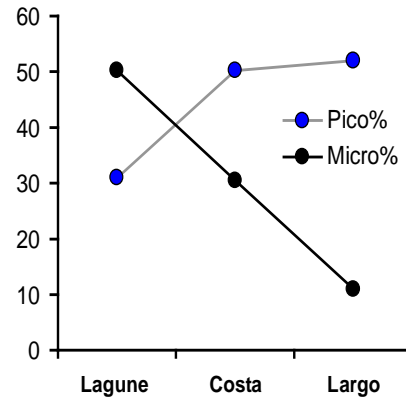


Fig. 26 Valori dei descrittori legati alla taglia delle corporazioni fitoplanctoniche negli ecosistemi marino-costieri e di transizione studiati

Tabella 7 Relazioni tra le forzanti ambientali e i descrittori delle distribuzioni in classi di taglia delle corporazioni di fitoplancton negli ecosistemi di transizione pugliesi

	M	RQ	SK	CU	P95%
DIN (µM)	ns	ns	ns	ns	ns
DIP (µM)	↑	ns	ns	ns	↑
SILICATI (µM)	↑	ns	ns	ns	↑

	M	RQ	SK	CU	P95%
Abbondanza (Ncell/L)	ns	ns	ns	ns	ns
N specie	↑	↑	ns	ns	↑
Biomassa (mg Chla m3)	ns	ns	↓	ns	↓

	Pico%	Nano%	Micro%
DIN (µM)	ns	ns	ns
DIP (µM)	ns	ns	ns
SILICATI (µM)	ns	ns	ns

	Abbondanza (Ncell/L)	N specie	Biomassa (mg Chla m3)
DIN (µM)	ns	ns	ns
DIP (µM)	ns	ns	ns
SILICATI (µM)	ns	ns	ns

### Scale temporali per il monitoraggio

Ciascun descrittore ha una propria scala caratteristica di variazione nello spazio e nel tempo che riflette l'interazione tra le scale di variazione indotte da forzanti abiotiche interne ed esterne e le scale intrinseche di variazione della componente biologica (Fig. 27). Negli ecosistemi di transizione è possibile distinguere almeno tre scale di variazione temporale ed

due scale spaziali indotte da forzanti abiotiche. A livello temporale, si riconoscono: 1. - una scala giornaliera, che riflette il ruolo della marea e determina variazioni regolari nelle caratteristiche dell'acqua negli ecosistemi lagunari, o se la circolazione delle acque non è completa e la marea è debole, in quella parte degli ecosistemi in cui arriva la marea entrante; 2. - una scala stagionale, che riflette le variazioni climatiche e la idrologia del bacino, corrispondendo nelle regioni più meridionali in modo stretto con la stagionalità delle precipitazioni e, nelle regioni settentrionali italiane con le variazioni stagionali di portata dei

fiumi come relazione tra gli apporti meteorici ed apporti dai ghiacciai alpini; 3. - una scala pluriennale, che corrisponde ai cicli di erosione e di accumulo dei cordoni di sabbia che separano gli ecosistemi di transizione lentici dall'ambiente marino costiero. Tutte e tre le scale di variazione temporale contribuiscono a determinare una scale spaziali di variazione, corrispondenti a scale di eterogeneità della linea di costa e del substrato di fondo e scale di eterogeneità della salinità dell'acqua, tra loro almeno parzialmente interconnesse. Esiste anche una scala di variazione intrinseca ai differenti elementi biologici di qualità ed è costituita dalle strategie comportamentali degli individui e dai loro cicli biologici. In gran parte l'influenza di questi fattori biologici può essere quantificata in funzione delle dimensioni corporee degli individui, poiché è noto che tutte le caratteristiche ecofisiologiche individuali variano con le dimensioni corporee secondo una relazione allo metrica bi-logaritmica,  $y=ax^b$ , in cui il valore di  $b$  tende ad essere costante sia per le caratteristiche legate all'uso dell'energia ( $b \approx 0.75$ ) sia per le caratteristiche legate a componenti del ciclo biologico ( $b \approx 0.20-0.25$ ) (Fig. 27). Limitatamente alla componente di bacterioplankton e fitoplankton risulta evidente come le dimensioni degli individui impongano scale specifiche di variazione non solo della densità di popolazione ma anche delle caratteristiche chimiche dell'acqua. L'influenza sulla chimica dell'acqua è stata recentemente evidenziata attraverso l'identificazione di scale estremamente brevi di variazione della concentrazione di fosforo in acqua nel tempo (Basset et al., 2001) e nello spazio (Rossi L. comm.pers.) in relazione all'assorbimento da parte degli organismi. D'altra parte è ben noto che il tasso di turnover giornaliero del fitoplankton può essere uguale o maggiore a 10, indicando le potenzialità dinamiche a scala temporale breve che a volte si manifestano nei fenomeni negativi di fioriture algali.

E' quindi evidente che i programmi di monitoraggio devono tenere conto sia a livello temporale sia a livello spaziale dei modelli di variazione dei descrittori biologici di qualità,

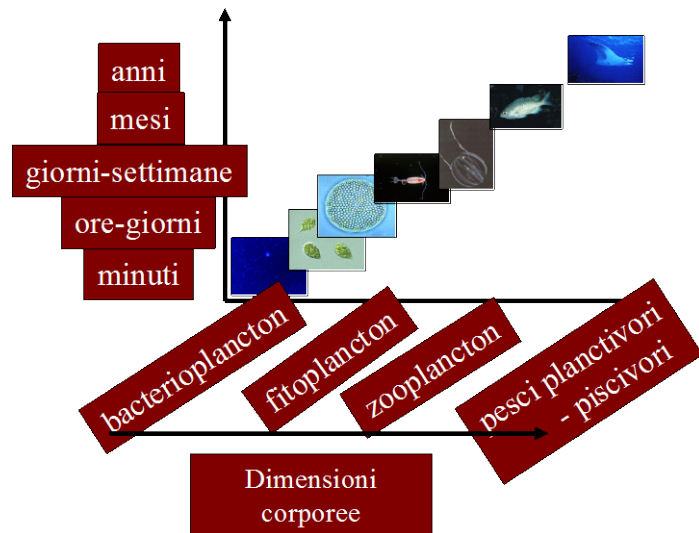


Fig. 27 Scale intrinseche di variazione degli elementi biologici di qualità: relazioni allometriche tra dimensioni corporee, cicli biologici ed uso dello spazio.

organizzando la raccolta delle informazioni attraverso il campionamento sulle stesse scale di variazione dei fenomeni biologici che sono oggetto di studio. Ciò comporta la necessità di ottimizzare i modelli di campionamento sulle scale abiotiche ed intrinseche di variazione delle caratteristiche delle singole classi di ecosistemi acquatici e dei differenti elementi di qualità. Non è possibile generalizzare a tutti i sistemi i protocolli sperimentati nell'oceanografia fisica e nella limnologia.

## Conclusioni

Le attività svolte nel sottoprogetto hanno evidenziato come un approccio proprio della ecologia di base allo studio dei descrittori degli elementi biologici di qualità degli ecosistemi di transizione possa produrre risultati applicativi su due delle problematiche aperte di maggiore interesse per l'implementazione della WFD: la definizione della *Tipologia* e lo sviluppo di strumenti per la *Classificazione*.

Per quanto riguarda la *Tipologia*, l'approccio *a posteriori* utilizzato nel sottoprogetto, basato sull'applicazione della teoria della nicchia attraverso una meta-analisi dei dati, finalizzata ad evidenziare dimensionalità di nicchia degli ecosistemi di transizione e dimensioni caratterizzanti, ha consentito di formulare una proposta di tipologia strutturata su tre dimensioni di nicchia: forzanti idrologiche (foci *vs.* lagune e laghi costieri), intervallo di marea [lagune propriamente dette (o lagune microtidali) *vs.* laghi costieri (o lagune non tidali)], superficie dei corpi d'acqua. Il documento con cui la proposta è stata presentata alla comunità scientifica è riportato come appendice (Appendice 2).

Per quanto riguarda la *Classificazione*, i risultati ottenuti hanno evidenziato come le caratteristiche delle distribuzioni taglia abbondanza costituiscono un set di descrittori dello stato di salute degli ecosistemi di transizione molto promettente, pur se allo stato attuale non è stato possibile identificare i limiti soglia per la classificazione. La omogeneità di risposte di differenti elementi di qualità (i.e., fitoplancton e macrobenthos), la corrispondenza con i modelli attesi dalla teoria metabolica e della mole corporea, la semplicità delle analisi proposte ed il fatto che le stesse siano in fase di sperimentazione anche presso l'EPA U.S. (Pearl HW, 2005 EPA STAR grant progress report year 4) sostengono la idoneità dei descrittori delle distribuzioni taglia abbondanza per la valutazione dello stato ecologico degli ecosistemi di transizione. Allo stato attuale, misure di ampiezza delle distribuzioni e misure di forma (e.g., Skewness) sembrano costituire i descrittori più adeguati, in termini di variabilità interna, risposta sui gradienti di pressioni e consistenza delle risposte osservate.

Le attività svolte nel sottoprogetto in relazione a *milestones* ed obiettivi hanno prodotto una serie corrispondente di *deliverables*:

1. un data-base degli ecosistemi di transizione lentici italiani, strutturato su *Access* (Microsoft);
2. un inventario a schede, di cui un esempio è riportato in Appendice 1, che nel presente stato di implementazione fornisce un quadro dello stato di conoscenze reperibili pubblicamente sugli ecosistemi lentici di transizione;
3. una proposta di *Tipologia* di cui è riportato come appendice un estratto (Appendice 2);
4. un *report* sulla idoneità di descrittori legati alla dimensione corporea degli individui per la *Classificazione* degli ecosistemi lentici di transizione;
5. un manuale di "Metodologie di analisi della struttura dimensionale di fitoplancton e macrobenthos".

## BIBLIOGRAFIA

- Arrhenius, O., 1921. Species and area. *Journal of Ecology* 9: 95–99.
- Bady, P., Doledec, S., Fels, C., Gayraud, S., Bacchi, M., and Schollf, F. 2005. Use of invertebrate traits for the biomonitoring of European large rivers: the effects of sampling effort on genus richness and functional diversity. *Freshwater Biology*, 50: 159-173
- Basset, A., 1995. Body size-related coexistence: an approach through allometric constraints on home range use. *Ecology* 76(4), 1027-1035.
- Basset, A., Sangiorgio, F. & Pinna, M. 2004 Monitoring with benthic macroinvertebrate: advantage and disadvantages of body size descriptors. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 14, S43-S58.
- Basset A., Carlucci D., Fiocca A., and Vignes F. 2001. Water transparency and health of coastal salt marshes: simple enclosure experiments of nutrient dynamics. *Aquatic Conservation, Marine and Freshwater Ecosystems* 11(4): 273-279
- Borja, A., Franco J. and Pérez, V. 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40(12): 1100-1114.
- Bremner, J., Rogers, S. I. and Frid, C. L. J.. 2003. Assessing functional diversity in marine benthic ecosystems: a comparison of approaches. –*Mar. Ecol. Prog. Ser.* 254: 11–25.
- Brown, J. H. and Maurer B.A., 1987. Evolution of species assemblages: effects of energetic constraints and species dynamics on the diversification of the North American avifauna. *Amer. Nat.* 130, pp. 1-17.
- Calow, P. 2000. Critics of ecosystem health misrepresented. *Ecosystem Health*. Blackwell Science, Oxford. 6:1 Letter to the Editor.
- Cannas A., Cataudella S. e Rossi R. 1998. Gli stagni della Sardegna. C.I.R.S.P.E.
- Connell, J. H., 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science* 199: 661–696.
- Costanza, R., 1992. Toward an operational definition of health. In: Costanza, R., Norton, B., Haskell, B.D. (Eds.), *Ecosystem Health—New Goals for Environmental Management*. Inland Press, Washington, DC, pp. 239–256.
- Damuth, J., 1981. Population density and body size in mammals. *Nature* 290, 699-700.
- Damuth, J., 1987. Interspecific allometry of population density in mammals and other animals: The independence of body mass and population energy-use. *Biological Journal of the Linnean Society* 31, n. 3, pp. 193-246.
- Dixon, D. G.; Hodson, P. V.; Kaiser, K. L. E. *Environ Toxicol Chem* 1987, 6, 685 - 696.
- Donaldson, E. M., 1990. Reproductive indices as measures of the effects of environmental stressors in fish. *Am. Fish. Soc. Symp.* 8, 109–122.

EC, 2000. Directive of the European Parliament and of the Council 2000/60/EC establishing a framework for community action in the field of Water Policy. PE-CONS 3639/1/00.

Gaston K. J., (1996) The multiple forms of the interspecific abundance– distribution relationship. *Oikos* 76:211–220

Goksoyr, A., and Husoy, A.-M. 1992. The cytochrome P450 1A1 response in fish: application of immunodetection in environmental monitoring and toxicological testing. *Mar. Environ. Res.* 35: 147.150.

Hodson, P. V., Klopper-Sams, P. J., Munkittrick, K. R., Lockhart, W. L., Metner, D.A., Luxon, P.I., Smith, I. R., Gagnon, M. M., Servos, M., and Paynel, J.F. 1991. Protocols for measuring Mixed Function Oxygenases of fish liver. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 1829. p 51.

Houston, D. C., 1979. The adaptations of scavengers, p. 263-286. In A.R.E. Sinclair and M. Norton Grif- fiths [eds.], *Serengeti: dynamics of an ecosystem*. Univ. of Chicago Press, Chicago.

Hutchinson, 1957 Hutchinson, G. E. 1957. Concluding remarks. – Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 22: 415–427.

Hutchinson, G. E. and MacArthur, R. H., 1959 A theoretical ecological model of size distributions among species of animals. *American Naturalist* 93, 117-125.

Johnson K. H., Vogt, K. A., Clark, H. J., Schmitz, O. J. and Vogt, D. J. 1996. Biodiversity and the productivity and stability of ecosystems. *Tree* 11: 372-377.

Jorgensen, S.E. 1992 Development of models able to account for changes in species composition. *Ecological Modelling* 62, 195 208.

Kleynhans, C. J. 1999. The development of a fish index to assess the biological integrity of South African rivers. *Water SA* 25 (3): 265-278.

Knowlton, N., 1993. Sibling species in the sea. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24:189-216.

Lasserre P. e Marzollo A. 1999. *The Venice Lagoon Ecosystem: inputs and interactions between land and sea*. The Parthenon Publishing Group

MacArthur, R. H. and E. O. Wilson, 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton Univ. Press, Princeton, N.J.

Mackey, R. L. and Currie, D. J., 2001. The Diversity–Disturbance Relationship: Is It Generally Strong And Peaked? *Ecology*, 82(12), 3479–3489.

Matheron G. 1963. Principles of Geostatistics. *Economic Geology* 58: 1246-1266.

Morse, D. R., Stork, N. E. and Lawton, J. H., 1988. Species number, abundance and body length relationships of arboreal beetles in Bornean lowland rain forest trees. – *Ecol. Entomol.* 13,pp. 25–37.

Mouillot, D., Spatharis, S., Reizopoulou, S., Laugier, T., Sabetta, L., Basset, A., and Do Chi, T. 2005. Alternatives to taxonomic-based approaches to assess changes in transitional water communities. *Aquatic Conservation* (in press).



- Orfanidis, S., Panayotidis, P., Stamatis, N. 2001. Ecological evaluation of transitional and coastal waters: A marine benthic macrophytes-based model. *Mediterranean Marine Science*, 2 (2): 45-65.
- Peter, R. H., 1983. *The Ecological Implication of Body Size*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pianka, 1973. The structure of lizard communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4, pp.53-74.
- Pielou, E. C. 1966. Shannon's formula as a measure of specific diversity, its use and misuse. *Am. Nat.* 100:463-465.
- Reizopoulou, S., and Nicolaidou, A., 2005. Index of size distribution (ISD): a method for assessing the Ecological Quality Status in lagoons. *Hydrobiologia* In press
- Reizopoulou, S and Nicolaidou, A. 2005. Index of size distribution (ISD): a method for assessing the Ecological Quality Status in lagoons. *Hydrobiologia* in press
- Renkonen, O., 1938 Statisch-okologische. Untersuchungen uber die terrestiche kaferwelt der finnischen bruchmoore. *Archivum Societatis Zoologicae Botanicae Fennicae „Vanamo“* 6, pp. 1-231.
- Rossi R., Cannas A. 1992. Gli stagni sardi dalla pesca tradizionale all'uso di nuove tecnologie . *Oebalia* 17-2, 1-10
- Roughgarden, J. 1996. Ecology. In: *Encyclopedia of Climate and Weather*.
- Sabetta, L., Fiocca, A., Margheriti, L., Vignes, F., Basset, A., Mangoni, O., Carrada, G. C., Ruggieri, N., and Ianni, C., 2005. Body size-abundance distributions of nano- and micro-phytoplankton guilds in coastal marine ecosystems. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 63, pp. 645-663.
- Shannon, C. E., and Weaver, W. 1949. *The mathematical theory of communication*. Urbana IL: University of Illinois Press.
- Sheppard, C. R. C. 1998. Biodiversity patterns in Indian Ocean corals, and effects of taxonomic error in data. *Biodivers Conserv* 7:847-868.
- Simboura, N. & A. Zenetos, 2002. Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic index. *Medit. Mar. Sci.*, 3/2:77-111.
- Simpson, E. H. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163:688
- Stark, J. D. 1998. SQMCI: a biotic index for freshwater macroinvertebrate coded-abundance data. *New Zealand. Journal of marine and freshwater research* 32,55-66.
- Stayer, D., 1986. The size structure of a lacustrine community. *Oecologia* 69: 513-516
- Studio del Consiglio Regionale della Sardegna 1981. *Le lagune in Sardegna: una risorsa*. S.T.E.F., Cagliari
- SVIMEZ 1957. *I laghi salsi della Sardegna*. Roma
- Ter Braak, C. J. F., 1986 Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 65(5), 1167- 1179.

Warwick R.M., 1986. A new method for detecting pollution effects on marine macrobenthic communities, *Mar. Biol.*, 92, 557–562.

Warwick, R. M., 1984 Species size distributions in marine benthic communities. *Oecologia*, 61: 32-41

Warwick, R. M., and Clarke, K. R. 2001. Practical measures of marine biodiversity based on relatedness of species. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. 39, 207-231.

Warwick, R.M. and Clarke, K. R. 1995. New 'biodiversity' index measures reveal a decrease in taxonomic distinctness with increasing stress. *Mar Ecol Prog Ser* 129:301–305

Weisberg, S. B., Ranasinghe J. A., Dauer D. M., Schaffner L. C., Diaz R. J., and Frithsen J. B.. 1997. An estuarine benthic index of biotic integrity (B-IBI) for the Chesapeake Bay. *Estuaries* 20:149-158.

Zelinka, M. and Marvan, P. 1961. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. (Making a precise biological classification of the quality of running waters). *Arch. Hydrobiol.*, 57, 389-407.

APPENDICE 1

Lagune microtidali grandi ■ piccole ■      Lagune non tidali grandi ■ piccole ■

**Alimini** Pu\_Le  
2

**Posizione geografica**

Regione	Puglia
Provincia	Lecce
Coordinate geografiche	40.22 °N 18.45 °E
Ecoregione	Mar Mediterraneo



**Caratteristiche morfologiche**

Superficie (km <sup>2</sup> )	1,37	
Perimetro (km)	9,53	
Sinuosità	2,29	
Asi	maggiore (m)	2787
	minore (m)	1417,9
Outlet	n°	
	lunghezza(m)	146,7
	larghezza(m)	19,6
Profondità	media (m)	1,5
	massima (m)	3,4
Substrato di fondo	roccioso	<input type="checkbox"/>
	sabbioso	<input type="checkbox"/>
	fangoso	<input type="checkbox"/>
	misto	<input type="checkbox"/>
Struttura ecotone	Copertura della vegetazione	<input type="checkbox"/>

**Regime di marea**

Marea	Micro-tidale (>0,5m)	<input type="checkbox"/>
	Non-tidale (<0,5m)	<input checked="" type="checkbox"/>
Tempo di residenza	Breve (giorni)	<input type="checkbox"/>
	Moderato (settimane)	<input type="checkbox"/>
	Lungo (mesi/anni)	<input type="checkbox"/>

**Elementi biologici di qualità**

Angiosperme

Macroalghe

Fitoplancton

Macrobenthos

Fauna Ittica

Dati disponibili       Dati non disponibili

**Caratteristiche chimico-fisiche**

**Salinità**

Mesoalino
 Polialino
 Eualino

**Temp. (° C)**

min.	max
9	29

**O<sub>2</sub> (% sat.)**

min.	max

**Trofia**

<b>N tot</b>	<input type="radio"/> Oligotrof	<input type="radio"/> Mesotrof	<input type="radio"/> Eutrof.	<input type="radio"/> Ipertruf.
<b>P tot</b>	<input type="radio"/> Oligotrof	<input type="radio"/> Mesotrof	<input type="radio"/> Eutrof.	<input type="radio"/> Ipertruf.
<b>Chl a</b>	<input type="radio"/> Oligotrof	<input type="radio"/> Mesotrof	<input checked="" type="radio"/> Eutrof.	<input type="radio"/> Ipertruf.

## APPENDICE 2

### Appendix IV A proposal of a Typology for Mediterranean transitional waters

*A. Basset, L. Sabetta, G.C. Carrada, G.F. Russo, G. Casazza, C. Silvestri, P. Viaroli, G. Giordani, M. Abbiati, A. Bergamasco, P. Breber, C. Caroppo, M. Cabrini, L. Georgescu, T. Laugier, D. Mouillot, M. Murenu, N. Murray, A. Occhipinti, S. Reizopoulou, C. Solidoro, Tagliapietra, A. Volpi, S. Bahri*

Typology can be defined as the discrimination of surface waters into units "ecosystem types", to ensure that type-specific biological reference conditions can be reliably derived. It follows that typology has to focus on the identification of the major sources of variation in the biological quality element descriptors (mainly abundance, richness and diversity), in order to minimize their intra-type variation and to be functional for classification of ecological status.

According to this definition and meaning of Typology, an electronic discussion was carried out within the scientific community in the Mediterranean region, in order to achieve a preliminary evaluation of the Typology of Mediterranean transitional waters with an expert view approach.

During a week of on-line discussion, some documents were produced, many expert views on factor relevance were introduced and more than 140 contacts were received by the documents produced, which led to a hierarchical definition of a simple and reliable *a priori* Typology.

The major relevance of some factors was recognised: tidal range, salinity (and range), depth (mean), surface, residence time and substratum conditions (organic fraction and granulometry); agreement was reached on the first steps of the Typology definition:

1. a subdivision into running (deltas or river mouths) and lentic (still or slow-moving) transitional waters; and then,
2. a first subdivision of the lentic transitional waters according to tidal range into lagoons [tidal range  $\geq 50$  cm (micro tidal *sensu* coastal waters of the EU Water Framework Directive - WFD)] and non-tidal [tidal range  $\leq 50$  cm (not tidal);
3. a second subdivision of the lentic transitional waters into large (surface  $\geq 3$  km<sup>2</sup>) and small (surface  $\leq 3$  km<sup>2</sup>) lentic transitional waters.

The final document from the on-line discussion was submitted to the Coast Working Group, which accepted only the first subdivision, in agreement with the decision of some Member States (see Table IV.1).

Table IV.1. Typology of transitional waters by the Mediterranean Member States.

		France	Greece	Italy
River mouth/delta		X	X	X
Coastal lagoons	Microtidal lagoons	X	X	X
	Non-tidal lagoons			X

Italy agreed with the first level subdivision into river delta, micro- and non-tidal lagoons, while France and Greece considered coastal lagoons as a single group. This differentiation is attributable to a higher variation of tidal range among Italian lagoons than among both Greek and French lagoons. North Adriatic lagoons have a tidal range close to 1 m, which is greater than the range occurring in other parts of the Mediterranean pertaining to UE Member States.

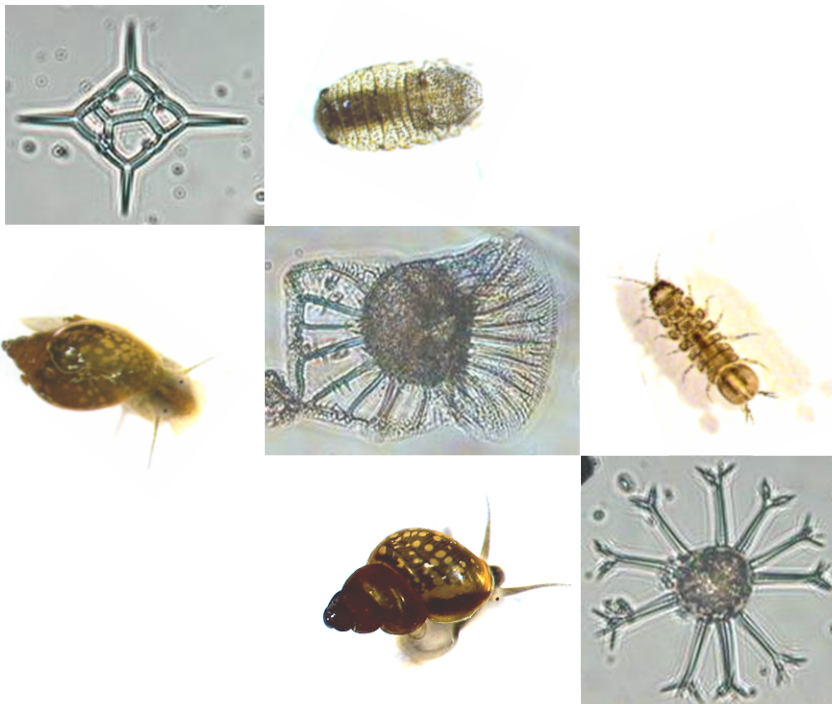
To evaluate the *a priori* Typology scheme, a preliminary analysis of bibliographic data containing structural descriptors of biotic quality element (i.e., benthic macro-invertebrates) was performed on a sample of Italian lagoons. Thirty six Italian lentic transitional waters were selected, according to

## APPENDICE 3 COPERTINA LINEE GUIDA



### NUOVI APPROCCI METODOLOGICI PER LA CLASSIFICAZIONE DELLO STATO DI QUALITÀ DEGLI ECOSISTEMI ACQUATICI DI TRANSIZIONE

---



Metodologie di analisi della struttura dimensionale di fitoplancton e macrobenthos

---

LABORATORIO DI ECOLOGIA – DISTeBA (LECCE)





Unità Tecnico Scientifica  
*Biotecnologie, Protezione della Salute e degli Ecosistemi*

## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs152/99”**

### **Sottoprogetto**

**“L’uso dei sedimenti per la valutazione della qualità delle acque di transizione: correlazione tra test fisici, chimici e biologici”**

**Responsabile scientifico: Dott. Giulio Izzo**  
**ENEA – Sezione Componente Biotica degli Ecosistemi**

**Autori: Giulio Izzo, Antonella Signorini, Giulia Massini**

**Nutrienti nelle acque:** Amedeo Allegro, Mirco Tosoni

**Nutrienti nei sedimenti:** Cristiano Varrone

**Processi biogeochimici:** Antonella Signorini

**Vegetazione bentonica:** Giada Migliore, Marco Sbrana

**Macrozoobenthos:** Giancarlo Morgana, Susanna Prato, Silvia Procacci,  
Paola La Valle\*, Luisa Nicoletti\*

---

\* ICRAM



## ABSTRACT

Lo studio ha avuto lo scopo principale di valutare il significato ecologico della dominanza di due diverse fanerogame acquatiche (*Ruppia cirrhosa* a Fogliano e *Cymodocea nodosa* a Caprolace), come espressione di una differenza qualitativa dei due ecosistemi.

Recentemente abbiamo proposto un metodo generale per la valutazione della qualità ecologica di un ecosistema lagunare che individua nella dominanza delle comunità macrofittiche la chiave d'interpretazione di un modello di successione (Izzo e Signorini, 2001). In tale modello viene utilizzato il rapporto superficie:volume (SA/V) della dominanza vegetale come criterio ordinatore della successione che consente di discriminare tra specie strettamente relate sia in termini tassonomici che di strategia di vita.

Per il raggiungimento degli obiettivi del progetto sono state effettuate 11 campagne di misura ed analizzati numerosi parametri chimico-fisici e biologici nei sedimenti e nelle acque.

L'insieme dei risultati di questo studio ha confermato la capacità discriminante del parametro "dominanza vegetale" delle due diverse fanerogame acquatiche *Cymodocea nodosa* e *Ruppia cirrhosa*, come indicatori dello stato di qualità ecologica, più elevata a Caprolace che a Fogliano. Tra tutti i parametri misurati quelli che maggiormente hanno evidenziato questa differente qualità sono stati: la presenza di azoto ammoniacale nelle acque, la concentrazione e l'andamento dei solfuri acido volatili nei sedimenti e la variazione giornaliera dell'ossigeno disciolto.

Inoltre, lo studio ha evidenziato la difficoltà ad adottare, anche per i sistemi di transizione, alcuni indicatori di stato trofico proposti per gli ambienti marino-costieri, come il carbonio biopolimerico (BPC) per i sedimenti e gli indici AMBI e BENTIX proposti per il macrozoobenthos.

## INTRODUZIONE

Così come lo sviluppo “naturale” di un ecosistema è una successione ecologica che implica variazioni temporali della struttura in specie e dei processi a livello di comunità, anche lo stato ecologico di un ecosistema, in relazione ad una perturbazione, che chiameremo eutrofizzazione, prevede una successione in stadi inquadrabile in un modello generale. In assenza di perturbazioni esterne lo sviluppo di un ecosistema segue un determinato schema ed è quindi prevedibile: la successione è comunità controllata e l'ambiente fisico ne determina l'andamento, la velocità di cambiamento e i limiti all'entità dello sviluppo. La successione procede per sequenze di comunità di transizione chiamati stadi seriali (Odum E., 1983).

E' noto, invece, che qualsiasi perturbazione che causa una deviazione di un'importante funzione ecosistemica tale da abbattere la capacità di resistenza dell'ecosistema ed in relazione alla sua capacità di resilienza, determina un cambiamento rapido, drastico e non sempre prevedibile, che si riflette nella modifica della struttura della comunità. In questo caso la successione procede per sequenze di comunità di transizione che chiameremo stati trofici. Ciò comporta che un modello di successione ecologica di un ecosistema, in relazione al processo dell'eutrofizzazione, deve rendere prevedibile ciò che, a causa dell'impatto antropico, non lo è più. Infatti solo così sarà possibile prevedere o direzionare il recupero di un ecosistema (Odum E., 1983).

Recentemente abbiamo proposto un metodo generale per la valutazione della qualità ecologica di un ecosistema lagunare che individua nella dominanza delle comunità macrofittiche la chiave d'interpretazione del modello di successione (Izzo e Signorini, 2001).

In tale modello assume rilevanza la definizione del fenomeno dell'eutrofizzazione: un'alterazione dell'ecosistema causata da un eccesso nel tasso di mineralizzazione della sostanza organica. E' stato individuato, con il termine eccesso, l'esistenza di soglie o “campi di esistenza” caratteristiche di un ecosistema ed identificato nel passaggio da una decomposizione prevalentemente aerobica ad una anaerobica stretta, il superamento di tali soglie. In questo contesto, affermiamo che è il metabolita dell'attività di solfato riduzione batterica, l'idrogeno solforato, che prodotto oltre la capacità tampone del sistema, è causa degli eventi distrofici. Questi, in relazione alla frequenza, all'intensità e all'estensione spaziale, inducono i cambiamenti dei popolamenti vegetali. Questa affermazione viene supportata da un complesso studio nel quale viene dimostrato come il parametro che è alla base del modello forma-funzione delle specie vegetali, il rapporto SA/V (Superficie /Volume), mostri una significativa relazione diretta con l'attività di solfato riduzione batterica. Questa relazione suggerisce di poter utilizzare il rapporto SA/V come descrittivo di un modello successionale. La validità di questa ipotesi viene supportata dalla considerazione che il rapporto SA/V si ordina attraverso una scala crescente di valori in relazione ad un altro modello di successione ecologica basato sulle strategie di vita. Inoltre il rapporto SA/V consente di discriminare tra specie strettamente relate sia in termini tassonomici che di strategia di vita.

I presupposti scientifici di questo modello, in particolare il ruolo chiave dell'idrogeno solforato, vengono recentemente validati da numerosi studi che trattano in dettaglio gli effetti tossici dell'H<sub>2</sub>S sulle macrofite bentoniche (Koch et al., 1990; Heijs et al., 2000; Kock & Erskine, 2001).

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di approfondire la capacità discriminante del parametro “dominanza vegetale” di due diverse fanerogame acquatiche (*Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande a Fogliano e *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, a Caprolace), come indicatore sia dello stato di qualità ecologica di un ecosistema sia di un modello di successione ecologica. Infatti, mentre la comunità scientifica è concorde nel ritenere che dominanze nell'ambito di *phyla* diversi siano manifestazioni di stati ecologici differenti, non

sono state ancora ben chiarite le eventuali differenze ecologiche espresse da dominanze diverse all'interno dei singoli gruppi tassonomici. Orfanidis & al.(2001) giudicano allo stesso livello qualitativo una dominanza a *Ruppia sp.* ed a *Cymodocea sp.*. Al contrario, studi precedenti svolti in altre lagune italiane (Lenzi et al., 1998) hanno mostrato la presenza di *Ruppia sp.* in stadi trofici di instabilità ed autori come Duarte (1995) e Kautsky (1988) le hanno assegnato un ruolo ecologico di “*ruderales*”. Per chiarire questa differente interpretazione, in maniera non equivoca, lo studio ha considerato un' ampia serie di parametri ecologici sia delle acque che dei sedimenti, ma con una particolare attenzione a quest'ultimi, ponendosi anche l'obiettivo di trovare altri buoni descrittori che potessero diventare efficaci indicatori di stato.

### Area di Studio

Lo studio si è svolto nei laghi costieri di Caprolace e Fogliano, che fanno parte del sistema dei laghi Pontini. Essi sono localizzati lungo la costa laziale, tra i Comuni di Latina e di Sabaudia, e fanno entrambi parte del Parco Nazionale del Circeo.

Il lago di Caprolace ha una superficie di 226 ha, una profondità media di circa 1,3 metri (massima 2,9 metri). E' alimentato prevalentemente dal mare attraverso la Foce di San Nicolò ed il tempo di ricambio teorico è di circa 90 giorni; la massima escursione di marea misurata è di 21 cm e la salinità varia tra 32.3 e 42.4 ‰.

Il lago di Fogliano ha una superficie di 408 ha, una profondità media di 0,89 metri (massima 2 metri). Attualmente è alimentato quasi del tutto dal mare attraverso la Foce del Duca ed il ricambio teorico è stimato in un tempo di 60 giorni; la massima marea è di 23 cm e la salinità varia tra 28.5 e 48.9 ‰. In precedenza era attiva anche un'altra foce comunicante con lo sbocco a mare del canale Rio Martino che alimentava il lago con acque dolci. Tale foce è stata chiusa agli inizi degli anni '80 circa per la cattiva qualità delle acque fluviali, ma la chiusura non è completamente ermetica.

In entrambi i laghi, la mancanza d'apporti d'acque dolci, ha determinato una situazione di ipersalinità con valori quasi sempre superiori alla salinità del mare. Nei due siti sono state selezionate 9 stazioni di prelievo tenendo conto delle caratteristiche della vegetazione bentonica e di un'adeguata copertura spaziale (Fig.1).

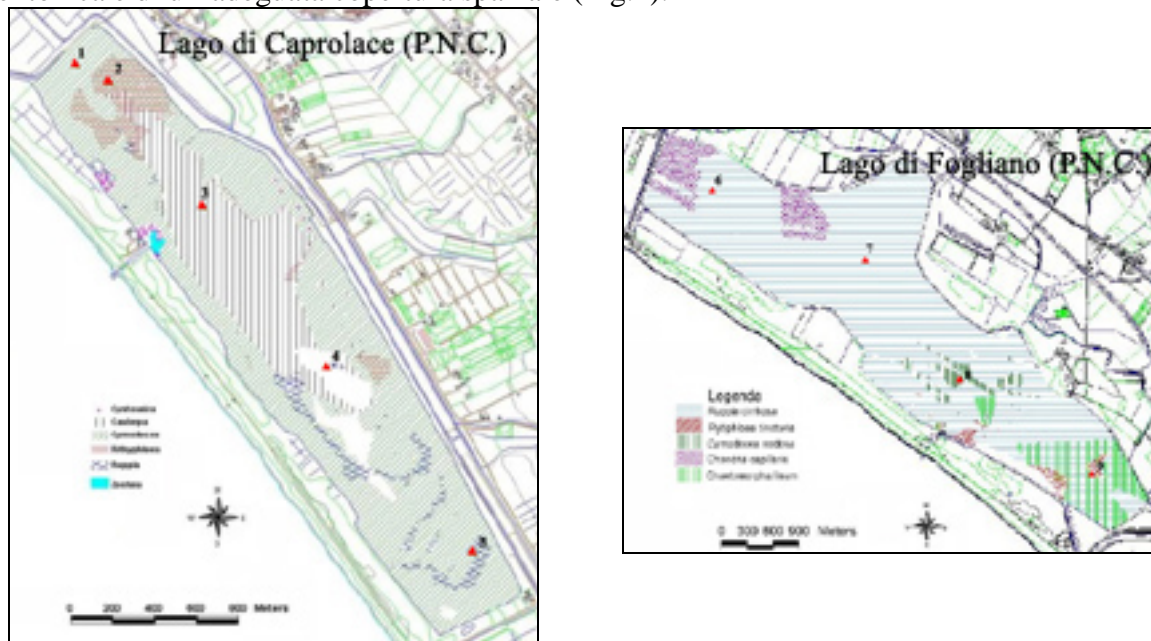


Figura 1. Mappe dei laghi costieri di Caprolace e Fogliano. I triangoli rossi numerati identificano le 9 stazioni scelte.

## **MATERIALI E METODI**

### **Analisi in colonna d'acqua**

Le analisi in colonna d'acqua sono state effettuate mensilmente.

Nelle stazioni di entrambi i laghi misure giornaliere di temperatura, salinità, pH e ossigeno disciolto sono state effettuate con sonda CTD Hydrolab.

L'analisi dei nutrienti è stata effettuata su tutte le stazioni. I campioni d'acqua (un litro) sono stati prelevati a metà battente e trasferiti in borsa termica in laboratorio, filtrati su membrana Millipore (0.22  $\mu\text{m}$ ) e congelati. La concentrazione dei nutrienti è stata misurata tramite la tecnica del Flow Injection Analysis (FIA), un'analisi spettrofotometrica a flusso continuo (Lachat Chemicals Inc. Instrument).

Le concentrazioni di:

- ortofosfati sono state determinate secondo il metodo della riduzione con Acido Ascorbico con sistema automatizzato (A.P.H.A., 1989);
- nitriti sono state determinate per diazotazione con sulfanilammide secondo il metodo colorimetrico (A.P.H.A., 1989);
- nitrati sono state determinate secondo il metodo della riduzione con colonna al Cadmio con sistema automatizzato (A.P.H.A., 1989);
- ione ammonio sono state determinate secondo il metodo del Fenolato con sistema automatizzato (A.P.H.A., 1989).

L'analisi del solfato è stata effettuata con la cromatografia ionica.

La stima della clorofilla "a" è stata effettuata con il metodo spettrofotometrico (Nova Thalassia, 1990, Volume 11).

### **Analisi nel sedimento.**

Sono state prelevate 20 carote superficiali di sedimento (2 cm di profondità; contenuto 50 ml) per stazione tramite un campionatore ENEA. I campioni sono stati posti immediatamente in giara anaerobica ed in borsa termica, trasportati in laboratorio e qui trattati all'interno di una cappa anaerobica, in modo diverso a seconda dell'analisi da effettuare.

La porosità è stata stimata dalla perdita in peso a 70°C di un volume noto di sedimento.

Per le analisi dei nutrienti nei sedimenti, le porzioni terminali delle carote di ogni stazione sono state riunite, miscelate e congelate. Successivamente i campioni sono stati scongelati, liofilizzati, setacciati a 2mm, macinati, ed infine chiusi in contenitori ermetici e congelati.

Le analisi dei nutrienti nei sedimenti sono state effettuate stagionalmente.

Le analisi del carbonio totale e dell'azoto totale sono stati effettuati con il CHN (Elemental Analyzer CHN mod. 1106 - Carlo Erba)

L'analisi del carbonio inorganico è stata effettuata mediante calcimetro di Dietrich-Fruehling (I.S.N.P., 2000). Il carbonio organico è stato calcolato per differenza.

Le analisi del fosforo totale e inorganico sono state effettuate secondo Aspila et al. (1976). Il fosforo organico è stato calcolato per differenza.

La concentrazione delle proteine, dei carboidrati e dei lipidi è stata determinata secondo Pusceddu et al. (2003).

Le tre principali classi biochimiche sono state quindi convertite in equivalenti di carbonio, moltiplicando per opportuni fattori di conversione (Fabiano et al., 1995). La loro somma è stata quindi chiamata frazione biopolimerica del carbonio (BPC sensu Fabiano e Danovaro, 1994), e assunta come stima affidabile della frazione più labile della sostanza organica, ovvero quella frazione prontamente disponibile per i detritivori.

Il rapporto BPC/OC, espresso in percentuale, è stato invece usato come indice di "qualità trofica", ed il rapporto tra proteine e carboidrati (PRT/CHO) come indicatore dell'età della sostanza organica (Fabiano et al., 1997).

Il carbonio organico di origine autotrofa è stato determinato mediante il dosaggio dei pigmenti fotosintetici dei sedimenti (Chl a e feopigmenti) e moltiplicando le relative concentrazioni per un opportuno fattore di conversione.

Il rapporto carbonio autotrofo/BPC è stato utilizzato come stima della quantità di sostanza organica disponibile per i livelli trofici successivi (Pusceddu et al., 1999).

Il pool labile del ferro è stato determinato, bimensilmente, tramite estrazioni di 1g di sedimento con HCl 0,5M per 12 ore in agitazione. Dopo filtrazione il ferro ferroso è stato determinato con il metodo del TPTZ (Dougan, W. K.; Wilson, A. L. 1973). Il ferro totale è stato determinato con lo stesso metodo previa riduzione del ferro ferrico con idrossilammina. La concentrazione del ferro ferrico è stata calcolata per differenza. La stima della capacità chimica tampone del sedimento è stata effettuata in accordo con Azzoni et al. (2005) secondo l'equazione  $\beta L = [LFe(II)-AVS] + 1,5 \times LFe(III)$ .

Per l'analisi dei solfuri acido volatili (AVS), 5 g circa di sedimento fresco, prelevato in camera anaerobica dalle porzioni centrali delle carote di ogni stazione, sono stati fissati in una soluzione alcalina di 40ml di ZnSO<sub>4</sub> (0.1M) e 40 ml di Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.1 M). Gli AVS sono stati misurati per via iodimetrica (Quaderni IRSA C.N.R., 1986) come solfuri rilasciati dal sedimento dopo l'aggiunta di 20 ml di acido solforico concentrato (conc.finale 0,5M). la determinazione degli AVS è stata determinata bimensilmente.

#### **Analisi delle attività metaboliche.**

Le porzioni centrali (10ml) delle carote di ogni stazione sono state riunite in una miscela omogenea in cappa anaerobica. La misura dell'attività di solfato riduzione batterica è stata effettuata mensilmente mediante l'impiego del tracciante radioattivo <sup>35</sup>SO<sub>4</sub> secondo il metodo di Rosser e Hamilton (1983).

#### **Macrofitobenthos.**

La mappatura della vegetazione bentonica è stata effettuata, mediante un visore ottico, associata all'uso dei sistemi G.P.S. e G.I.S (D'Archino, 2001).

La misura della biomassa è stata effettuata in tre stagioni su un quadrato 50x50 cm. Il materiale, è stato raccolto manualmente, trasportato direttamente in laboratorio in contenitori termici, smistato e ripulito da epifiti e corpi estranei, sciacquato sotto acqua corrente per rimuovere i sali in eccesso, tamponato delicatamente con carta assorbente, pesato e messo in stufa a 70 °C fino al raggiungimento del peso costante. L'indice proposto da Orfanidis & al. (2001) è stato applicato attribuendo le specie trovate e la relativa copertura a due Gruppi di Stato Ecologico (ESG): nel primo (ESGI) sono raggruppate le forme degli ultimi stadi successionali, nel secondo(ESGII), quelle opportuniste. Riportando in matrice le abbondanze medie (%) dei due ESG si determina lo stato ecologico di ogni porzione dell'ecosistema, lo si traduce in un numero in base ad un sistema di punteggio (Bricker et al., 1999), si moltiplica per la superficie dell'area considerata rispetto al totale e i valori ottenuti si sommano per definire l'EEI dell'intera area. Le classi assegnate in base a questo sistema sono cinque, da High a Bad.

#### **Macrozoobenthos**

In ogni stazione è stato effettuato un campionamento stagionale. I campioni sono stati prelevati su fondo molle (benna Van Veen, 0,1 m<sup>2</sup>), setacciati (Ø 1mm), fissati (formalina tamponata al 10%), smistati, conservati (etanolo 70%). I taxa sono stati identificati fino al più basso livello tassonomico possibile (Castelli et al., 2003). Sono state valutate la ricchezza in taxa e specie, le densità (n° ind/0,1 m<sup>2</sup>), l'indice di diversità H' (Shannon & Weaver, 1949). E' stata effettuata un'analisi multivariata mediante Cluster Analysis e MDS non parametrico (Multidimensional Scaling), basata sul coefficiente di similarità di Bray-Curtis. Per tale

analisi i dati di abbondanza delle specie rinvenute sono stati trasformati mediante radice quadrata (Clarke & Warwick, 1994). Sono stati, inoltre, applicati gli indici biotici AMBI (Borja et al., 2000; Borja et al., 2003; Muxica et al., 2005) e BENTIX (Simboura & Zenetos, 2002) che propongono una classificazione dello stato ecologico.

L'indice AMBI (Borja et al., 2000) è basato su modelli ecologici (Glémarec & Hily, 1981) e considera le strategie adattative e le risposte delle comunità bentoniche all'arricchimento organico (Pearson & Rosenberg, 1978; Salen-Picard, 1983) utilizzando una classificazione in 5 gruppi ecologici: GI) specie molto sensibili all'arricchimento organico, GII) specie "indifferenti" all'arricchimento organico, GIII) specie tolleranti all'eccesso di materia organica, GIV) specie opportuniste di secondo ordine, GV) specie opportuniste di primo ordine. Si considera l'applicazione della formula

$$\text{AMBI} = \{(0 \times \% \text{GI}) + (1.5 \times \% \text{GII}) + (3 \times \% \text{GIII}) + (4.5 \times \% \text{GIV}) + (6 \times \% \text{GV})\} / 100$$

I valori di AMBI variano da 0 a 7.

L'elemento che contraddistingue l'indice BENTIX (Simboura & Zenetos, 2002; UNEP 2005) è la riduzione in due gruppi ecologici. Il primo gruppo (GS) comprende sia specie sensibili al disturbo ambientale, a strategia ecologica K, sia specie "indifferenti" a stress ambientali, presenti sempre in basse densità e che non mostrano variazioni significative nel tempo. Il secondo gruppo (GT) comprende le specie tolleranti, a strategia r, le cui popolazioni rispondono all'arricchimento organico o ad altro tipo di disturbo ambientale con un aumento delle densità. Appartengono a GT le specie pioniere, colonizzatrici, tolleranti all'ipossia. Tale riduzione del numero dei gruppi ecologici ridurrebbe le probabilità di errore nell'attribuzione dei taxa ad essi (Simboura, 2004). L'algoritmo per il calcolo dell'indice è:

$$\text{BENTIX} = (6 \times \% \text{GS}) + 2 \times (\% \text{GT}) / 100$$

Il valore dell'indice può variare in una serie continua di valori da 2 a 6; si ha il valore di BENTIX = 0 quando la comunità è azoica, con l'assenza di ambedue i gruppi ecologici.

Il sistema di classificazione dello stato ecologico proposto da AMBI e BENTIX si articola in 5 livelli (high status, good status, moderate status, poor status, bad status) (Muxika et al., 2005; UNEP 2005).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### Nutrienti nelle acque

I risultati dell'analisi dei nutrienti mettono in evidenza basse concentrazioni di TIN (azoto inorganico totale) ed ortofosfato in entrambe le lagune con valori medi, rispettivamente, di circa 80 µg/l e di circa 7 µg/l. Nel lago di Fogliano i valori di azoto ammoniacale risultano più elevati (Tab.1).

Tabella 1. Valori medi annui dei nutrienti disciolti in colonna d'acqua nei laghi costieri di Caprolace e Fogliano riportati per stazione.

SITO	STAZIONE	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> µg/l	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> µg/l	NO <sub>3</sub> <sup>=</sup> µg/l	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> µg/l
CAPROLACE	1	8,8 ± 2,3	2,2 ± 0,2	48,7 ± 9,6	17,2 ± 2,0
	2	7,7 ± 1,3	2,4 ± 0,3	67,4 ± 10,7	24,4 ± 2,9
	3	6,8 ± 1,3	2,2 ± 0,1	55,6 ± 8,8	16,4 ± 2,9
	4	7,0 ± 1,5	2,1 ± 0,1	56,2 ± 11,3	18,4 ± 2,7
	5	6,4 ± 1,5	2,2 ± 0,2	54,0 ± 9,9	16,7 ± 2,2
FOGLIANO	6	9,5 ± 2,6	2,1 ± 0,1	44,5 ± 8,8	32,1 ± 10,7
	7	7,7 ± 2,2	2,0 ± 0,0	52,2 ± 10,6	31,7 ± 10,8
	8	4,3 ± 1,0	2,2 ± 0,2	48,9 ± 9,0	24,8 ± 6,3
	9	7,0 ± 2,4	3,1 ± 0,6	56,7 ± 13,2	25,8 ± 6,0

### *Clorofilla "a"*

La concentrazione della Clorofilla "a" in colonna d'acqua è complessivamente maggiore nel lago di Caprolace che in quello di Fogliano. Nel lago di Fogliano, inoltre, non si hanno variazioni significative: i valori si mantengono pressoché costanti durante tutto l'anno, presentando deboli oscillazioni intorno ad un valor medio di 3 mg/m<sup>3</sup>. Nel lago di Caprolace, invece, si hanno valori più elevati (circa 10 mg/m<sup>3</sup>) ed oscillazioni più ampie con due evidenti aumenti in primavera ed autunno. Rispetto alla disponibilità di nutrienti, nel lago di Caprolace, la biomassa fitoplanctonica stimata rispecchia quella attesa, mentre nel lago di Fogliano, quella stimata risulta molto inferiore all'attesa. Tale risultato viene interpretato come un effetto inibitorio della *Ruppia c.*. La produttività maggiore di questi due laghi, infatti, è certamente rappresentata dalle fanerogame bentoniche: la *Ruppia c.*, a Fogliano e la *Cymodocea n.* a Caprolace. *Ruppia c.* nel periodo estivo, si accresce fino ad occupare l'intera colonna d'acqua, fino al limite superiore del lago, agendo, quindi, da competitore diretto per l'assorbimento dei nutrienti e della luce ed inibendo lo sviluppo delle forme microalgali attraverso il rilascio di sostanze allelopatiche (Della Greca et al., 2000; Pedersen O., 2002; Gross, 2003; Takamura et al., 2003.). Anche la *Cymodocea n.* rilascia sostanze citotossiche (cymodienolo e cymodiene) ad azione antiproliferativa. (Kontiza I. et al., 2005). Tuttavia, dato il suo ridotto sviluppo verticale, l'azione di queste sostanze potrebbe essere limitata al distretto del fondo esercitando, quindi, un'azione meno efficace negli strati superficiali.

### *Nutrienti nei sedimenti*

La quantità e qualità della materia organica nei sedimenti marini rappresentano, notoriamente, uno dei fattori principali che influiscono su metabolismo, distribuzione e dinamica degli organismi bentonici, dai batteri alla megafauna. D'altronde, la quantità da sola si è rivelata poco attendibile nel determinare l'effettiva disponibilità trofica per i consumatori (Fabiano et al., 1995; Dell'Anno et al., 2000). La sostanza organica nei sedimenti marini è, infatti, composta da molecole labili e da molecole refrattarie, la cui relativa importanza può avere profonde implicazioni per la diagenesi ed il turnover della materia organica stessa. Poiché la disponibilità trofica dipende largamente dall'origine e composizione biochimica della sostanza organica, studi recenti hanno stimato la frazione disponibile del pool organico nei sedimenti attraverso la determinazione delle principali classi biochimiche di composti organici (carboidrati, proteine e lipidi), i quali sono presumibilmente più facilmente digeriti ed assimilati (Danovaro et al., 1993).

Dall'insieme delle analisi della sostanza organica nei sedimenti risulta che la laguna di Caprolace ne possiede quantità quasi doppie di quelle di Fogliano, come evidenziato dalla maggior parte dei risultati. I risultati delle analisi del carbonio ed azoto nei sedimenti sono riportate in Tabella 2 ed evidenziano una chiara differenziazione tra le due lagune, sia per quanto riguarda il carbonio totale (TC) e l'azoto totale (TN), che il carbonio organico (OC). Mediamente la concentrazione del TC nei sedimenti di Caprolace è stata di 143.25 mgC/g (ES ± 9.06) contro gli appena 80,1 mgC/g (ES ± 4.4) di Fogliano. Situazione analoga per quanto riguarda il TN, con 12.27 mgN/g (ES ± 1.01) a Caprolace e 7.17 mgN/g (ES ± 0.91) a Fogliano. Non si osservano variazioni (stagionali) rilevanti, sia per il TC che il TN. L'OC mostra un andamento analogo a quello del TC, con in media 132.98 mgC/g (ES ± 10.67) a Caprolace e 70.91 mgC/g (ES ± 4.97) a Fogliano (Fig.2).

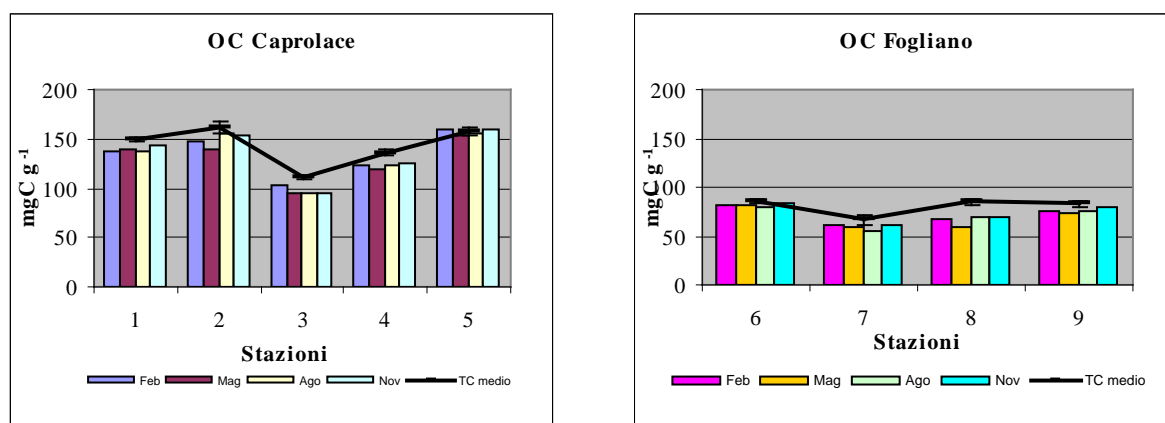


Figura 2. Andamento del Carbonio Organico (OC) e del Carbonio Totale (TC) nei laghi costieri di Caprolace e Fogliano.

La concentrazione delle proteine risulta più elevata a Caprolace (mediamente 45.61 mg/g; ES  $\pm$  3.29) che non a Fogliano (in media 35.24 mg/g; ES  $\pm$  1.40). L'andamento stagionale della concentrazione di proteine (PRT) nel sedimento mostra una crescita in tarda primavera ed un successivo decremento, soprattutto nei mesi più freddi, più evidente a Caprolace che non a Fogliano.

Le concentrazioni dei carboidrati presenti a Caprolace sono più del doppio rispetto a Fogliano, con una media di 46,58 mg/g (ES  $\pm$  3.22) nella prima e 20,93 mg/g (ES  $\pm$  1.68) nella seconda laguna; non si osservano variazioni stagionali rilevanti.

I lipidi mostrano differenze quasi del 50% tra le due lagune, presentando una media di 7.51 mg/g (ES  $\pm$  0.30) a Caprolace e 5.22 mg/g (ES  $\pm$  0.58) a Fogliano. Non si evidenziano variazioni stagionali significative per quanto riguarda Caprolace, mentre a Fogliano si nota un chiaro decremento delle concentrazioni, da maggio ad agosto, per poi risalire di nuovo.

Queste differenze nette tra le due lagune non risultano invece evidenti per quanto riguarda il fosforo ed il carbonio autotrofo (Autotr. C). Infatti, le concentrazioni medie annuali di quest'ultimo sono rispettivamente di 7.6 mgC/g (ES  $\pm$  0.28) a Caprolace e 7.45 mgC/g (ES  $\pm$  0.7) a Fogliano. Si osserva un aumento a maggio, mentre i valori più bassi si registrano ad agosto (Tab.2) e nelle stazioni che si trovano davanti alle foci (particolarmente evidente a Fogliano), in tutte e quattro le stagioni. Anche il fosforo totale non evidenzia grandi differenze tra le lagune, infatti è presente nei sedimenti di Caprolace mediamente con 400.98 mg/kg (ES  $\pm$  20.25), contro i 360.74 mg/kg (ES  $\pm$  20.56) di Fogliano. Generalmente le concentrazioni più basse si riscontrano presso le stazioni più vicine alla foce (come già osservato per carbonio ed azoto), molto probabilmente a causa del maggior idrodinamismo (Incera et al., 2003) e della granulometria.

Quindi i risultati fin qui riportati, rappresentativi della quantità della sostanza organica e delle sue principali classi biochimiche, indicherebbe una maggiore trofia del lago di Caprolace.

D'altronde, anche nel caso del carbonio biopolimerico, le concentrazioni risultano più elevate a Caprolace (in media 46.61 mgC/g, ES  $\pm$  2.82) che non a Fogliano (in media 29.55 mgC/g, ES  $\pm$  1.37). L'andamento stagionale segue quello già osservato per le proteine, mostrando una crescita in tarda primavera e un successivo decremento, soprattutto nei mesi più freddi, più evidente a Caprolace che non a Fogliano. Va comunque sottolineato che le concentrazioni del BPC e delle sue componenti risultano essere le più alte riportate in bibliografia (Pusceddu et al., 1999).



A Caprolace il carbonio biopolimerico è composto mediamente dal 47.84% (ES  $\pm$  0.78) di proteine, il 39.99% (ES  $\pm$  0.65) di carboidrati ed il 12,17 % (ES  $\pm$  0.28) di lipidi. A Fogliano, invece, le proteine costituiscono in media ben il 58.38% (ES  $\pm$  2.52) del BPC, mentre carboidrati e lipidi solo il 28.84% (ES  $\pm$  1.88) ed il 12.78% (ES  $\pm$  1.30) rispettivamente. I carboidrati risultano quindi percentualmente meno “importanti” a Fogliano. Comunque le proteine rappresentano sempre la principale classe biochimica, e i lipidi quella meno importante. Va inoltre notato il *trend* stagionale, che mostra un incremento percentuale delle proteine nei mesi di maggio e agosto in entrambe le lagune (Fig.3).

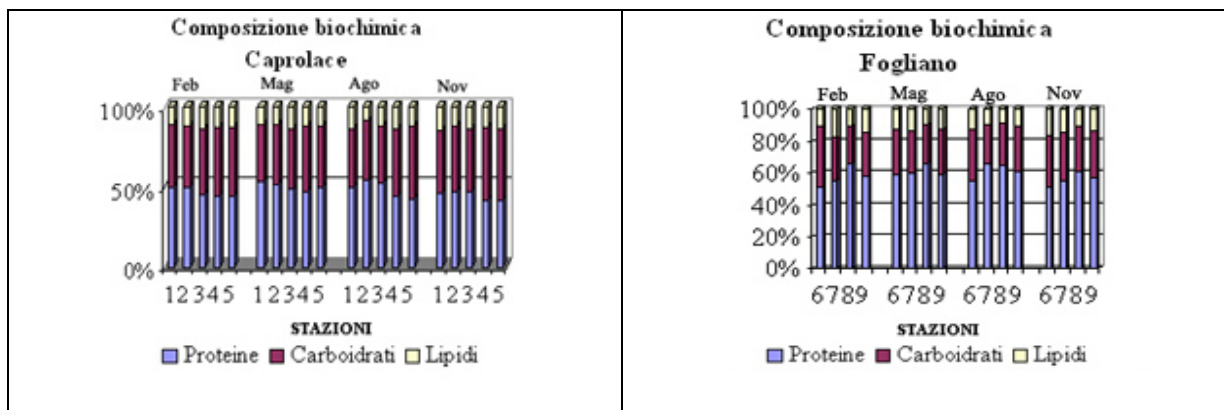


Figura 3. Composizione percentuale di proteine, carboidrati e lipidi nel BPC nei laghi costieri di Caprolace e Fogliano.

I valori ottenuti dal rapporto proteine/carboidrati a Fogliano risultano quasi il doppio di quelli di Caprolace, con una media di 1.71 (ES  $\pm$  0.12) e 0.98 (ES  $\pm$  0.05) rispettivamente. A Caprolace, quindi, tale rapporto resta mediamente sotto a 1, suggerendo che il sedimento della laguna sia caratterizzato da una grande quantità di sostanza organica più “datata” e/o morta (Pusceddu et al., 1999). Le proteine, infatti, risultano essere mineralizzate dai batteri più rapidamente rispetto ai carboidrati (Newell and Field, 1983), per cui elevate concentrazioni di PRT indicano una sostanza organica fresca (non ancora attaccata dai batteri). L’andamento stagionale mostra un aumento in primavera ed estate, seguito da un successivo decremento nei mesi più freddi. Questo trend non viene tuttavia osservato nella stazione 8 di Fogliano (davanti la foce), in cui si ha invece un valore massimo a febbraio (di 2.27) ed un regolare decremento nelle stagioni successive.

Anche il rapporto tra BPC ed OC risulta essere più elevato a Fogliano rispetto a Caprolace (Fig.4), rispettivamente con una media 49.95% (ES  $\pm$  1.54) e 35.38 (ES  $\pm$  1.61). A Caprolace, quindi, il carbonio biopolimerico contribuisce solo con una frazione relativamente modesta al carbonio organico totale. Gran parte di quest’ultimo (dal 55 al 70% circa) risulta dunque essere refrattario e tenderà ad essere seppellito negli strati più profondi (Cividanes et al., 2002). Ciò suggerisce una minore biodisponibilità (intesa come “qualità trofica”) a Caprolace rispetto a Fogliano. In entrambe le lagune si osserva un incremento a maggio (in accordo con quanto osservato per il rapporto PRT/CHO), seguito da un successivo calo che porta ai valori minimi di novembre.

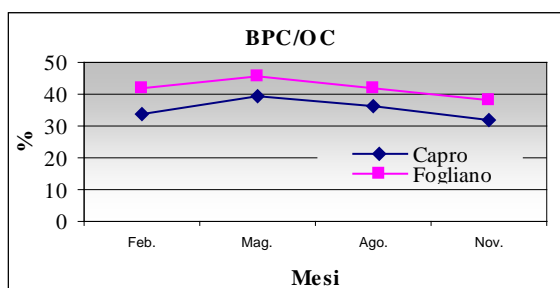


Figura 4. Andamento stagionale del rapporto BPC/OC nei laghi costieri di Caprolace e Fogliano.

Infine è interessante notare come il contributo autotrofico (A. CONTR.), ossia quanto il carbonio autotrofo contribuisce, in percento, a formare il BPC, sia nettamente più elevato a Fogliano che a Caprolace, con una media del 25.16% (ES  $\pm$  1.89) e 16.46% (ES  $\pm$  0.68) rispettivamente (Tab.2), suggerendo un maggior input di sostanza organica primaria nella prima laguna (Pusceddu et al., 1999). Poiché a Fogliano il contributo fitoplanctonico risulta essere trascurabile, è molto probabile che questo maggior input di sostanza organica primaria derivi dalla *Ruppia c.*, che rappresenta la vegetazione dominante. In questo genere (e in diverse alofite, con particolare riferimento a quelle che vivono in ambienti acquatici iperalini), è stata dimostrata la presenza di un aminoacido, la prolina, che accumulandosi nel citoplasma, metterebbe in atto un “meccanismo di difesa” permettendo alle stesse una più elevata alotolleranza; sembra infatti che la sua presenza possa controbilanciare le alte concentrazioni saline presenti nei loro fluidi vacuolari (Stewart e Lee, 1974; Cavalieri e Huang, 1979). Anche gli studi condotti su *Ruppia sp.* (Brock, 1981; 1982) dimostrano che i livelli di prolina aumentano con l'aumentare della salinità nell'habitat. Questo adattamento potrebbe giustificare il maggior rapporto PRT/CHO e l'origine del contributo autotrofo nel lago di Fogliano.

In conclusione, anche se il BPC è stato proposto come indicatore di stato trofico per le acque marine costiere (Dell'Anno et al., 2002), non sembra dare risposte altrettanto valide per i sistemi di transizione. Risulta comunque utile ad approfondire la conoscenza su “qualità” e biodisponibilità della sostanza organica. D'altronde, la composizione biochimica dei sedimenti a Fogliano, così come il maggior rapporto PRT/CHO, BPC/OC ed il contributo autotrofo, indicherebbero una sostanza organica più “fresca” e biodisponibile (Cividanes et al., 2002; Fiordelmondo et al., 2003) mentre a Caprolace prevale un detrito organico più refrattario proveniente dalla produzione primaria della *Cymodocea n.*, che, non essendo direttamente disponibile per i consumatori bentonici, tende ad accumularsi come “humus” o sostanza organica complessa. Probabilmente è proprio questo il motivo per cui il BPC, da solo, non dà una indicazione soddisfacente sullo stato trofico delle lagune (si veda anche Dell'Anno et al. 2000; Manini et al., 2003): non viene infatti considerata l'importanza dei carboidrati strutturali, più refrattari (Vichkovitten e Holmer, 2004) e particolarmente abbondanti in sistemi a dominanza di fanerogame (Danovaro, 1996; Manini et al., 2003) che fanno aumentare la frazione biopolimerica, senza però accrescere realmente la disponibilità trofica.

Tabella 2. Concentrazioni di TC, TN, OC, PRT, CHO, LIP, BPC, PRT/CHO, Autotr C e A. contr nei sedimenti dei laghi costieri di Caprolace e Fogliano.

MESE	LAGO	STAZIONE	TN mg g <sup>-1</sup>	TC mg g <sup>-1</sup>	OC mg g <sup>-1</sup>	PRT mg g <sup>-1</sup>	CHO mg g <sup>-1</sup>	LIP mg g <sup>-1</sup>	BPC mg C g <sup>-1</sup>	PRT:CHO	AUTOTR. C mgC g <sup>-1</sup>	A. CONTR %
FEBBRAIO 2004	Caprolace	1	12,2 ± 3,0	148,3 ± 8,7	136,4 ± 8,7	45,9 ± 2,6	43,8 ± 1,1	6,5 ± 0,5	44,9 ± 2,1	1,0	7,7 ± 0,7	17,3
		2	13,7 ± 2,1	158,9 ± 7,8	147,9 ± 7,8	52,0 ± 4,7	49,4 ± 1,8	7,7 ± 0,2	51,0 ± 3,2	1,1	8,5 ± 0,95	16,9
		3	9,2 ± 0,0	115,1 ± 5,0	102,2 ± 5,0	32,4 ± 3,4	36,2 ± 1,3	6,3 ± 0,7	35,1 ± 2,7	0,9	7,5 ± 0,8	21,4
		4	10,8 ± 0,0	136,9 ± 3,0	123,7 ± 3,0	38,7 ± 2,0	44,9 ± 1,5	7,2 ± 0,5	42,3 ± 2,1	0,9	7,9 ± 0,21	18,7
		5	14,3 ± 1,0	161,7 ± 8,4	160,5 ± 8,4	47,1 ± 1,8	55,9 ± 1,3	8,5 ± 0,5	51,8 ± 1,8	0,8	7,7 ± 0,14	14,9
	Fogliano	6	8,7 ± 0,6	86,1 ± 2,3	82,3 ± 2,3	34,7 ± 4,0	24,6 ± 1,0	7,8 ± 0,2	32,7 ± 2,5	1,4	9,6 ± 0,22	29,5
		7	6,5 ± 0,6	68,4 ± 9,4	60,8 ± 9,4	28,7 ± 0,5	17,9 ± 1,1	6,3 ± 0,4	25,9 ± 1,0	1,6	7,5 ± 0,4	29,0
		8	4,8 ± 2,0	87,3 ± 7,0	68,0 ± 7,0	41,4 ± 1,0	18,2 ± 1,1	4,3 ± 0,4	30,8 ± 1,2	2,3	5,8 ± 0,58	19,0
		9	7,5 ± 1,0	82,5 ± 6,0	76,0 ± 6,0	35,7 ± 5,6	20,8 ± 0,4	6,2 ± 0,1	30,5 ± 3,0	1,7	8,1 ± 0,8	26,4
MAGGIO 2004	Caprolace	1	13,4 ± 1,2	148,5 ± 11,9	140,0 ± 11,9	59,8 ± 5,1	48,0 ± 1,0	8,1 ± 0,2	54,6 ± 3,1	1,2	8,6 ± 0,74	15,7
		2	12,2 ± 2,5	155,1 ± 7,7	139,6 ± 7,7	59,6 ± 7,9	51,8 ± 2,4	8,0 ± 0,5	55,9 ± 5,3	1,1	9,4 ± 0,82	16,8
		3	8,6 ± 0,5	110,3 ± 6,5	95,1 ± 6,5	38,6 ± 3,4	36,6 ± 1,3	7,2 ± 0,1	38,9 ± 2,2	1,1	7,7 ± 0,44	19,7
		4	11,1 ± 0,3	132,6 ± 1,9	119,1 ± 1,9	46,8 ± 2,4	49,8 ± 2,7	7,4 ± 0,7	48,4 ± 2,8	0,9	9,3 ± 1,34	19,3
		5	13,8 ± 0,7	154,4 ± 2,6	153,3 ± 2,6	57,9 ± 5,9	54,8 ± 4,5	8,5 ± 0,3	56,7 ± 5,0	1,1	8,7 ± 0,46	15,4
	Fogliano	6	9,1 ± 0,3	85,3 ± 1,6	81,8 ± 1,6	44,1 ± 2,3	26,5 ± 1,7	6,5 ± 0,4	37,1 ± 2,1	1,7	9,9 ± 0,67	26,8
		7	6,5 ± 0,6	66,0 ± 2,7	60,1 ± 2,7	34,5 ± 3,2	19,1 ± 0,9	5,2 ± 0,0	28,4 ± 1,9	1,8	9,0 ± 0,59	31,7
		8	4,0 ± 0,4	77,4 ± 14,9	58,5 ± 14,9	35,6 ± 2,5	16,6 ± 1,8	3,5 ± 0,0	26,7 ± 1,7	2,1	6,4 ± 0,89	24,1
		9	7,5 ± 0,3	79,5 ± 1,5	73,1 ± 1,5	39,4 ± 2,8	23,4 ± 0,9	5,6 ± 0,3	32,9 ± 2,0	1,7	8,9 ± 0,24	27,2
AGOSTO 2004	Caprolace	1	14,3 ± 1,1	147,4 ± 9,1	138,2 ± 9,1	49,6 ± 1,6	44,9 ± 0,7	8,6 ± 0,4	48,7 ± 1,4	1,1	7,1 ± 0,56	14,7
		2	14,6 ± 1,0	165,6 ± 23,1	154,6 ± 23,1	61,4 ± 1,6	51,9 ± 1,8	6,2 ± 0,5	55,5 ± 1,8	1,2	7,8 ± 0,61	14,1
		3	9,3 ± 1,8	110,9 ± 25,0	94,2 ± 25,0	44,4 ± 3,2	36,1 ± 0,5	6,4 ± 0,6	41,0 ± 2,2	1,2	5,8 ± 0,64	14,1
		4	12,5 ± 0,5	136,0 ± 6,2	123,2 ± 6,2	38,9 ± 1,4	44,6 ± 0,6	7,4 ± 0,4	42,9 ± 1,3	0,9	6,8 ± 0,77	15,9
		5	16,1 ± 1,7	155,5 ± 15,1	154,6 ± 15,1	42,0 ± 0,8	55,6 ± 1,8	7,7 ± 0,4	48,6 ± 1,4	0,8	6,8 ± 0,58	14,0
	Fogliano	6	9,9 ± 0,8	82,7 ± 6,2	78,6 ± 6,2	33,0 ± 4,7	23,8 ± 0,9	5,1 ± 0,4	29,6 ± 2,9	1,4	7,3 ± 0,34	24,8
		7	7,0 ± 2,4	64,0 ± 3,8	55,7 ± 3,8	35,0 ± 1,6	16,1 ± 0,5	3,6 ± 0,1	26,3 ± 1,1	2,2	6,0 ± 0,45	23,0
		8	6,16 ± 0,9	87,6 ± 28,1	70,3 ± 28,1	39,6 ± 4,6	20,4 ± 1,1	3,7 ± 0,3	30,4 ± 2,9	1,9	5,0 ± 0,05	16,4
		9	8,4 ± 0,2	82,5 ± 4,2	75,7 ± 4,2	35,9 ± 3,1	21,2 ± 0,0	4,3 ± 0,6	29,3 ± 2,0	1,7	7,5 ± 0,21	25,7
NOVEMBRE 2004	Caprolace	1	13,2 ± 0,3	152,9 ± 2,6	143,2 ± 2,6	44,1 ± 1,2	45,6 ± 1,2	8,8 ± 0,4	46,4 ± 1,3	1,0	7,1 ± 0,43	15,2
		2	13,2 ± 0,8	166 ± 10,8	153,4 ± 10,7	47,1 ± 0,6	50,0 ± 1,2	7,9 ± 0,4	49,0 ± 1,1	0,9	8,2 ± 0,17	16,7
		3	8,1 ± 0,6	109,2 ± 4,5	95,3 ± 4,5	32,6 ± 0,8	33,2 ± 1,2	6,1 ± 0,6	33,9 ± 1,3	1,0	5,8 ± 0,15	17,3
		4	10,9 ± 0,7	139,7 ± 2,9	126,1 ± 2,9	33,8 ± 2,1	45,9 ± 0,5	6,5 ± 0,4	39,7 ± 1,5	0,7	7,0 ± 0,36	17,5
		5	14,0 ± 0,1	160,0 ± 3,6	158,8 ± 3,6	39,2 ± 0,9	52,8 ± 0,3	8,2 ± 1,2	46,5 ± 1,4	0,7	6,3 ± 0,52	13,6
	Fogliano	6	9,3 ± 1,1	88,4 ± 3,8	83,4 ± 3,8	31,4 ± 1,8	25,7 ± 0,9	6,9 ± 0,6	30,8 ± 1,7	1,2	9,1 ± 0,58	29,7
		7	6,6 ± 0,5	69,2 ± 5,4	60,5 ± 5,4	26,5 ± 2,5	18,2 ± 0,4	4,8 ± 0,3	23,8 ± 1,7	1,5	6,4 ± 0,26	26,9
		8	4,9 ± 1,9	86,6 ± 39,9	69,3 ± 39,9	33,7 ± 1,7	19,4 ± 0,7	3,9 ± 0,2	27,2 ± 1,3	1,7	5,2 ± 0,38	19,1
		9	8,0 ± 0,5	88,3 ± 5,2	80,4 ± 5,2	34,5 ± 1,1	22,6 ± 0,1	5,6 ± 0,2	30,2 ± 0,7	1,5	7,0 ± 0,26	23,2

## Processi biogeochimici

La mineralizzazione della sostanza organica negli ambienti marini avviene attraverso l'utilizzo di una serie di accettori di elettroni tra cui i più importanti sono l'ossigeno, il nitrato ed il solfato. L'ossigeno è generalmente presente alla saturazione in concentrazione di circa 8mg/l, il nitrato è in concentrazioni che vanno da 100 a 1000 µgl (~70µg/l nel nostro studio), il solfato ha concentrazioni di circa 2 g/l. Gli ossidanti, su base termodinamica e quindi teorica, vengono usati in maniera sequenziale sia spazialmente che temporalmente: negli ecosistemi lagunari la disomogeneità spaziale e la loro ampia differenza nella disponibilità fa sì che vengano utilizzati contemporaneamente, ma la vera alternativa è tra ossigeno e solfato. L'ossigeno se pur presente in acqua in bassa concentrazione, viene ricambiato continuamente attraverso gli scambi con l'atmosfera ed i processi fotosintetici in colonna d'acqua. Quindi quando il tasso di consumo è inferiore al tasso di ricambio l'ambiente acquatico è sufficientemente ossigenato, altrimenti la mineralizzazione fa ricorso al nitrato ed al solfato. Di notte, il tasso di ricambio è molto minore e la probabilità, quindi, che vengano usati gli ossidanti alternativi è maggiore; inoltre questa probabilità è sempre maggiore nelle parti più profonde della colonna d'acqua. Il prodotto finale della solfato riduzione, l'idrogeno solforato, è un composto estremamente tossico che può avere rilevanti impatti a livello di popolazione, di comunità e di ecosistema (Koch et al., 1990; Heijs et al., 2000; Kock & Erskine, 2001). In particolare è ben conosciuta la sua influenza sulla produttività e la sopravvivenza delle fanerogame (Carlson et al., 1994; Goodman et al., 1995; Holmer & Bondgaard, 2001). Tuttavia nella rizosfera delle fanerogame esistono due possibili meccanismi che possono prevenire l'accumulo di solfuro libero. Da una parte le stesse fanerogame, tramite uno sviluppato sistema interno lacunale, trasportano ossigeno dalle foglie ai tessuti ipogei, per supportare la respirazione; parte di questo ossigeno, per diffusione, può essere ceduto dalle radici al sedimento dove può contribuire alla riossidazione biotica ed abiotica dei composti ridotti dello zolfo. Tale processo, conosciuto come perdita radiale dell'ossigeno, dipende, tuttavia, da diversi fattori quali la capacità fotosintetica, l'estensione del sistema lacunale ed il rapporto tra porzione epigea ed ipogea. In particolare in condizioni di limitazione della luce quest'ultimo fattore è critico per la sopravvivenza delle piante (Hemminga, 1998). Quindi in condizioni di stress anossico la pianta non è più in grado di ossidare i sedimenti e nella parte ipogea si innesca la fermentazione; l'etanolo, uno dei prodotti finali della fermentazione, viene escreto dalle radici per prevenirne l'effetto tossico (Smith et al., 1988). Tale composto costituisce un substrato di carbonio specifico per i batteri solfato riduttori. Si può quindi instaurare uno dei possibili meccanismi che contribuiscono al "self-accelerating process" dell'eutrofizzazione in quanto il solfuro prodotto ulteriormente abbassa la produzione netta dell'ossigeno (Duarte, 1995; Goodman et al., 1995).

Dall'altra parte il solfuro libero, in particolare nei sedimenti anossici, può venire intrappolato nei sedimenti tramite precipitazione con ioni metallici, in particolare quelli del ferro formando i solfuri di ferro e la pirite, altamente insolubili (Canfield, 1989). Lo ione ferroso e quello ferrico sono presenti nei sedimenti sia in forma cristallina che amorfa (Lovley & Phillips, 1987). Il ferro ferrico reattivo, quello che può essere ridotto dall'idrogeno solforato o dai microrganismi del ferro, è quello amorfo. In questo *pool* il ferro ferrico consiste principalmente di FeOOH e il ferro ferroso è quello contenuto nei solfuri acido volatili (AVS). Quindi, la reazione con il ferro rappresenta un potenziale meccanismo "buffer" verso la tossicità dell'idrogeno solforato (Heijs and Gemerden, 2000; de Wit et al., 2001; Kanaya et al., 2004).

In questo studio vengono riportate le dinamiche stagionali dell'attività di solfato riduzione (SRB), dei solfuri acido volatili (AVS) e del *pool* del ferro labile nei sedimenti superficiali (0-2 cm) delle stazioni dei laghi costieri di Caprolace e Fogliano precedentemente descritte.

I valori medi e l'errore standard o il range di variazione delle variabili misurate sono riportate in tabella 3.

Tabella 3. Concentrazione media annuale di AVS, ferro labile totale, attività di solfato riduzione e  $\beta$ L nei sedimenti superficiali delle stazioni dei laghi costieri di Fogliano e Caprolace. Per gli AVS, LFe, Solf-rid e  $\beta$ L vengono riportate le concentrazioni medie annuali e l'errore standard (con n=24, n=18 e n=44 n=6 rispettivamente). Per AVS/LFe e  $\beta$ L sono riportati i valori massimo e minimo.

	St.	LFe $\mu\text{moli ml}^{-1}$	AVS $\mu\text{moli ml}^{-1}$	Solf-rid $\text{mmoli Sm}^{-2}\text{g}^{-1}$	AVS/LFe	$\beta$ L $\mu\text{moli ml}^{-1}$ (media, max. e min.)	
Caprolace	1	27,4 $\pm$ 0,9	15,8 $\pm$ 0,7	1,9 $\pm$ 0,4	0,43-0,76	11,8 $\pm$ 1,3	15,7-6,7
	2	14,7 $\pm$ 0,7	9,3 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,4	0,45-0,72	5,4 $\pm$ 0,7	8,1-3,4
	3	26,3 $\pm$ 3,1	10,6 $\pm$ 0,8	1,4 $\pm$ 0,3	0,35-0,53	17,3 $\pm$ 2	26,3-12,3
	4	37,7 $\pm$ 1,4	16,4 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 0,4	0,37-0,49	21,3 $\pm$ 0,8	23,9-19,1
	5	23,8 $\pm$ 1,1	16,8 $\pm$ 0,8	1,8 $\pm$ 0,3	0,56-0,84	7 $\pm$ 1,0	10,5-3,8
Fogliano	6	55,9 $\pm$ 3,0	26,7 $\pm$ 2,1	2,0 $\pm$ 0,4	0,27-0,67	29,1 $\pm$ 3,6	40,8-18,5
	7	49,9 $\pm$ 2,5	26,8 $\pm$ 1,4	2,0 $\pm$ 0,5	0,34-0,65	23,3 $\pm$ 2,6	33-16,8
	8	35 $\pm$ 1,5	12,1 $\pm$ 1,1	1,2 $\pm$ 0,3	0,17-0,55	22,8 $\pm$ 2,1	29,1-15,9
	9	47,2 $\pm$ 1,5	21,8 $\pm$ 2,6	1,7 $\pm$ 0,4	0,05-0,72	24,7 $\pm$ 5,5	44,7-13

L'attività SRB in entrambi i laghi mostra un pronunciato andamento stagionale con valori più elevati durante l'estate e minimi durante l'inverno e non si evidenziano significative differenze tra i due laghi costieri. Anche le stazioni, all'interno dello stesso lago, non presentano significative differenze eccetto per le stazioni localizzate in prossimità delle foci (St.3 per Caprolace e St.8 per Fogliano)( Fig. 5 e 6).

Tuttavia differenze significative tra i due laghi vengono evidenziate dai valori assoluti e dall'andamento annuale dei solfuri acido volatili (Tab.3, Fig.7). In particolare nel lago di Caprolace le concentrazioni degli AVS mostrano piccole variazioni nel corso dell'anno con valori leggermente più elevati ad Agosto alle stazioni 1 (20,8  $\pm$ 1,1), 4 (18,34  $\pm$ 0,8) e 5 (19,4 $\pm$ 0,99), ed a Giugno alla stazione 3 (14 $\pm$ 3) in concomitanza con più elevate attività di solfato riduzione. Nel lago di Fogliano le concentrazioni degli AVS sono molto più elevate di quelle del lago di Caprolace con un valore minimo in Aprile e un aumento progressivo fino ad Ottobre per tutte le stazioni. In entrambi i laghi il pool di ferro amorfo labile è costituito esclusivamente dal ferro ferroso per tutto il periodo di campionamento con concentrazioni di ferro ferrico al di sotto o prossimo al limite di rilevazione (0,5  $\mu\text{moli ml}^{-1}$ ). Inoltre la concentrazione del ferro ferroso rimane costante nel corso dell'anno con valori di un ordine di grandezza più elevato nel lago di Fogliano (Tab.3). Il rapporto AVS/LFe, in entrambi i laghi e per tutte le stazioni, è sempre <1 indicando che la capacità tamponante del ferro ferroso eccede la produzione di solfuri (Tab.3). Riassumendo, è rilevante osservare che, nonostante le attività di solfato riduzione e il rapporto AVS/Fe siano comparabili tra i due laghi e la capacità tampone del ferro labile sia più elevata nei sedimenti del lago di Fogliano, la minore capacità tampone di Caprolace è solo apparente, perché il maggior effetto tampone è quello dell'ossigeno diffuso dalle radici di *Cymodocea n.* (Holmer and Bondgaard, 2001). I risultati dell'ossigeno disciolto misurati nel corso delle 24 ore mostrano, infatti, come le condizioni di ipossia siano più spinte a Fogliano (Fig.8)

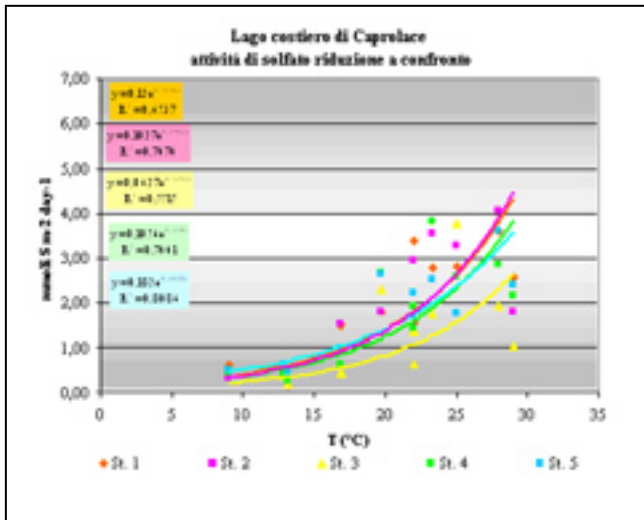


Figura 5.

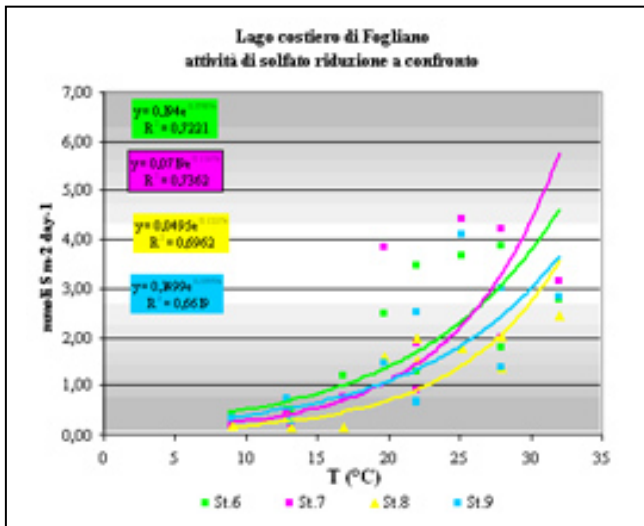


Figura 6.

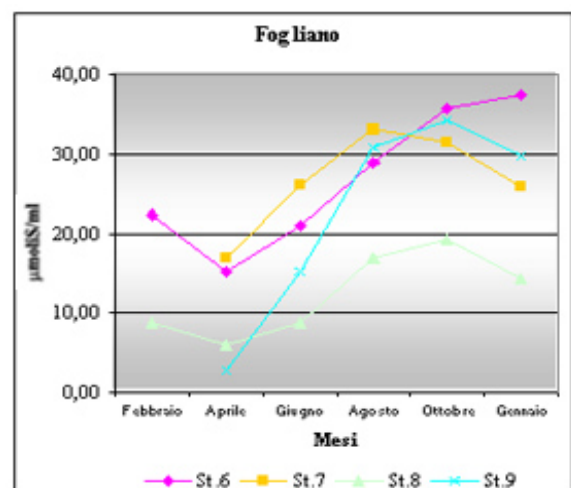
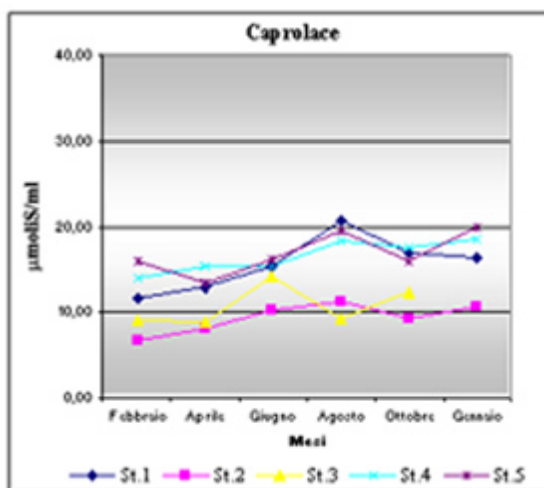


Figura 7. Variazione temporale delle concentrazioni degli AVS.

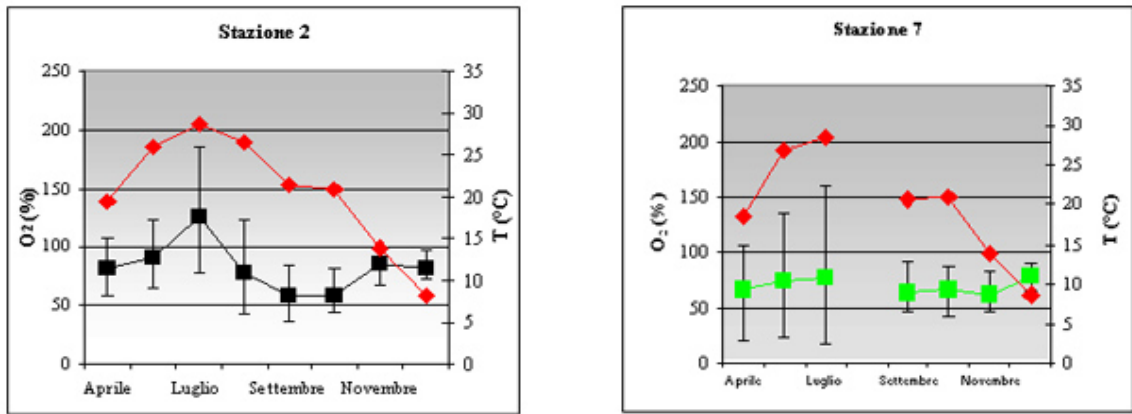


Figura 8. Variazione della concentrazione giorno notte dell'ossigeno disciolto e della temperatura in due stazioni rappresentative dell'andamento generale dei due laghi.

### Vegetazione bentonica

Le mappe della distribuzione della vegetazione sommersa dei laghi costieri di Fogliano e Caprolace sono rappresentate in Fig.9 e 10 e la stima della copertura % delle specie dominanti in Tabella 4.

Il Lago di Fogliano è caratterizzato dalla dominanza di *Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande, che occupa il 99% della superficie e *Cymodocea n. Ucria* Ascherson che occupa il 5%. Il tappeto a *Cymodocea n.* si sviluppa in corrispondenza e nell'intorno della stazione St.8 e nella parte centrale del lago; per ampi tratti le due fanerogame sono frammiste. Lo sviluppo di Cloroficee è ridotto ed in particolare la presenza di *Ulvaes* risulta limitata al canale di collegamento al Rio Martino che si apre nella sponda Sud e nello specchio di acqua compreso tra questo e la stazione n°9.

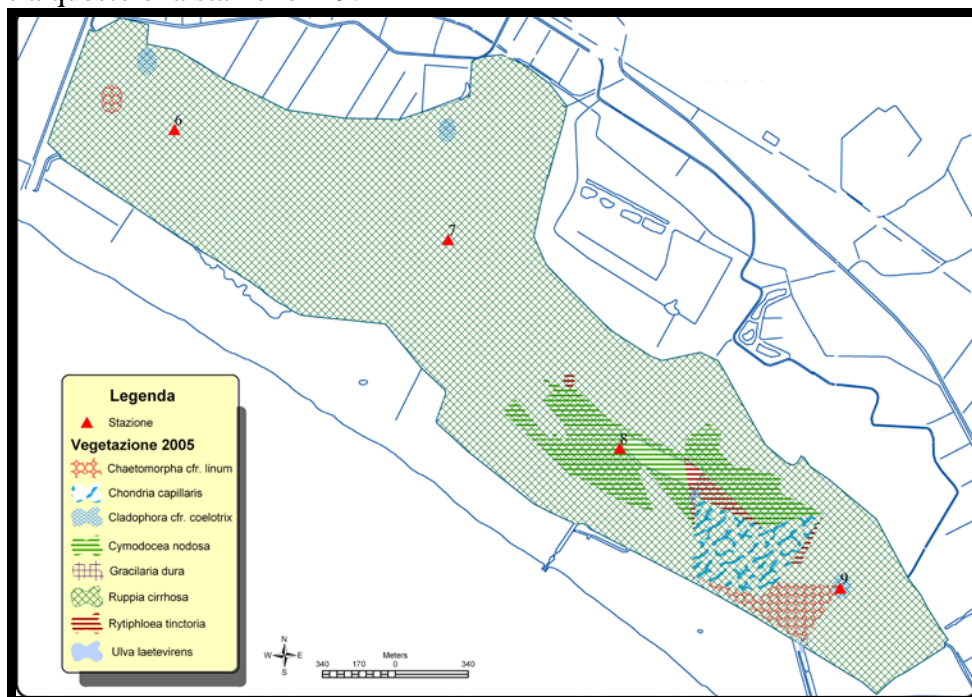


Figura 9: Mappa della distribuzione della vegetazione macrofitobentonica del lago Fogliano (P.N.C.)



Il lago di Caprolace è, invece, caratterizzato da un letto a *Cymodocea nodosa* Ucria Ascherson, continuo lungo tutto il perimetro del lago, fatta eccezione per l'estremità sud e per una ristretta zona in prossimità della sponda verso il mare a sud rispetto alla foce, dove proliferano le altre due Spermatophyta rilevate: *Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande, che è presente in una ristretta area a sud rispetto alla foce e *Zostera noltii* Homem che risulta confinata allo specchio di acqua antistante la foce. Risulta abbondante anche l'alga rossa *Rytiphloea tintoria* (Clemente) C. Agardh. Complessivamente, il lago di Fogliano presenta una produttività massima molto maggiore di quella di Caprolace. Le biomasse, infatti, risultano di 145 g d.w./m<sup>2</sup> e 65 g d.w./m<sup>2</sup> rispettivamente. Le differenze sono attribuibili alle specie dominanti. Infatti, si rileva che alla stazione 8 nel lago di Fogliano i valori di biomassa di *Cymodocea n.* sono analoghi a quelli rilevati a Caprolace (Fig.11). La biomassa di *Ruppia c.*, presenta oscillazioni più ampie nell'arco dell'anno in corrispondenza delle diverse fasi del ciclo vitale e con un rapporto tra la porzione epigea ed ipogea nettamente a favore della prima nella stagione di massimo sviluppo (Fig 12) (Menéndez et al.,1989, 2003; Menéndez, 2002; Azzoni et al., 2001).

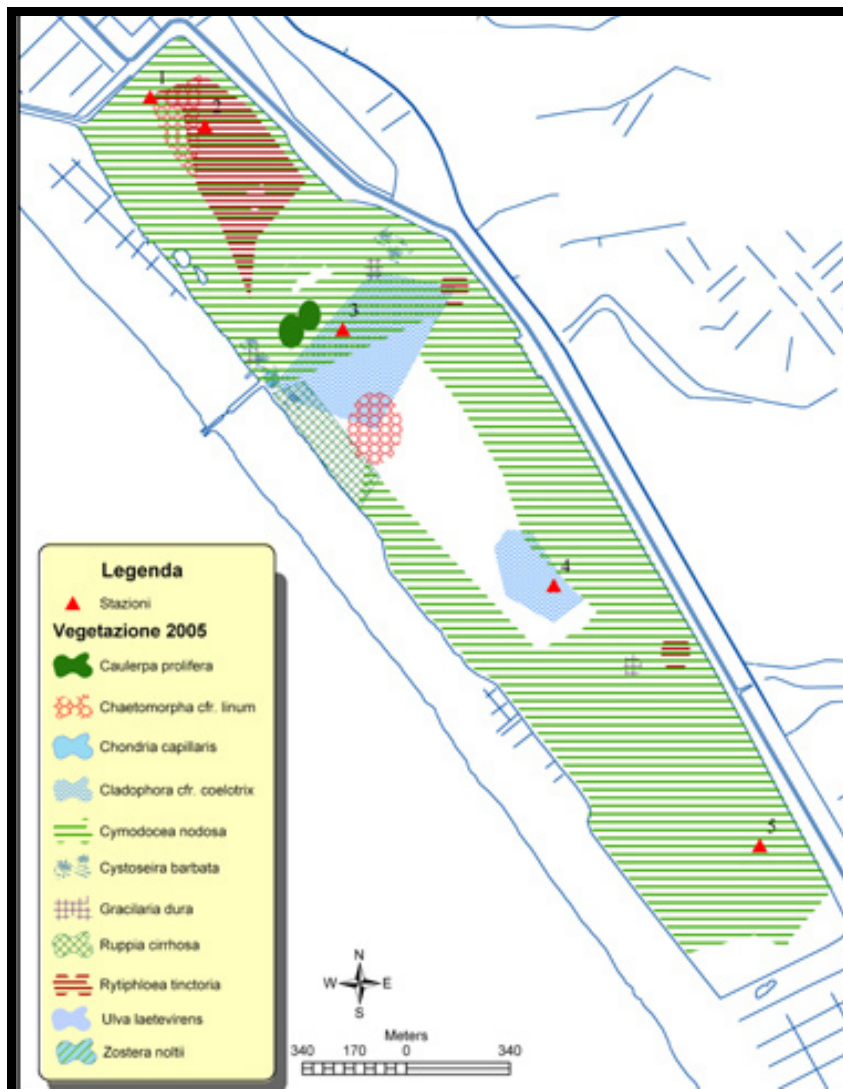


Figura 10. Mappa della distribuzione della vegetazione macrofitobentonica del Lago di Caprolace (P.N.C.)



Tabella 4. Stima della copertura (%) delle specie macrofitobentoniche dominanti nei laghi di Fogliano E Caprolace (P.N.C.)

		<b>Specie</b>	<b>Copertura %</b>
<b>Fogliano</b>	<b>Spermatophyta</b>	<i>Cymodocea nodosa</i> Ucria Ascherson	5,36
		<i>Ruppia cirrhosa</i> (Petagna) Grande	<b>99,11</b>
	<b>Chlorophyta</b>	<i>Chaetomorpha linum</i> (O.F. Müller) Kützing	2,61
	<b>Rhodophyta</b>	<i>Chondria capillaris</i> (Hudson) M. J. Wynne	3,97
		<i>Rytiphloea tintoria</i> (Clemente) C. Agardh	3,40
<b>Caprolace</b>	<b>Spermatophyta</b>	<i>Cymodocea nodosa</i> Ucria Ascherson	<b>78,95</b>
		<i>Ruppia cirrhosa</i> (Petagna) Grande	2,17
		<i>Zostera noltii</i> Homem	0,09
	<b>Chlorophyta</b>	<i>Cladophora</i> spp.	9,28
	<b>Rhodophyta</b>	<i>Rytiphloea tintoria</i> (Clemente) C. Agardh	7,06
	<b>Phaeophyta</b>	<i>Cystoseira barbata</i> (Stackhouse) C. Agardh f. <i>barbata</i>	1,11

La *Ruppia c.*, infatti, ha una caratteristica impollinazione idroanemofila: i granuli pollinici, impermeabili, vengono rilasciati dai fiori in prossimità della superficie dell'acqua per dar luogo ad impollinazione incrociata (Verhoeven, 1979). Le condizioni meteorologiche ed ambientali di moda calma che caratterizzano i bacini confinati, come quelli in studio, favoriscono non solo lo sviluppo delle strutture riproduttive ma la fioritura, la fruttificazione e la germinazione dei semi, portando ad un accorciamento del ciclo vitale (Gesti & al. 2005). Nelle stagioni più calde, infatti, le temperature determinano il rapido sviluppo verticale della pianta a scopo riproduttivo. Una volta completato lo sviluppo delle porzioni fertili e rilasciati i pollini in acqua, la pianta regredisce e si decompone se vengono meno le condizioni abiotiche idonee per un ulteriore sviluppo. Il ciclo vitale può, così, interrompersi e riprendere alla primavera successiva, o quando si stabiliscono le condizioni adatte alla germinazione ( $T \approx 15-20^{\circ}\text{C}$ ). Inizialmente quindi, si ha la germinazione dei frutti e lo sviluppo della porzione ipogea che si accresce orizzontalmente occupando solo i primi centimetri di sedimento fino a quando un ulteriore aumento delle temperature non permette lo sviluppo verticale della porzione epigea fotosintetica, .

Diverso è per la *Cymodocea n.* che, soprattutto in ambienti confinati, ha una riproduzione prevalentemente vegetativa, che si realizza per allungamento dei rizomi plagiotropi e prominenza da essi di nuovi cacci (Perez & al., 1991; Duarte & Sand-Jensen, 1996; Alberto & al., 2001). La biomassa complessiva subisce, perciò, deboli oscillazioni stagionali con variazioni maggiori a carico della porzione epigea e, quindi con oscillazioni del rapporto tra questa e quella ipogea. Mentre la biomassa del comparto fogliare varia nel tempo, la porzione ipogea è meno variabile data l'architettura complessa strutturata in elementi a sviluppo orizzontale di diametro maggiore (rizomi) e di radici verticali, a spessore minore, che penetrano nel sedimento fino a 30cm di profondità (Fig.12) (Duarte et al., 1998; Cancemi et al., 2002; Agostini et al., 2003).

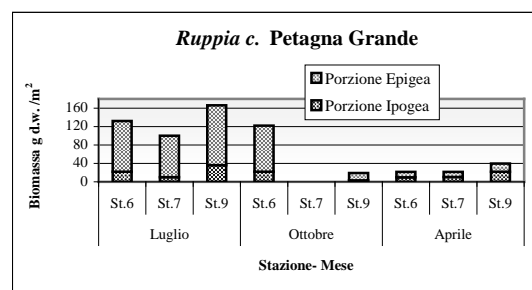
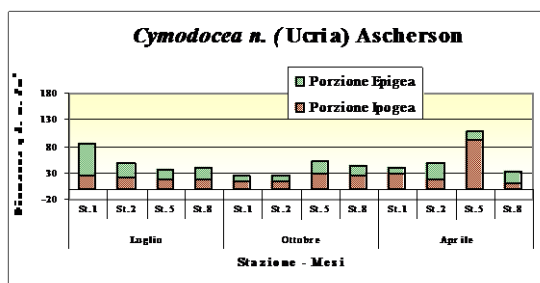
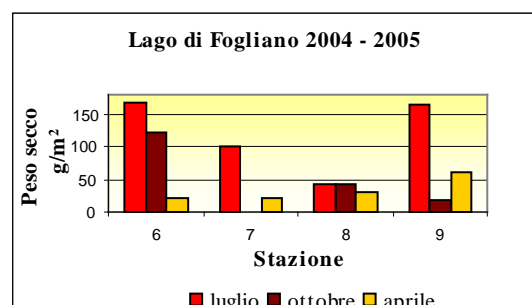
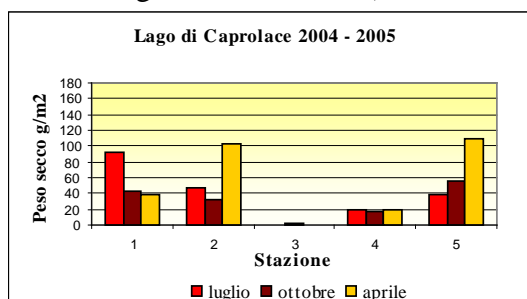


Figura 11.  
Figura 12

Ai risultati dell'analisi vegetazionale è stato applicato, a titolo di verifica, il metodo di Orfanidis (2001), sia sulla superficie di riferimento come indicato dagli autori, sia sull'areale effettivo ottenuto attraverso la cartografia.

Nel primo caso la categoria di Stato Ecologico è risultata “Good” per il lago di Caprolace e “High” per quello di Fogliano (Tab.5). Nel secondo caso si ottiene per entrambe i laghi un giudizio “High” (con EEI= 9,9 per Fogliano e EEI= 9,4 per Caprolace)(Tab.5 in giallo). Lo stesso risultato è stato ottenuto in stagioni diverse in quanto la dominanza delle fanerogame rimane invariata in entrambi i laghi per tutto l’arco dell’anno.

Tabella 5. Valutazione Ecologica dei laghi di Fogliano e Caprolace secondo il metodo di Orfanidis & al. (2001). I risultati evidenziati sono quelli ottenuti utilizzando le Coperture (%) calcolate con il G.I.S.

Lago	Tempo di Campionamento	Area (Km <sup>2</sup> )	ESGI (Media Totale (% copertura))	ESGII (Media Totale (% copertura))	Categoria di Stato Ecologico
Caprolace	Estate	2,3	60	22	Good (EEI=6,9)
	Estate		88	8	High (EEI=9,4)
Fogliano	Estate	4	74	7,5	High (EEI=9,9)
	Estate		100	15	High (EEI=9,9)

### Macrozoobenthos

Nella laguna di Caprolace sono stati rinvenuti 51 taxa (Tab. 6). Si evidenzia una diminuzione in ricchezza di taxa e di specie di questa laguna rispetto al passato (Gravina et al.,1989). I Policheti ed i Crostacei sono i gruppi più rappresentativi sia per numero di taxa (48% e 27%) che per abbondanza (59% e 13%) seguiti dai Molluschi (11,5%). Taxa marini come gli Actiniari e gli Cnidari rappresentano il 10,9% ed il 4,7% del totale. Le specie più abbondanti di Policheti sono *Heteromastus filiformis*, specie tipicamente marina osservata anche in anni precedenti (Ardizzone et al., 1982-1984; Gravina et al.1989, Nicoletti et al., 2005) e *Spio decoratus*, dominante in primavera nella St.3 dove si evidenzia l’associazione con *Cymodocea nodosa* (Brito et al., 2004). I Crostacei sono rappresentati principalmente dagli Anfipodi *Microdeutopus bifidus* e *Microdeutopus gryllotalpa*; quest’ultima specie è caratteristica d’ambiente lagunare (Ardizzone et al., 1991). Tra i Molluschi domina il bivalve *Loripes lacteus*, specie in grado di trasformare l’H<sub>2</sub>S presente negli ambienti anossici in conseguenza a crisi distrofiche (Alia, 2003). L’andamento del numero delle specie, dei taxa e delle densità del benthos totale nel corso dell’anno presenta evidenti aumenti nei mesi di maggio e di novembre.

Nella Laguna di Fogliano sono stati rinvenuti 54 taxa. I Chironomidi (32,7%) e Molluschi (30%) dominano numericamente le comunità. La specie più abbondante tra i Molluschi è *Abra ovata*, comune in ambienti lagunari, eurialina, tollerante all’ipossia, all’idrogeno solforato e allo ione ammonio (Vorobyev, 1949; Grémare et al., 2004); presente anche *Cerastoderma glaucum* resistente a crisi distrofiche (Koutsoubas et al., 2000). Tra i Policheti (16,9% del totale degli organismi) le specie più abbondanti sono: *Heteromastus filiformis* (dominante anche a Caprolace), *Hydroides elegans* ed *Arenicola marina* (tollerante a bassi tenori di ossigeno). La specie più abbondante tra i Crostacei è *Microdeutopus gryllotalpa*. L’Anfipode *Gammarus insensibilis*, tollerante all’eutrofizzazione, è abbondante nella St.9, in associazione con *Chetomorpha linum* (Shedder & Shedder, 1985). L’analisi del trend stagionale della ricchezza in taxa mostra un valore massimo a febbraio.

Riguardo alla diversità, la Laguna di Caprolace presenta H’min= 0 e H’max= 2.25. Nella Laguna di Fogliano H’min= 0.20 e H’max= 2.0. A Caprolace si osserva un decremento generale di diversità dopo il periodo estivo (settembre) che è seguito da incrementi nel mese di novembre (ad eccezione della st.3). I valori di H= 0 osservati nelle st. 1 e st. 5 (febbraio) sono dovuti all’assenza di organismi nei campioni mentre i bassi valori di H’ della st. 3 sono soprattutto dovuti alla presenza di 2 specie di Policheti (*Spio decoratus* e *Heteromastus*

*filiformis*) che dominano numericamente la comunità. A Fogliano la st. 8, vicina al canale comunicante con il mare, presenta i valori di H' più elevati (Fig.13).

Tabella 6. Lista dei taxa rinvenuti nei laghi costieri di Caprolace (CA) e Fogliano (FO).

TAXA	CA	FO	TAXA	CA	FO	TAXA	CA	FO
<b>MOLLUSCA</b>			<b>POLYCHAETA(cont.)</b>			<b>CRUSTACEA(cont.)</b>		
<i>Helobia stagnorum</i>			<i>Glycera unicornis</i>			<i>Corophium insidiosum</i>		
<i>Nassarius reticulatus</i>			Glyceridae ind.			<i>Dexamine spinosa</i>		
<i>Haminonea hydatis</i>			Hesionidae ind.			<i>Gammarus insensibilis</i>		
<i>Cerithium vulgatum</i>			<i>Neanthes caudata</i>			<i>Gammarus ind.</i>		
<i>Cyclope neritea</i>			<i>Nereis ind.</i>			<i>Palaemon elegans</i>		
<i>Mytilaster marioni</i>			Nereididae ind.			<i>Palaemon longirostris</i>		
<i>Loripes lacteus</i>			Aphroditidae ind.			<i>Ericthonius brasiliensis</i>		
<i>Cerastoderma glaucum</i>			<i>Lumbrineris coccinea</i>			<i>Elasmopus rapax</i>		
<i>Abra ovata</i>			<i>Lumbrineris gracilis</i>			<i>Hippolyte leptocerus</i>		
<i>Tapes decussatus</i>			<i>Lumbrineris latreilli</i>			<i>Hippolyte longirostris</i>		
<b>POLYCHAETA</b>			Ampharetidae ind.			<i>Liocarcinus arcuatus</i>		
<i>Scoloplos armiger</i>			Terebellidae ind.			<b>ECHINODERMATA</b>		
<i>Aonides oxycephala</i>			<i>Hydroides elegans</i>			<i>Amphipholis squamata</i>		
<i>Orbinia cuvieri</i>			<i>Hydroides ind.</i>			<i>Ophiura ind.</i>		
<i>Phylo foetida</i>			<i>Janua pagenstecheri</i>			<b>TUNICATA</b>		
<i>Spio decoratus</i>			Serpulidae ind.			<i>Botryllus schlosseri</i>		
Paraonidae ind.			Polychaeta ind.			<b>ALTRI</b>		
<i>Capitella capitata</i>			<b>CRUSTACEA</b>			Hydrozoa ind.		
<i>Capitella ind.</i>			Misidacea ind.			Actiniaria ind.		
Cirratulidae ind.			<i>Idotea chelipes</i>			Cnidaria ind.		
<i>Dasybranchus caducus</i>			<i>Leptochelia savignyi</i>			Chironomidae		
<i>Heteromastus filiformis</i>			<i>Cymodoce spinosa</i>			Nemertea		
<i>Notomastus ind.</i>			<i>Microdeutopus bifidus</i>			Sipuncula		
<i>Armandia cirrhosa</i>			<i>Microdeutopus gryllotalpa</i>			Nematoda		
<b>Phyllodocidae ind</b>			<i>Microdeutopus versiculatus</i>			<b>Briozoa</b>		

Le classi di qualità ottenute dagli indici biotici sono riportate in Tabella 7. Esse risultano coincidenti solamente in 10 casi su 34; nei casi rimanenti il giudizio sullo stato ecologico ottenuto dall'indice BENTIX è sempre più severo (ad eccezione della St. 2 a feb).

Figura 13. Andamento dell'indice di diversità di Shannon (H') nelle stazioni 1-5 (lago costiero di Caprolace) e 6-9 (lago costiero di Fogliano) I dati delle stazioni 6 e 7 di settembre sono mancanti.

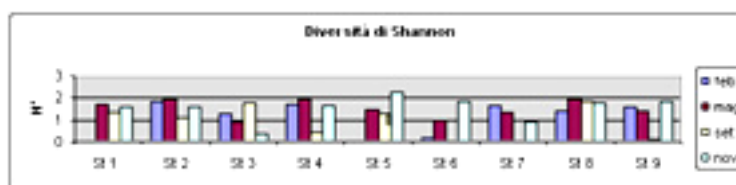


Tabella 7. Classificazione dello stato ecologico delle 9 stazioni; % di taxa per i quali i giudizi sulla sensibilità/tolleranza assegnati dai due indici non sono concordi (% disc s/t); % di taxa a cui manca l'attribuzione di EG per AMBI (% senza AMBI), per BENTIX (% senza BENTIX) e per entrambi (% senza B e Z).

St.	Mesi	AMBI	BENTIX	% disc s/t	% senza AMBI	% senza BENTIX	% senza B e Z
1	Febbraio	Bad	Bad	0	0	0	0
	Maggio	Good	Good	0	23	0	0
	Settembre	Good	Good	0	0	0	0
	Novembre	Good	Good	3	3	80	0
2	Febbraio	Good	High	69	0	0	0
	Maggio	High	Good	8	28	0	0
	Settembre	High	High	13	3	20	3
	Novembre	High	Moderate	11	5	75	1
3	Febbraio	Good	Poor	36	0	0	0
	Maggio	Good	Poor	6	0	0	0
	Settembre	Moderate	Poor	23	1	0	0
	Novembre	Moderate	Poor	10	0	0	0
4	Febbraio	Good	Moderate	9	0	0	0
	Maggio	Good	Moderate	2	7	0	0
	Settembre	Moderate	Poor	0	5	5	5
	Novembre	Good	Moderate	12	21	3	0
5	Febbraio	Bad	Bad	0	0	0	0
	Maggio	Good	Good	0	29	14	14
	Settembre	High	High	15	1	0	0
	Novembre	Good	Moderate	19	5	56	0
6	Febbraio	Poor	Poor	0	0	0	0
	Maggio	Good	Moderate	0	0	0	0
	Settembre	Good	Moderate	24	8	0	0
7	Febbraio	Moderate	Poor	0	2	2	1
	Maggio	Moderate	Poor	12	0	0	0
	Settembre	Good	Poor	1	5	1	5
8	Febbraio	Good	Poor	14	1	1	1
	Maggio	High	Poor	53	1	1	1
	Settembre	Good	Poor	39	0	0	0
	Novembre	High	Poor	47	22	22	0
9	Febbraio	Moderate	Poor	1	1	1	0
	Maggio	Good	Poor	23	0	0	0
	Settembre	Poor	Poor	0	0	0	0
	Novembre	Good	Moderate	57	0	0	0

In Tabella 8 viene riportata la lista dei taxa per i quali i gruppi ecologici assegnati rispettivamente dai due indici non sono concordi sul giudizio di sensibilità/tolleranza; nella laguna di Caprolace questi risultano essere il 18% del totale dei taxa (corrispondenti al 15% degli individui) e nella laguna di Fogliano il 19% del totale dei taxa (corrispondenti al 16% degli individui). Si può inoltre osservare che, nei casi in cui la classe dei due indici è coincidente, le percentuali dei taxa che vengono classificati in modo discordante rispetto alla loro sensibilità/tolleranza sono molto basse. In St. 8 a maggio e a novembre, dove le classi sono per AMBI “High” e per BENTIX “Poor”, e quindi agli estremi della scala di classificazione, si hanno percentuali molto alte di taxa con EG discordanti (53% e 47%).

Tabella 8. Gruppi ecologici (EG) attribuiti da AMBI e BENTIX ai taxa per i quali non c'è uniformità di giudizio: T=EG tollerante, S=EG sensibile, I= EGI (specie molto sensibili all'arricchimento organico), II= EGII (specie "indifferenti" all'arricchimento organico), III=EGIII (specie tolleranti all'eccesso di materia organica)

TAXA	EG BENTIX	EG AMBI	TAXA	EG BENTIX	EG AMBI
<i>Loripes lacteus</i>	T	I	<i>Lumbrineris latreilli</i>	T	II
<i>Tapes decussatus</i>	T	I	<i>Microdeutopus gryllotalpa</i>	T	I
<i>Scoloplos armiger</i>	T	I	<i>Gammarus insensibilis</i>	T	I
<i>Phylo foetida</i>	T	I	<i>Amphipholis squamata</i>	T	I
<i>Dasybranchus caducus</i>	S	III	<i>Briozoi epifiti</i>	S	II
<i>Lumbrineris gracilis</i>	T	II	<i>Nematoda</i>	S	III

Non è stato possibile attribuire il gruppo ecologico di AMBI al 3,2% degli organismi nella laguna di Fogliano e al 2,2% nella laguna di Caprolace, mentre per BENTIX non sono stati assegnati i gruppi ecologici al 17% degli organismi a Caprolace e al 2% a Fogliano. In tabella 8 sono anche riportate le percentuali dei taxa senza assegnazione dell'EG, relative ad ogni indice, per stazione e per data.

Il dendrogramma (Fig.14) ottenuto dalla Cluster Analysis evidenzia due raggruppamenti principali, il primo comprendente le stazioni di Fogliano e il secondo quelle di Caprolace. Ogni raggruppamento è suddiviso a sua volta in due sottogruppi. Tale ordinamento delle stazioni è confermato dalla proiezione spaziale dei risultati tramite MDS, alla quale è stato associato un asse identificabile con quello della "Diversità" (H') (Fig.14). L'analisi delle specie indica che nei due sottogruppi collocati in corrispondenza dei valori più bassi di diversità le stazioni sono caratterizzate dalla prevalenza di due taxa: il Polichete *Heteromastus filiformis* nella Laguna di Caprolace, ed i Chironomidi nella L. di Fogliano. Inoltre un'utile rappresentazione della proiezione spaziale è stata realizzata sostituendo alle stazioni di campionamento le relative classi di "stato ecologico" ottenute con gli indici AMBI e BENTIX. (Fig.15).

Si evidenzia infatti che ai sottogruppi ottenuti non corrispondono le stesse classi di AMBI e BENTIX. Riguardo alla distribuzione delle classi di stato ecologico, i sottoinsiemi presentano classi tendenzialmente più omogenee nel caso dell'indice AMBI. Si può osservare infatti che dall'applicazione di quest'ultimo indice risulta che le stazioni con un giudizio di qualità "high" o "good" sono raggruppate nella zona della proiezione più alta secondo l'asse della diversità, mentre ciò non si verifica con l'indice BENTIX.

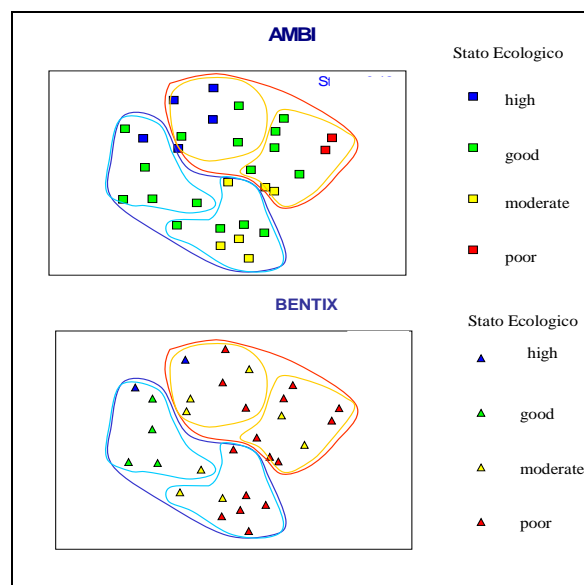


Figura 15. Proiezione spaziale. Associazione tra classi di stato ecologico di AMBI e BENTIX. Non compare la classe di qualità "bad" in quanto le stazioni 1 e 5 del mese di febbraio sono state escluse dall'analisi per la totale assenza di organismi

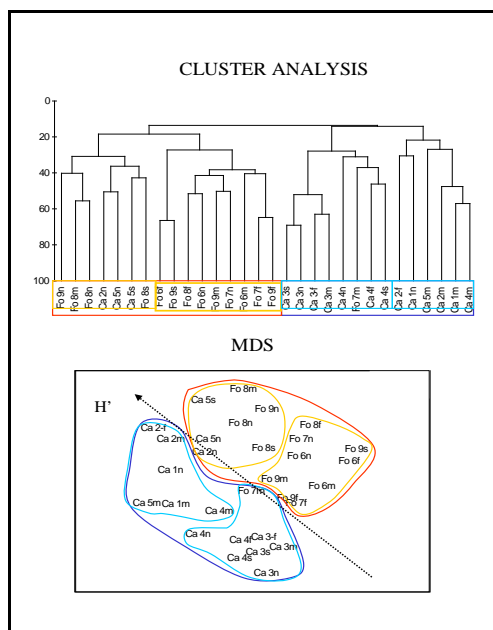


Figura 14. Cluster analysis e MDS. Disposizione spaziale delle stazioni di Fogliano e Caprolace con associato l'asse della diversità.

L'applicazione dei due indici biotici AMBI e BENTIX nelle Lagune di Caprolace e Fogliano ha condotto in molti casi a differenti giudizi di stato ecologico; ciò in gran parte è riconducibile alle differenze sull'attribuzione dei gruppi ecologici. Tali discrepanze costituiscono uno dei punti critici nell'applicazione di entrambi gli indici in quanto l'attribuzione dei livelli di tolleranza e sensibilità richiede un'approfondita conoscenza dell'autoecologia delle specie ed inoltre tale attribuzione spesso non trova fondamento in misure sperimentali ma solo su osservazioni sul campo (Ponti et al. 2002). Le maggiori difficoltà di applicazione degli indici biotici negli ambienti lagunari è legata alla mancanza di siti indisturbati (Borja et al., 2004) per la definizione dello stato ecologico di riferimento ottimale.

Probabilmente è difficile che uno stesso indice possa adattarsi sia all'ambiente marino che a quello lagunare; d'altra parte gli stessi autori dell'indice BENTIX (Simboura et al. 2002) riferiscono di aver incontrato limitazioni nell'applicazione dell'indice in acque di transizione (estuari e lagune) dove le condizioni di interfaccia favoriscono la presenza di specie tolleranti in alte densità.

Salas et al. (2004) hanno riscontrato in ambiente estuariale l'inefficienza di AMBI nel discriminare variazioni dovute a gradienti di eutrofizzazione. Infatti, mentre tali gradienti influenzano maggiormente le dominanze delle specie al livello dei produttori primari, non sempre si rendono evidenti nei livelli trofici zoobentonici dove prevalgono generalmente gli stessi gruppi dominanti, pur variando le strutture delle comunità (Marques et al., 2003). E' da considerare infatti che gli indici biotici AMBI e BENTIX hanno mostrato una maggiore efficacia nel determinare lo stato ecologico in ambienti più stabili e soprattutto in relazione a vari tipi di disturbo, in genere puntiformi, legati alle attività umane come inquinamenti da reflui organici, da metalli, da sversamenti di idrocarburi, etc. (Borja & Muxica, 2004, UNEP, 2005).

Nel nostro caso, i due indici non discriminano nettamente tra le condizioni ecologiche di una laguna rispetto all'altra, come invece emerge dai risultati ottenuti con la distribuzione delle fanerogame sulla base del rapporto superficie/volume (la Classe I a Caprolace con dominanza di *Cymodocea n.* e la Classe II a Fogliano con prevalenza di *Ruppia c.*).

Dalla analisi statistica risulta invece che le due lagune si differenziano sulla base della similarità delle specie e che l'indice AMBI rispecchia meglio di BENTIX nella disposizione delle stazioni proiettate spazialmente lungo il gradiente dell'asse della diversità.



## CONCLUSIONI

L'insieme dei risultati di questo studio conferma la capacità discriminante del parametro "dominanza vegetale" delle due diverse fanerogame acquatiche *Cymodocea nodosa* Ucria Ascherson e *Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande, come indicatori dello stato di qualità ecologica, più elevata a Caprolace che a Fogliano. Tra tutti i parametri usati quelli che maggiormente evidenziano questa differenza sono: la presenza di azoto ammoniacale nelle acque, la concentrazione e l'andamento degli AVS nei sedimenti e la variazione giornaliera dell'ossigeno disciolto. E' oramai accettato da molti autori che il processo che controlla i popolamenti è la tossicità dell'idrogeno solforato, verso la quale l'ecosistema possiede numerosi meccanismi tampone, che ne impediscono la diffusione. La riossidazione a solfato è il più efficace tra i meccanismi tampone. Ora ricordando che l'attività di solfato riduzione batterica, avviene principalmente nei sedimenti e tende a risalire dagli strati più profondi a quelli superficiali quando cresce il tasso di mineralizzazione della sostanza organica, si comprende l'importanza del trasporto di ossigeno nei sedimenti attraverso gli apparati radicali delle fanerogame. *Cymodocea n.* e *Ruppia c.* hanno una differente profondità dell'apparato radicale nei sedimenti: fino a 30 cm *Cymodocea n.* e quasi del tutto superficiale *Ruppia c.*. La presenza di una di queste due specie, quindi, testimonia da un lato dove arriva la capacità tampone dell'ossigeno attraverso questo trasporto biologico, ma contemporaneamente è un inequivocabile indicatore dello stadio di qualità ecologica in cui si trova l'ecosistema. Quindi la resistenza del sistema dominato da *Cymodocea n.* è molto maggiore perché questa assicura una riossidazione del sedimento per molti centimetri costituendo un'efficace barriera alla risalita dell'idrogeno solforato; l'andamento degli AVS nelle due lagune ne è una evidente conferma sperimentale. La resistenza del sistema verso i solfuri prodotti dall'aumento del tasso di degradazione della sostanza organica è una soglia importante dell'ecosistema che ha ulteriori implicazioni: i meccanismi di cattura e rilascio dei nutrienti sono dipendenti dallo stato di ossidazione dei sedimenti e questo viene modificato dall'aumento dei composti ridotti dello zolfo. Quando il potenziale redox dei sedimenti è  $< -200$ , l'azoto viene rilasciato in forma ammoniacale ed il fosforo inorganico insolubile diviene solubile (Nedwell, 1984). In tali condizioni chimico-fisiche, quindi, l'eutrofizzazione tende ad accelerare e l'ecosistema può facilmente passare da una dominanza a *Ruppia c.* ad una a macroalghe flottanti. *Ruppia c.*, quindi, pur essendo una fanerogama, va considerata come una specie pioniera, di passaggio, e l'ecosistema caratterizzato da tale dominanza ha una bassa resistenza ad ulteriori pressioni e può passare ad uno stadio trofico di qualità inferiore. Nel caso in cui le pressioni esterne sono, invece, controllate e ridotte, la stessa *Ruppia c.*, con il suo apparato radicale superficiale, incomincia ad apportare ossigeno ai sedimenti e prepara il terreno alla colonizzazione di specie superiori quali *Cymodocea n.*, come si osserva a Fogliano nella St.8. In conclusione questo studio ha confermato il modello successionale della vegetazione acquatica ma ha riscontrato alcune difficoltà nell'applicazione del parametro SA/V per le due fanerogame, perché la misura delle sole porzioni fotosintetiche non esprime pienamente le proprietà delle porzioni ipogee delle piante, come respirazione e uptake dei nutrienti. Inoltre, lo studio ha individuato nella variazione giornaliera dell'ossigeno disciolto un efficace indicatore di stato ed ha evidenziato la difficoltà ad adottare, anche per i sistemi di transizione, alcuni indicatori proposti per gli ambienti marino-costieri, come BPC e gli indici AMBI e BENTIX proposti per il macrozoobenthos.



## BIBLIOGRAFIA

A.P.H.A., 1989. Standard methods for the Examination of Water and Wastewater. XVII ed. American Public Health Association. Washington, DC20005.

Agostini, S., Pergent, G., Marchand, B., 2003. Growth and primary production of *Cymodocea nodosa* in a coastal lagoon. *Aquatic Botany* 76 , 185–193.

Alberto, F., Mata, L., Santos, R., 2001. Genetic homogeneity in the seagrass *Cymodocea nodosa* at its northern Atlantic limit revealed through RAPD. *Marine Ecology Progress Series* 221, 299-301.

Alia, E., Russo, G.F., 2003. Dinamica annuale del popolamento a Molluschi Bivalvi in stazioni a diverso grado di confinamento della laguna di Sabaudia. *Biologi Italiani* 2.

Ardizzone, G.D., Coen, R., Corsi, F., Gravina, F., Pelusi, P., Scaletta F. (1982-1984). Progetto laghi costieri. Relazione finale. Amministrazione Prov.le Latina, Università 'La Sapienza' Roma, 413 p.

Ardizzone, G.D., Gravina, M.F., Coen, R., 1991. The ecology of coastal lagoons in Central Italy. *Animal and Human Biology* 2, 69-106.

Aspila, K.I., Agemian, H., and Chau, A.S.Y., 1976. A semi-automated method for the determination of inorganic, organic and total phosphate in sediments. *Analyst* 101, 187-197.

Azzoni, R., Giordani, G. and Viaroli, P., 2005. Iron–sulphur–phosphorus interactions: implications for sediment buffering capacity in a mediterranean eutrophic lagoon (Sacca di Goro, Italy). *Hydrobiologia* 550, 131-148.

Azioni, R., Giordani, G., Batoli, M., Welsh, D.T., Viaroli, P., 2001. Iron, sulphur and phosphorus cycling in the rhizosphere sediments of a eutrophic *Ruppia cirrhosa* meadow (Valle Smarlacca, Italy). *Journal of Sea Research* 45, 15-26.

Borja, A., Franco, J., Perez, V., 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin* 40, 1110-1114.

Borja, A., Franco, J., Valencia, V., Bald, J., Muxica, I., Belzunce, M.J., Solaun, O., 2004. Implementation of the European water framework directive from the Basque country (northern Spain): a methodological approach. *Marine Pollution Bulletin* 48, 209-218.

Borja, A., Muxica, I., 2004. Do benthic indicator tools respond to all impact sources? The case of AMBI (AZTI Marine Biotic Index). Indicators of stress in the marine benthos. Workshop Report No.195. Intergovernmental Oceanographic Commission. Torregrande-Oristano (Italy), 8-9 Ottobre 2004.

Borja, A., Muxica, I., Franco, J., 2003. The application of o Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin* 46 , 835-845.

- Bricker, S. B., Clement, C. G., Pirhalla, D. E., Orlando, S. P., and Farrow, D. R. G., 1999. National Estuarine Eutrophication Assessment: Effects of Nutrient Enrichment in the Nation's Estuaries. National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service, Special Projects Office and the National Centers for Coastal Ocean Science. Silver Spring, Maryland, 71p.
- Brito, M.C., Martin, D., Nunez, J. 2005. Polychaetes associated to *Cymodocea nodosa* meadow in the Canary Islands: assemblage structure, temporal variability and vertical distribution compared to other Mediterranean seagrass meadows. *Marine Biology* 46, 467-481.
- Brock, M. A., 1982. Biology of the salinity tolerant genus *Ruppia* L. in saline lakes in South Australia. I. Morphological variation within and between species and ecophysiology. *Aquatic Botany*, 13, 219-248.
- Brock, M. A., 1981. Accumulation of proline in a submerged aquatic halophyte *Ruppia* L. *Oecologia* 51, 307-312.
- Canfield, D.E., 1989. Reactive iron in sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53, 619-632.
- Carlson, Jr., P.R., Yarbro, L.A., Barber, T.R., 1994. Relationship of sediment sulfide to mortality of *Thalassia testudinum* in Florida Bay. *Bulletin of Marine Science* 54, 733-746.
- Castelli A., Lardicci C., Tagliapietre D., 2003. Il macrobenthos di fondo molle. In: Manuale di metodologia di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo. Vol. 10 (Suppl.), S.I.B.M.
- Cavaliere, A. J. and Huang, A. H. C., 1979. Evaluation of proline accumulation in the adaptation of diverse species of marsh halophytes to the saline environment. *American Journal of Botany* 66, 307-312.
- Cividanes, S., Incera, M., Lopez J., 2002. Temporal variability in the biochemical composition of sedimentary organic matter in an intertidal flat of the Galician coast (NW Spain). *Oceanologica Acta* 25, 1-12.
- Clarke, K.R. and Warwick, R.M., 1994. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Natural Environment Research Council, UK, 1-144p.
- D'archino, R., Inerite, M., Izzo, G., Migliore, G., Sbrana, M., 2001. Mappa della Vegetazione Sommersa del lago di Caprolace, Parco Nazionale del Circeo. Atti del convegno del S.I.T.E., Sabaudia 2001.
- Danovaro, R., 1996. Detritus-bacteria-meiofauna interactions in a seagrass bed (*Posidonia oceanica*) of the NW Mediterranean. *Marine Biology* 127, 1-13.
- de Wit, R., L. J. Stal, B. Aa. Lomstein, R. A. Herbert, H. Gernerden, P. Viaroli, V. U. Ceccherelli, F. Rodríguez-Valera, M. Bartoli, G. Giordani, R. Azzoni, B. Shaub, D.T. Welsh, A. Donnelly, A. Cifuentes, J. Anton, K. Finster, L. B. Nielsen, A. G. Underlien Pedersen, A. T. Neubauer, M. A. Colangelo & S. K. Heijs, 2001. ROBUST: The Role of Buffering

- capacities in STabilising coastal lagoon ecosystems. *Continental Shelf Research* 21, 2021-2041.
- Dell'Anno, A., Fabiano, M., Mei, M.L., Danovaro, R., 2000. Enzymatically hydrolysed protein and carbohydrate pools in deep-sea sediments: estimates of the potential bioavailable fraction and methodological considerations. *Marine Ecology Progress Series* 196, 15-23.
- Dell'Anno, A., Mei, M.L., Pusceddu, A., Danovaro, R., 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Marine Pollution Bulletin* 44, 611-622.
- Della Greca, M., Fiorentino, A., Isidori, M., Monaco, P., Zarrelli, A., 2000. Antialgal Ent-Labdane Diterpenes From *Ruppia maritima*. *Phytochemistry* 55, 909-913.
- Dougan, W. K.; Wilson, A. L. 1973. Absorptiometric determination of iron with T.P.T.Z. *Water treatment and examination* 22, 110-113.
- Duarte, C.M. and Sand-Jensen, K., 1996. Nutrient constraints on establishment from seed and on vegetative expansion of the Mediterranean seagrass *Cymodocea nodosa*. *Aquatic Botany* 54, 279-286 .
- Duarte, C.M., 1995. Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes. *Ophelia* 41, 87-112.
- Duarte, C.M., Merino, M., Agawin, N.S.R., Uri, J., Fortes, M.D., Gallegos, M.E., Marbà, N., Hemminga, M., 1998. Root production and belowground seagrass biomass. *Marine Ecology Progress Series* 171, 97-108.
- Fabiano, M., Chiantore, M., Povero, P., Cattaneo-Vietti, R., Pusceddu, A., Misic, C., Alberelli, G., 1997. Short-term variations in particulate matter flux in Terra Nova Bay, Ross Sea. *Antarctic Science* 9, 143-149.
- Fabiano, M., Danovaro, R., Fraschetti, 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). *Continental Shelf Research*. 15, 1453-1469.
- Fabiano, M. and 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.
- Fiordelmondo, C., Manini, E., Gambi, C., Pusceddu, A., 2003. Short-term impact of clam harvesting on sediment chemistry, benthic microbes and meiofauna in the Goro Lagoon (Italy). *Chemistry and Ecology* 19, 173-187.
- G. Cancemi, Buia, M.C. and Mazzella, L., 2002. Structure and growth dynamics of *Cymodocea nodosa* meadows. *Scientia marina* 66 , 365-373.
- Gacia, E., Littler, M.M., Littler, D.S. 1996. The relationship between morphology and photosynthetic parameters within the polymorphic genus *Caulerpa*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 204, 1-14

- Gesti, J., Bavosa, A., Quintana, X.D. 2005. Reproductive potential in *Ruppia cirrhosa* (Petagna) Grande in response to water permanence. *Aquatic Botany* 81, 191-198.
- Glémarec, M. & Hily, C., 1981. Perturbations apportées à la macrofaune benthique de la baie de Concarneau par les effluents urbain et portuaires. *Acta Oecologica* 2, 139-150.
- Goodman, J.L., Moore, K.A., Dennison, W.C., 1995. Photosynthetic responses of eelgrass *Zostera marina* L. to light and sediment sulfide in a shallow barrier island lagoon. *Aquatic Botany* 50, 173-193.
- Gravina, M.F., Ardizzone, G.D., Scaletta F., Chimenz, C., 1989. Descriptive Analysis and Classification of Benthic Communities in Some Mediterranean Coastal Lagoons (Central Italy): *Marine Ecology* 10, 141-166.
- Grèmare, A, Duchéne, J.C., Rosenberg, R., David, E., Desmalades, M., 2004. Feeding behaviour of *Abra ovata* and *A. nitida* compared by images analysis. *Marine Ecology Progress Series* 267, 195-208.
- Gross, Elisabeth M., 2003. Allelopathy of Aquatic Autotrophs. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22, 313-339.
- Guitian, F., Carballas, J., 1976. Técnicas de analisis de suelos. In: Pico Sacro (Ed.), Santiago de Compostela, 288 p.
- Heijs, S. K., Azioni, R., Giordani, G., Jonkers, H. M., Zizzoli, D., Viaroli, P., van Gemerden, H., 2000. Sulfide-induced release of phosphate from sediments of coastal lagoons and the possible relation to the disappearance of *Ruppia* sp. *Aquatic Microbial Ecology* 23, 85–95.
- Heijs, S. K. and Gemerden, H., 2000. Microbial and environmental variables involved in the sulfide buffering capacity along a eutrophication gradient in a coastal lagoon (Bassin d'Arcachon, France). *Hydrobiologia* 437, 121-131.
- Hemminga, M.A., 1998. The root/rhizome system of seagrasses: an asset and a burden *Journal of Sea Research* 39, 183-196.
- Hernández, I.; Andría, J. R.; Christmas, M., Whitton, B. A., 1999. Testing the allometric scaling of alkaline phosphatase activity to surface/volume ratio in benthic marine macrophytes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 241, 1-14 .
- Holmer, M. and Bondgaard, E.J., 2001. Photosynthetic and growth response of eelgrass to low oxygen and high sulfide concentrations during hypoxic events. *Aquatic Botany* 70, 29-38.
- Holmer, M., Anderson, F.O, Nielsen, S.L., Bonchker, H.T.S 2001. The importance of mineralization on sulphate reduction for nutrient in tropical seagrasses sediments. *Aquatic Botany* 71, 1-17.
- Howarth, R. W. & J. W. B. Stewart, 1992. The interactions of sulphur with other element cycles in ecosystems. In Howarth, R. W., J. W. B. Stewart, & M. U. Ivanov (eds) *Sulphur cycling on the continents: wetlands, terrestrial ecosystems and associated water bodies: SCOPE 33*. Wiley and Sons, New York, 67–84.

Hyland, J., Balthis, L., Karakassis, I., Petrov, A., Shine, J., Vestergaard, O., Warwick, R., 2005. Organic carbon of sediments as an indicator of stress in the marine benthos. *Marine Ecology Progress Series* 295, 91-103.

Incera, M., Cividanes, S.P., Lopez, J., Costas, R., 2003. Role of hydrodynamic conditions on quantity and biochemical composition of sediment organic matter in sandy intertidal sediments (NW Atlantic coast, Iberian Peninsula). *Hydrobiologia* 497, 39-51.

Istituto Sperimentale Per La Nutrizione delle Piante, 2000. Metodo di analisi chimica del suolo. Metodo V.1. Determinazione del Calcio Totale. Capitolo 5. Franco Angeli Editore.

Izzo, G. & Signorini, A., 2001. Sviluppo di un metodo generale per la valutazione della qualità ecologica di un ecosistema lagunare. In *Atti del convegno del S.I.T.E., Sabaudia 2001*.

Jørgensen, B. B., 1982. Mineralization of organic matter in the sea bed – the role of sulfate reduction. *Nature* 296, 643-645.

Kanaya, G. and Kikuchi, E., 2004. Relationships between sediment chemical buffering capacity and H<sub>2</sub>S accumulation: comparative study in two temperate estuarine brackish lagoons. *Hydrobiologia*, 528, 187-199.

Kautsky, L. 1988. Life strategies of aquatic soft bottom macrophytes. *Oikos* 53, 126-135.

Koch, M.S., Mendelssohn, I.A., McKee, K.L., 1990. Mechanism for the hydrogen sulfide-induced growth limitation in wetland macrophytes. *Limnology Oceanography* 35, 399-408.

Kock, M.S. & Erskine, J.M., 2001. Sulfide as a phytotoxin to the tropical seagrass *Thalassia testudinum*: interactions with light, salinity and temperature. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 266, 81-95.

Kontiza, I., Vagias, C., Jakupovic, J., Moreau, D., Roussakis, C., Roussis, V., 2005. Cymodienol and cymodiene new cytotoxic diarylheptanoids from the sea grass *Cymodocea nodosa*. *Tetrahedron Letters* 46, 2845-2847.

Koutsobas, D., Arvanitidis, C., Dounas, C., Drummond, L., 2000. Community structure and dynamics of the Molluscan fauna in a mediterranean lagoon (Gialova lagoon, SW Greece). *Belgian Journal of Zoology* 130, 131-138.

Lazzara, L., Bianchi, F., Falcucci, M., Hull, V., Modigh, M., Ribera d'Alcalà, M., 1990. Pigmenti clorofilliani. *Nova Thalassia* 11, 207-223.

Lenzi, M., Costa, A., Giannerini, S., 1998. Variazioni di dominanza nei popolamenti algali della laguna di Orbetello. Un'ipotesi che ne individua le cause. *Atti Società Toscana Scienze Naturali*, 115p.

Lovley, D. R. and Phillips, E.J. P., 1987. Rapid assay for reducible ferric iron in aquatic sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 53, 1536-1540.

- Manini, E., Fiordelmondo, C., Gambi, C., Pusceddu, A., Danovaro, R., 2003. Benthic microbial loop functioning in coastal lagoons: a comparative approach. *Oceanologica Acta* 26, 27-38.
- Marques, J.C., Nielsen, S.N., Pardal, M.A., Jorgensen, S.E., 2003. Impact of eutrophication and River Management within a framework of ecosystem theories. *Ecological Modelling* 166, 147-168.
- Menéndez, M., 2002. Net production of *Ruppia cirrhosa* in the Ebro Delta Aquatic Botany 73,107–113.
- Menéndez, M., Carlucci, D., Pinna, M., Comin, F.A. & Basset, A.,2003. Effect of nutrients on decomposition of *Ruppia cirrhosa* in a shallow coastal lagoon. *Hydrobiologia* 506-509, 729-735.
- Menendez, M., Fores, E., Comin, F. A., 1989. *Ruppia cirrhosa* - Decomposition in a coastal temperate lagoon as affected by macroinvertebrates. *Archiv fuer Hydrobiologie* 117, 39-48.
- Muxika, I., Borja, A., Bonne, W., 2005. The suitability of the marine biotic index (AMBI) to new impact sources along European coasts. *Ecological Indicators* 5, 19-31.
- Nedwell, D.B., 1984. The input and mineralization of organic carbon in anaerobic aquatic sediments. *Advances in Microbial Ecology*, 7, 93-131.
- Newell, R.C., Field, J.G., 1983. The contribution of bacteria and detritus to carbon and nitrogen flow in a benthic community. *Marine Biology Letters* 4, 23-36.
- Nicoletti, L., La Valle, P., Lattanti, L., Ardizzone, G.D., 2005 Il popolamento zoobentonico dei laghi pontini: 1983-2000. Presentato al Convegno Biologia Marina Mediterranea, Trieste, 2005. In corso di valutazione da referees.
- Nielsen, S. L. and Sand-Jensen, K.,1990. Allometric scaling of maximal photosynthetic growth rate to surface/volume ratio. *Limnology Oceanography* 35, 177-181.
- Nixon, S.W. 1995.Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41,199-219.
- Odum, E.P. 1983. *Basic Ecology*. CBS College Publishing
- Odum, E.P., Kuenzler, E.J. and Blunt, M.X., 1958. Uptake of P<sup>32</sup> and Primary Productivity in Marine Benthic Algae. *Limnology and Oceanography* 3, 340-345.
- Orfanidis, S., Panayotidis, P. and Stamatis, N., 2001. Ecological Evaluation of transitional and coastal waters: a marine nenthic macrophytes-based model.*Mediterranean Marine Science* 2, 45-65.
- Pearson, T.H., Rosenberg, R., 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr. Marine Biology Annual Review* 16, 229-311.

- Pedersen, O., 2002. Allelopathy - Chemical warfare between plants. *The Aquatic Gardner* 15, 7-16.
- Pedersen, O., Binzer, T. and Borum, J., 2004. Sulfide intrusion in eelgrass (*Zostera marina* L.) *Plant, Cell and Environment* 27, 595–602.
- Perez, M., Romero, J., Duarte, C.M. and Sand-Jensen, K., 1991. Phosphorus limitation or *Cymodocea nodosa* growth. *Marine Biology* 109, 129-133 .
- Ponti, M., Casselli, C., Abbiati, M., 2002. Applicazione degli indici biotici all'analisi delle comunità bentoniche degli ambienti lagunari costieri: la "Pialassa Baiona". XII Congresso SITE, Urbino.
- Pusceddu, A., Dell'Anno, A., Fabiano, M., Danovaro, R., 2003. Quantità e composizione biochimica della materia organica nei sedimenti marini. *Biologia Marina Mediterranea* 10, 43-60 p.
- Pusceddu, A., Sarà, G., Armeni, M., Fabiano, M., Mazzola, A., 1999. Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea). *Hydrobiologia* 397, 59-70.
- Quaderni IRSA-C.N.R., 1986. Metodi analitici per i fanghi. 64, Vol.3. Parametri chimico-fisici. Roma
- Rosemberg, G. and Ramus, J. 1984. Uptake of inorganic nitrogen and seaweed surface area: volume ratios. *Aquatic Botany* 19, 65-72.
- Rosser, H.R. & W.A. Hamilton, 1983. Simple assay for accurate determination of (<sup>35</sup>S) sulfate reduction activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 45, 1956-1959.
- Salas, F., Neto, J.M., Borja, A., Marques, J.C., 2004 . Evaluation of the applicability of a marine biotic index to characterize the status of estuarine ecosystems: the case of Mondego estuary (Portugal). *Ecological Indicators* 4, 215-225.
- Salen-Picard, C., 1983. Schémas d'évolution d'une biocénose macrobentique du substrat meuble. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences de Paris* 296 , 587-590.
- Schramm, W., 1999. Factors influencing seaweed responses to eutrophication: some results from EU-project EUMAC. *Journal of Applied Phycology* 11, 69–78.
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, 117 p .
- Shedden, M. & Shedden, A. L., 1985. New distribution records for *Gammarus insensibilis* Stock, 1966, in Britain. *Crustaceana* 49, 101-105 .
- Simboura, N., 2004. Benthic Index vs. Biotic Index in monitoring: an answer to Borja et al., 2003. *Marine Pollution Bulletin* 48 , 404-405.

- Simboura, N., Zenetos, A., 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science* 3, 77-111.
- Smith, R. D., Pregnall, A. M., & Alberte, R. S., 1988. Effects of anaerobiosis on root metabolism of *Zostera marina* (eelgrass): implications for survival in reducing sediments. *Marine Biology* 98 , 131-141.
- Stewart, G. R. and Lee, J.A., 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Planta* 120, 279-289.
- Takamura, N., Kadono, Y., Fukushima, M., Nakagawa, M. And Kim, Baik-H.O., 2003. Effecto of aquatic macrophytes on water quality and phytoplankton communities in shallow lakes. *Ecological Research* 18, 381-395.
- Taylor, M.W., Taylor, R.B., Rees, T.A.V. 1999. Allometric evidence for the dominant role of surface cells in ammonium metabolism and photosynthesis in northeastern New Zealand seaweeds. *Marine Ecology Progress Series* 184, 73-81 .
- Taylor, R.B., Peek, J.T.A., Rees, T.A.V., 1998. Scaling of ammonium uptake by seaweeds to surface area: volume ratio: geographical variation and the role of uptake by passive diffusion. *Marine Ecology Progress Series* 169, 143-148 .
- UNEP, 2005. Ecological evaluation index based on zoobenthos (BENTIX) UNEP MED POL. UNEP/MAP Indicator fact sheet , Version 04-04-05.
- Verhoeven, J.T.A., 1979. The ecology of *Ruppia*-dominated communities in western Europe.I. Distribution of *Ruppia* representatives in relation to their autoecology. *Acquatic Botany* 6, 197-268.
- Vichkovitten, T., Holmer, M., 2004. Contribution of plant carbohydrates to sedimentary carbon mineralization. *Organic Geochemistry* 35, 1053-1066
- Vorobyev, V.P. 1949. Benthos of the Sea of Azov. In: Proceedings of the Azov-Black Sea Institute of Marine Fisheries and Oceanography, 13.





## **Attuazione Programma PR1/A**

**“Metodologie per il rilevamento e la classificazione dello stato di qualità ecologico e chimico delle acque con particolare riferimento all’applicazione del D.Lgs.152/99**

### **Sottoprogetto**

**"Convalidazione e messa a punto di metodologie alternative ed innovative per lo studio della qualità ecologica dell'ambiente acquatico di un tratto costiero tirrenico"**

**Responsabile scientifico: Prof. Roberto Barale**

**Autori: Roberto Barale, Daniela Reali, Barbara Pinto, Sonia Garritano, Tolari Francesco, Patrizia Bandecchi, Maria Chiara Dell'Amico, Giorgia Tozzini, Pretti Carlo, Domenica Di Bello, Gianfranca Monni, Varriale Anna Maria, Roberto Scarpato.**

## ABSTRACT

Con il presente progetto di ricerca sono state messe a punto nuove metodologie di biomonitoraggio delle acque costiere sia per gli inquinanti di natura biologica che chimica.

Nella messa a punto di tali metodi si è tenuto in particolar conto:

- 1) della trasferibilità della metodica che deve essere robusta, non complessa e poco costosa;
- 2) dell'interpretabilità dei dati che deve basarsi su test, anche statistici, di facile applicazione ed utilizzo;
- 3) della ripetibilità dei monitoraggi e dell'affidabilità dei risultati ottenuti.

Le metodiche messe a punto hanno riguardato analisi da condurre su:

- 1) campioni di acqua
- 2) organismi bioaccumulatori.

Per i primi sono state messe a punto metodiche di concentrazione di miscele complesse di sostanze organiche da saggiare successivamente per la loro attività ormonosimile in microrganismi opportunamente modificati geneticamente con la funzione di "rivelatori biologici" della presenza di sostanze ad azione ormono-mimetica.

I secondi sono stati utilizzati con due funzioni: bioindicatore e bioaccumulatore.

La funzione di bioindicatore è stata valutata sia tramite lo studio delle possibili modificazioni del corredo enzimatico dei mitili con particolare riferimento al metabolismo degli xenobiotici, sia tramite la ricerca di fagi e colifagi. La funzione di bioaccumulatore è stata valutata mediante lo studio di alterazioni del materiale genetico di cellule del tessuto branchiale dei mitili osservabili, con metodiche citogenetiche, sotto forma di micronuclei (piccole masserelle di cromatina nucleare presenti nel citoplasma delle cellule la cui induzione viene incrementata dall'esposizione a certe classi di inquinanti ambientali).

Sono stati sviluppati e validati i seguenti protocolli di monitoraggio ambientale:

- 1) metodologie e criteri di stabilizzazione in campo di mitili come biosensori e bioaccumulatori;
- 2) metodologie per la misurazione di biomarkers molecolari-metabolici nei mitili;
- 3) metodologie per la valutazione del danno citogenetico nei mitili;
- 4) metodologie per la ricerca ed identificazione di fagi nei mitili;
- 5) metodologie per la raccolta di campioni di frazioni organiche da acque
- 6) metodologia per la rilevazione nelle acque di sostanze ad attività estrogeno-mimetica.

Le varie Unità Operative hanno sviluppato le ricerche che si erano prefissate nel periodo in modo del tutto soddisfacente, raggiungendo gli obiettivi previsti come di seguito riportati.

Ci sembra opportuno sottolineare che un utilizzo integrato di più strategie sperimentali, come prospettato dal presente progetto, possa fornire efficaci strumenti di controllo e di monitoraggio. Infatti, per quanto valide che siano, tutte queste metodologie, non sempre possono, da sole, affrontare i complessi problemi legati alla salvaguardia degli ecosistemi acquatici e della salute dell'uomo.

La seconda fase del progetto è stata incentrata: 1) nell'applicazione in campo dei biomarkers scelti negli organismi bioindicatori (mitili); 2) nella ricerca ed identificazione di alcuni ceppi fagici nei mitili; 3) nella valutazione della qualità ecologica dell'ambiente acquatico marino in relazione alla contaminazione da sostanze xenobiotiche capaci di indurre alterazioni dell'equilibrio ormonale. Le analisi sono state condotte su mitili e su campioni di acqua provenienti da un sito di controllo o riferimento e dai differenti siti di trapianto appartenenti alle aree costiere monitorate. Come sito di riferimento è stato scelto il vivaio dell'impianto di mitilicoltura di proprietà della Società Cooperativa Mitilicoltori Golfo della Spezia situato nel tratto di mare tra l'isola della Palmaria e la costa di Portovenere. Le aree marine monitorate (2 aree portuali e 2 foci di fiume) appartengono alla fascia costiera compresa tra il Golfo della Spezia e il porto di Livorno e sono, procedendo da nord verso sud: la foce del fiume Magra, il porto di Viareggio, la foce del fiume Arno ed il porto di Livorno.

La verifica in campo della metodologia prescelta è stata condotta effettuando una serie di monitoraggi in situ nel periodo compreso tra febbraio 2003 ed aprile 2004.

A completamento del progetto è stato ritenuto opportuno confrontare i risultati delle analisi ottenuti all'inizio di ogni monitoraggio nel sito di riferimento con quelli effettuati in acque possibilmente non contaminate appartenenti geograficamente alla stessa area marina (Mar Ligure). A questo proposito, nel mese di luglio 2004, è stato effettuato un campionamento di acqua e di mitili cresciuti spontaneamente nel tratto di mare situato all'interno dell'impianto sperimentale di maricoltura dell'isola della Capraia gestita dall'ARPAT (Dipartimento Provinciale di Livorno).

## 1) Biomarkers ecotossicologici

*Attività colinesterasica.* Rappresenta un biomarker di esposizione a contaminanti appartenenti alla classe degli organofosforici e carbammati. L'attività è stata condotta nei microsomi di branchie (3 pool di 20 animali per ogni stazione di campionamento) utilizzando l'acetilcolina come substrato ed espressa in nmoli/min/mg proteina. I valori di attività colinesterasica dei mitili presenti nei siti di campionamento dei periodi febbraio-aprile ed ottobre-novembre si sono mantenuti sui livelli di attività mostrati dai mitili prelevati dal sito di controllo all'inizio della campagna di campionamento. Nel periodo maggio-luglio invece i valori di attività nei siti di Pisa (Foce dell'Arno) in data 10/06/03 e del Magra in data 14/07/03 e 14/04/04 hanno mostrato una inibizione significativa rispetto al sito di controllo del 33%, 70% e 61% rispettivamente (figure 1A, B, C, D). Considerando che tra i principali inibitori dell'attività colinesterasica ci sono composti organofosforati e carbammati che sono alla base delle formulazioni di moltissimi pesticidi largamente impiegati in agricoltura, è probabilmente logico aspettarsi dei livelli di inibizione significativi alla foce dei due fiumi che drenano vasti bacini agricoli.

*NADPH-citocromo C-reduttasi (reduttasi).* L'enzima è coinvolto nei processi di stress ossidativo. L'attività è stata misurata nei microsomi di ghiandola digestiva (3 pool di 20 animali per ogni stazione di campionamento) seguendo spettrofotometricamente la riduzione del citocromo C. L'attività è espressa in nmoli/min/mg proteina. L'attività reduttasica ha mostrato livelli più elevati rispetto al sito di controllo soprattutto nei siti allestiti all'interno delle aree portuali di Livorno e Viareggio, aree in cui l'esposizione a metalli pesanti ed idrocarburi poliaromatici può indurre risposte adattative legate al turn-over delle attività reduttasiche. In particolare nel sito di Livorno l'attività risulta elevata fino a 3 volte il valore riscontrato nel sito della Palmaria (prelievi del periodo febbraio-aprile 2003, maggio-luglio 200 e gennaio-aprile 2004, figure 2A, B, C, D).

*Glutathione S-transferasi (GST).* L'enzima è coinvolto nelle reazioni di coniugazione di numerosi xenobiotici (reazione di fase II) e nei processi legati allo stress ossidativo. L'attività

glutattione S-transferasi è stata quantificata nel citosol di ghiandola digestiva (3 pool di 20 animali per ogni stazione di campionamento) utilizzando il 1-cloro-2,4-dinitrobenzene come substrato e l'attività è stata espressa in nmoli/min/mg proteina. Similmente a quanto osservato per l'attività reduttasica, i campioni del sito di Livorno hanno mostrato livelli di attività significativamente superiore a quelli riscontrati nel sito della Palmaria (circa 2 volte) in tutte le campagne di campionamento (figure 3A, B, C, D). L'aumento dell'attività può indicare un aumento della attività di detossificazione e coniugazione dovuto all'esposizione a xenobiotico appartenenti a diverse classi di sostanze quali, PCB diossino-simili, diossini, idrocarburi poliaromatici.

*Heat shock protein (HSP) 70.* Le HSP70 sono proteine presenti ubiquitariamente nei batteri, nelle piante e negli animali, altamente conservate dal punto di vista filogenetico. Le HSP70 vengono intensivamente sintetizzate dalla cellula a fronte di differenti eventi stressanti quali il calore oppure l'esposizione a metalli pesanti. Diversi autori hanno evidenziato l'induzione di HSP70 con metodi immunochimici in molluschi bivalvi quali ad esempio *Mytilus edulis* a seguito di trattamenti con cadmio, piombo e rame. Per il monitoraggio delle HSP70 in questa ricerca è stato utilizzato un metodo immunochimico, il Western blotting. Per l'elettroforesi delle proteine microsomiali (sia di branchie che di ghiandola digestiva) è stato utilizzato un gel di acrilammide al 7,5 % in presenza di sodiododecilsolfato (SDS), caricando nei pozzetti 30 µg di proteina microsomiale. L'analisi Western blot è stata condotta trasferendo le proteine dal gel elettroforetico di poliacrilammide (da dove sono state separate in base al loro peso molecolare), ad una membrana di nitrocellulosa. Sono stati utilizzati anticorpi mouse anti-HSP70 monoclonali (Stressgen biotechnologies) (diluizione 1:1000) e per la rilevazione del segnale sono state utilizzate IgG anti-mouse coniugate con la perossidasi (diluizione 1:1000), utilizzando per la soluzione di sviluppo il 4-cloro-1-naftolo. A seguito di alcuni esperimenti di dot-blot e Western blotting finalizzati ad ottimizzare il saggio immunoenzimatico, sono state condotte diverse analisi Western blotting sulle proteine microsomiali di ghiandola digestiva. Gli anticorpi utilizzati riconoscono in tutti i microsomi utilizzati una proteina di peso molecolare molto prossimo al controllo positivo impiegato, costituito da 500 ng di HSP70 di ratto (ricombinante, peso molecolare ~ 70 kDa, Stressgen biotechnologies). La tendenza generale mostra la presenza di un debole segnale nei microsomi provenienti dai mitili del sito di controllo (Palmaria), e dai siti di Pisa e Magra. La presenza di un segnale più intenso è stata riscontrata nei microsomi provenienti dai siti di Livorno e talvolta dal sito di Viareggio. Nella figura 4 è mostrato un Western blot esemplificativo relativo alla campagna di campionamento maggio-luglio 2003I. Nei mitili del sito della Palmaria è presente un debole segnale mentre nei campioni di Livorno e Viareggio si rileva un segnale di notevole intensità. Questo risultato, che necessita di ulteriori indagini e conferme, potrebbe indicare una induzione delle proteine da stress legata ad una esposizione a contaminanti ambientali (quali ad es. metalli pesanti) presenti nelle aree portuali.

Nell'ambito dei 4 biomarkers impiegati, non sono state rilevate differenze significative tra i mitili provenienti dal sito di controllo della Palmaria durante le varie stagioni ed i mitili provenienti dal sito dell'Isola di Capraia in data 14/07/04.

Gli esperimenti condotti in laboratorio ed in acquario nello studio pilota hanno permesso di trarre le seguenti conclusioni:

- 1) I biomarkers relativi al sistema P450-dipendente, contrariamente ad alcune evidenze bibliografiche, non sono applicabili nei molluschi.
- 2) Le diverse temperature ed i diversi livelli di salinità a cui i mitili sono stati stabulati in acquario non hanno influenzato il turnover delle attività NADPH citocromo-C

- reduttasi, acetilcolinesterasi, glutatione S-transferasi ed i livelli di espressione delle HSP70.
- 3) Il trattamento con un idrocarburo poliaromatico (beta-naftoflavone) ha evidenziato una inducibilità delle attività NADPH citocromo-C reduttasi e glutatione S-transferasi.

Il successivo trasferimento in condizioni di campo delle esperienze maturate nello studio pilota ha permesso di trarre le seguenti conclusioni:

- 1) Non è stato evidenziato un effetto stagionale sui differenti prelievi nel sito di controllo (Palmaria) e non sono state riscontrate differenze significative tra il sito di Palmaria e quello dell'Isola di Capraia. La stabilità dei biomarkers lungo l'arco stagionale e tra i due siti a "teorico" basso livello di contaminazione costituisce un aspetto positivo riguardo all'utilizzo di questi indicatori nel monitoraggio ecologico.
- 2) Per quanto riguarda le reduttasi e la glutatione S-transferasi, enzimi legati al metabolismo ossidativo, risulta evidente l'effetto delle aree portuali (soprattutto Livorno) sull'incremento del turnover enzimatico. Pur essendo biomarkers non specifici (non indicano l'esposizione ad un singolo xenobiotico ma a diverse classi di composti xenobiotici) è intuibile una perturbazione del metabolismo (principalmente ossidativo) in una area quale quella della vasca di colmata del porto di Livorno, inevitabilmente ricca di metalli pesanti ed idrocarburi poliaromatici.
- 3) Considerazioni simili possono essere fatte per quanto riguarda la misurazione dell'espressione delle HSP70. I livelli di proteina immunoreattiva sono risultati superiori nell'area portuale di Livorno, rispetto al sito di controllo ed agli altri siti. Il lieve incremento di segnale anche nei campioni provenienti dalle foci dei fiumi, lascia intuire una possibile modulazione di questo biomarker.
- 4) L'attività colinesterasica ha mostrato una inibizione significativa soltanto (e non sempre) alle foci dei fiumi (Magra e Arno). Considerando che tra i principali inibitori dell'attività colinesterasica ci sono composti organofosforati e carbammati che sono alla base delle formulazioni di moltissimi pesticidi largamente impiegati in agricoltura, è probabilmente logico aspettarsi dei livelli di inibizione significativi alla foce dei due fiumi che drenano vasti bacini agricoli, soprattutto in corrispondenza di periodi di piena.

Il quadro generale mostra quindi un evidente stress metabolico a carico degli organismi stabulati in aree altamente contaminate quale quella del porto di Livorno. In prospettiva futura sarebbe interessante la possibilità di interpolare una batteria di enzimi legati allo stress ossidativo con l'analisi chimico-quantitativa delle principali classi di contaminanti ai fini della standardizzazione e della validazione definitiva, studiando l'effetto non solo dei singoli contaminanti ma anche l'effetto delle miscele complesse di essi.

L'importanza dell'analisi dei biomarkers è insita proprio nella loro aspecificità: in un contesto ecologico l'effetto biologico non è mai imputabile ad un singolo contaminante ma alle miscele complesse dei contaminanti presenti nell'ambiente naturale. Disporre quindi di uno strumento che possa misurare la sommatoria degli effetti biologici e cellulari è altamente auspicabile in virtù della sua capacità predittiva. Un biomarker deve essere visto come un "precoce campanello di allarme", uno strumento di prognosi ambientale capace di predire effetti sugli organismi e sulle popolazioni partendo dai livelli più bassi dell'organizzazione biologica quale la cellula.

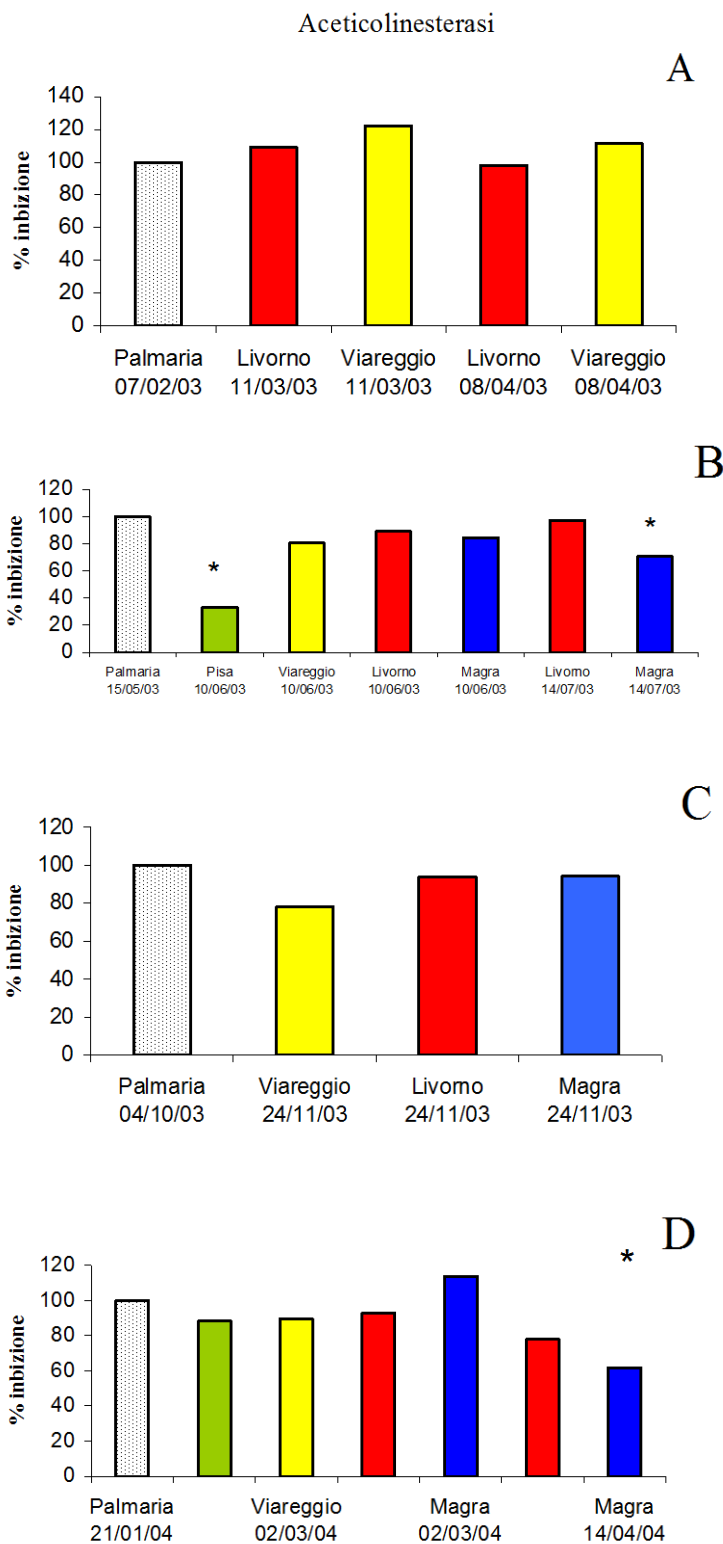


Fig. 1A, 1B, 1C, 1D: % di inibizione dell'attività acetilcolinesterasica nei siti di trapianto rispetto al sito di prelievo (Palmaria, 100%) nel periodo febbraio-aprile, maggio-luglio, ottobre-novembre 2003, gennaio-aprile 2004, rispettivamente. \* significativamente differente dai valori della Palmaria per  $p < 0.05$ .

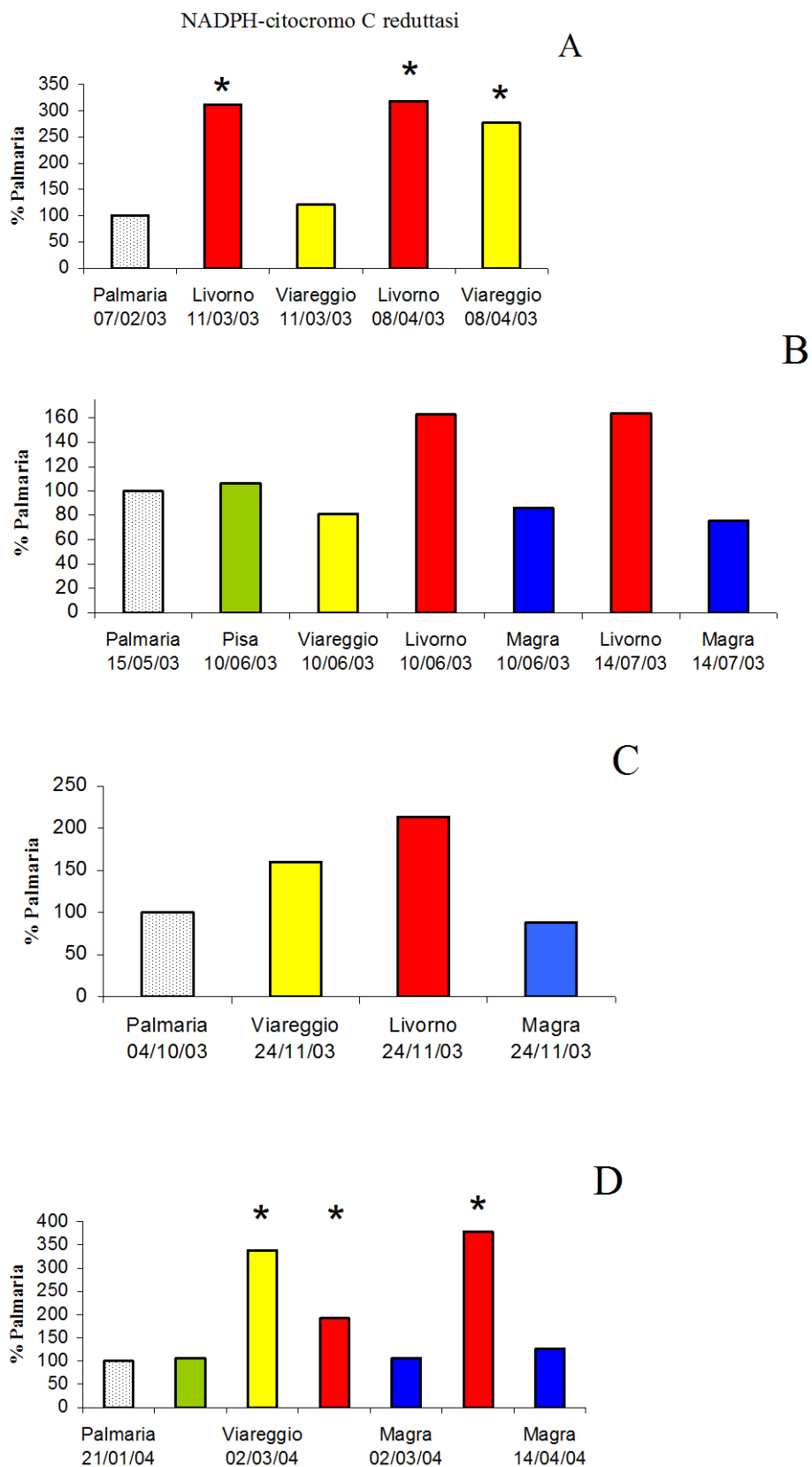


Fig. 2A, 2B, 2C, 2D: % dell'attività reduttasica nei siti di trapianto rispetto al sito di prelievo (Palmaria, 100%) nel periodo febbraio-aprile, maggio-luglio, ottobre-novembre 2003, gennaio-aprile 2004, rispettivamente. \* significativamente differente dai valori della Palmaria per  $p < 0.05$ .



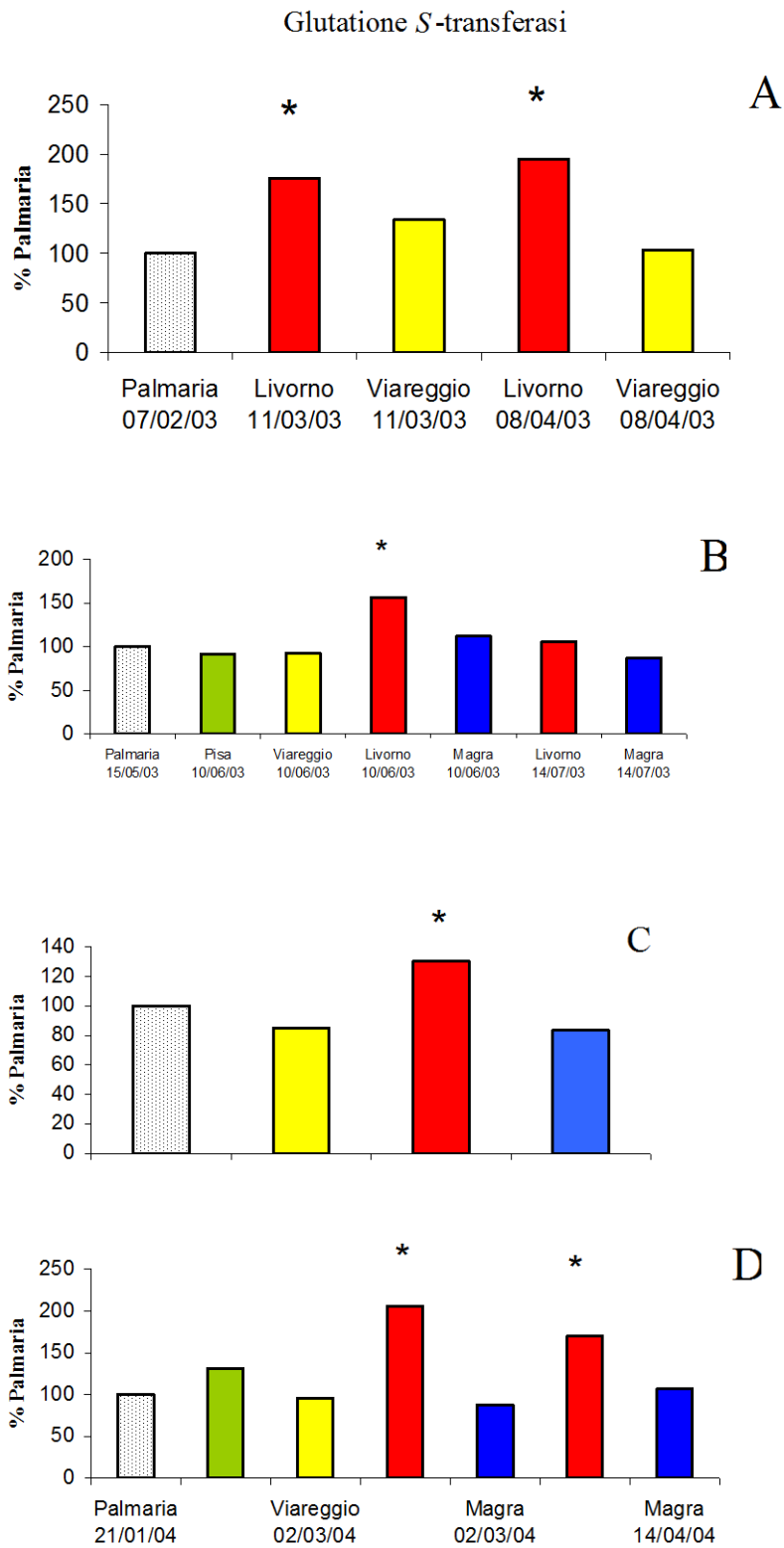
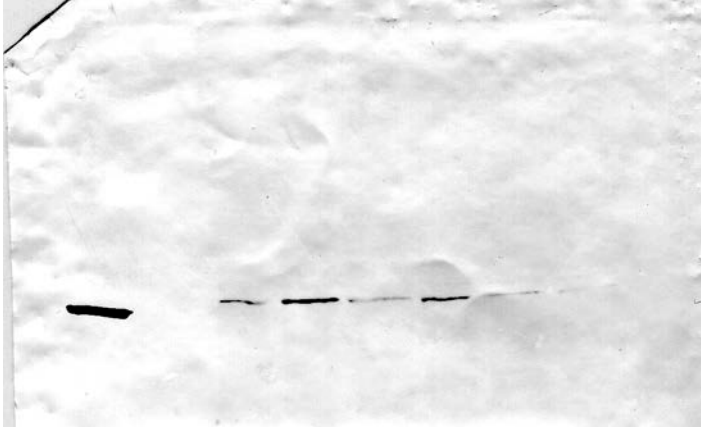


Fig. 3A, 3B, 3C, 3D: % dell'attività glutazione S-transferasi nei siti di trapianto rispetto al sito di prelievo (Palmaria, 100%) nel periodo febbraio-aprile, maggio-luglio, ottobre-novembre 2003, gennaio-aprile 2004, rispettivamente. \* significativamente differente dai valori della Palmaria per  $p < 0.05$ .



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  
Fig. 4: Western blot di microsomi di ghiandola  
digestiva. 1: vuoto; 2: HSP70 (ratto); 3 vuoto; 4:  
Livorno 10/06/03; 5: Livorno 14/07/03; 6: Magra  
10/06/03; 7: Viareggio 10/06/03; 8: Magra 14/07/03;  
9: Palmaria 15/05/03.

## **2) Biomarkers di danno genotossico: micronuclei in cellule branchiali di G.provencialis**

*Primo monitoraggio: periodo febbraio-aprile 2003.* Questo monitoraggio è stato portato a termine solo nelle due aree portuali. I risultati indicano che il livello complessivo di induzione di micronuclei nei mitili provenienti dai due siti si discosta in maniera altamente significativa dal valore riscontrato nel sito di riferimento al tempo "zero".

*Secondo monitoraggio: periodo maggio-giugno 2003.* I risultati del secondo monitoraggio indicano che le frequenze dei micronuclei della popolazione di mitili prelevati dal sito di riferimento dopo 15 giorni di esposizione nelle quattro aree costiere non differiscono significativamente da quelle riscontrate al momento del prelievo. Dopo 30 giorni si osserva un generale e significativo aumento dei livelli di micronuclei rispetto al valore basale. Nella postazione di Viareggio porto, invece, si rilevano frequenze ancora prossime a quelle osservate al tempo "zero". Dopo 45 giorni di esposizione, i valori dei livelli di micronuclei si mantengono pressoché costanti in tutte e quattro le postazioni campionate.

*Terzo monitoraggio: periodo novembre 2003.* Sulla base dei risultati ottenuti con il secondo monitoraggio, abbiamo deciso di rinunciare anche ai campionamenti a 15 e a 45 giorni e abbiamo iniziato, nei quattro siti, un terzo monitoraggio costituito da un unico campionamento a 30 giorni. I risultati evidenziano un significativo aumento delle frequenze di MN nei mitili prelevati dalla stazione di riferimento dopo 30 giorni di esposizione nelle aree portuali di Viareggio e Livorno e nel sito fluviale localizzato alla foce del fiume Arno. Al contrario, tale aumento non si riscontra per i mitili posizionati alla foce del fiume Magra, nei quali i livelli di micronuclei rimangono ancora comparabili a quelli rilevati al momento del prelievo dal vivaio della Palmaria.

*Quarto monitoraggio: periodo gennaio-aprile 2004.* Il quarto ed ultimo monitoraggio è stato programmato con la finalità di confrontare, in almeno due campionamenti, i dati di genotossicità di tutti e quattro i siti con quelli ottenuti dalle altre metodologie sperimentali impiegate nel progetto (Linea 1, 3 e 4). A seguito dell'imcombenza del periodo delle festività pasquali, abbiamo deciso di effettuare i campionamenti previsti dopo 40 e 90 giorni dal momento del trapianto dei mitili dal vivaio della Palmaria. In questo modo volevamo verificare anche se i tempi di comparsa e permanenza del danno cromosomico potessero subire variazioni significative rispetto a quanto osservato in precedenza. Tuttavia, ancora una volta per cause non dipendenti dalla nostra volontà, nei due siti porto di Viareggio e foce fiume Arno non è stato possibile effettuare il prelievo di mitili a 90 giorni.

I risultati evidenziano un significativo aumento delle frequenze di MN nei mitili prelevati dal vivaio della Palmaria dopo i primi 40 giorni di esposizione nelle aree portuali di Viareggio e Livorno. Tale incremento non viene riscontrato nei mitili posizionati alla foce del fiume Magra ed alla foce del fiume Arno che mantengono frequenze di MN solo di poco più elevate rispetto al valore osservato al tempo "zero". Dopo tre mesi di esposizione nelle due sole aree in cui è stato possibile recuperare i mitili (foce fiume Magra e porto di Livorno), i livelli di MN rimangono ancora comparabili a quelli riscontrati al primo campionamento, sebbene abbiano cominciato a declinare lievemente. I dati provenienti da quest'ultimo campionamento confermano ancora una volta le precedenti evidenze sperimentali.

I risultati di tutti e quattro i monitoraggi effettuati nel periodo complessivo del progetto sono riassunti sinteticamente nella figura 5.

*Campionamento isola della Capraia: luglio 2004.* Il confronto fra i risultati delle analisi citogenetiche effettuate sui mitili prelevati dall'impianto di maricoltura dell'isola Capraia con quelli dei mitili provenienti dal vivaio della Palmaria viene riportato in figura 6. Le frequenze di MN rilevate all'isola Capraia sono significativamente più basse rispetto a quelle osservate al sito di prelevamento durante il secondo e terzo monitoraggio, e comparabili a quelle ottenute durante il primo e quarto monitoraggio.

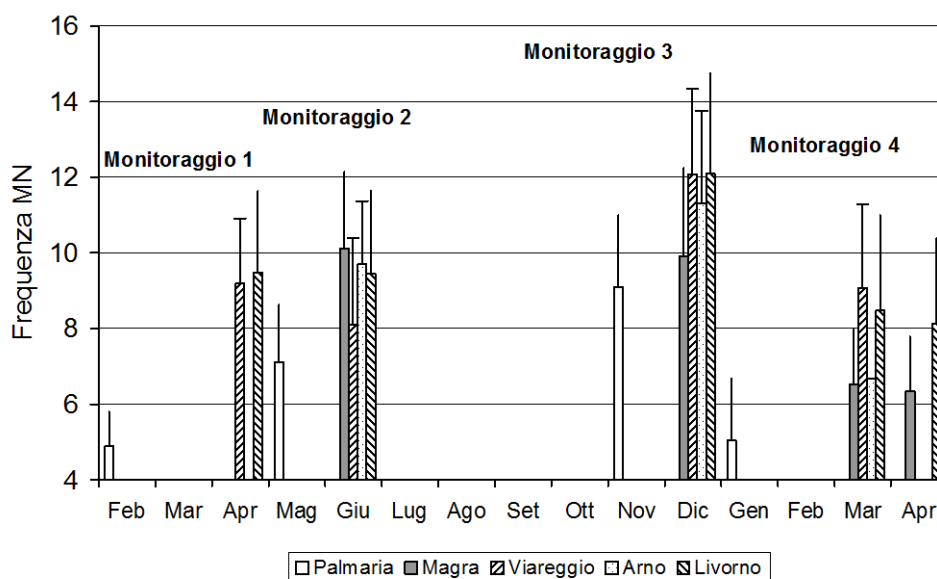
I monitoraggi delle quattro aree costiere del Mar Ligure effettuati adottando la strategia del trapianto di mitili dal vivaio dell'isola Palmaria, ed il campionamento di una popolazione di mitili sviluppatasi nell'impianto di maricoltura dell'isola Capraia hanno messo in luce quanto segue:

1. l'induzione del danno cromosomico (MN) nelle cellule branchiali dei mitili si manifesta dopo circa 30 giorni di esposizione nelle acque marine da noi monitorate, indipendentemente dalla tipologia dell'area e dalla natura della contaminazione (è lecito, infatti, supporre che un ambiente portuale contenga un carico qualitativo e quantitativo di inquinanti di natura differente da quello presente alle foci dei fiumi);
2. la risposta ritardata può essere quindi interpretata come il tempo necessario per permettere all'organismo di bioconcentrare i contaminanti genotossici nei propri tessuti fino al raggiungimento della "dose soglia";
3. il prolungamento del tempo di esposizione fino a 45 o 60 giorni non è in grado di determinare induzione di danno genotossico in quelle aree dove, dopo 30 giorni, si apprezzavano ancora, nei mitili, frequenze di MN comparabili ai valori espressi al tempo "zero";
4. il danno cromosomico si esprime ancora con la medesima entità anche dopo 3 mesi di permanenza nelle aree marine.
5. nel complesso, le frequenze spontanee medie di micronuclei in cellule branchiali di *Mytilus galloprovincialis* registrate nei mitili dopo esposizione nelle aree costiere monitorate risultano quasi sempre significativamente differenti rispetto al tempo "zero", sebbene non raggiungano valori particolarmente elevati;
6. l'esposizione dei mitili nelle aree ha infatti determinato, rispetto alle frequenze spontanee rilevate al momento del trapianto, un raddoppio dei valori durante il primo monitoraggio, un incremento compreso tra il 20-40% durante il secondo e terzo monitoraggio e un'induzione di MN di circa il 60-80% durante il quarto monitoraggio;
7. le analisi citogenetiche, sempre limitatamente ai periodi monitorati, indicano comunque una maggior prevalenza di danno genotossico, seppure non di entità elevata, nelle aree portuali rispetto alle aree fluviali, in particolare nei confronti della postazione sita alla foce del fiume Magra;
8. il grado dell'induzione di MN rilevata, durante ciascun monitoraggio, nelle aree monitorate è altresì correlato al livello basale osservato al momento del prelievo dal sito di prelevamento;
9. le frequenze spontanee medie di MN dei mitili provenienti dal vivaio della Palmaria registrate prima dell'esposizione nelle quattro aree costiere mostrano minimi nel periodo invernale (4.88 e 5.03‰) ed incrementi progressivi in tarda primavera e tardo autunno (7.10 e 9.10‰); tali frequenze non si discostano troppo dal range di valori rilevato in altri studi presenti in letteratura (1.5 e 6.8‰);
10. i livelli basali di MN dei mitili prelevati dal vivaio della Palmaria variano significativamente in funzione del periodo di campionamento e sembrano quindi poter riflettere variazioni stagionali nella qualità dell'acqua;

11. nei mitili campionati durante il periodo estivo all'isola della Capraia si osservano livelli medi spontanei di MN paragonabili a quelli riscontrati al vivaio della Palmaria durante i mesi invernali.

Nel complesso, la moderata, ma significativa, inducibilità di danno cromosomico rilevata nei mitili introdotti nelle quattro aree costiere evidenzia l'utilità ecotossicologica di questo metodo, nonché la sua pratica flessibilità. Inoltre, i risultati in nostro possesso sembrano confermare il presupposto secondo cui il grado di induzione del danno genotossico rilevato possa effettivamente riflettere il grado di contaminazione presente nelle acque, per lo meno limitatamente a quelle sostanze che interagiscono con il materiale genetico degli organismi. Sicuramente confermano l'importanza dei *biomarkers* molecolari e cellulari nel valutare gli effetti dei contaminanti sugli ecosistemi acquatici. Infatti, sebbene si renda necessaria una maggiore attenzione nell'interpretazione dei dati sperimentali nel momento in cui si volessero proiettare ai livelli più alti dell'organizzazione biologica, questi risultati hanno pur sempre valore come segnale precoce di allarme. Nel corso dell'ultimo decennio metodologie come quella da noi utilizzata, grazie anche all'evoluzione delle tecniche di analisi per il danno genotossico, sono diventate un punto di riferimento insostituibile per l'ecotossicologia acquatica, ed il numero di studi e le applicazioni "sul campo" sono cresciuti vertiginosamente confermando, quindi, la validità e la sensibilità delle strategie di base e degli approcci sperimentali impiegati.

Figura 5. Andamento delle frequenze di MN nelle 5 aree prescelte durante i 4 monitoraggi effettuati.



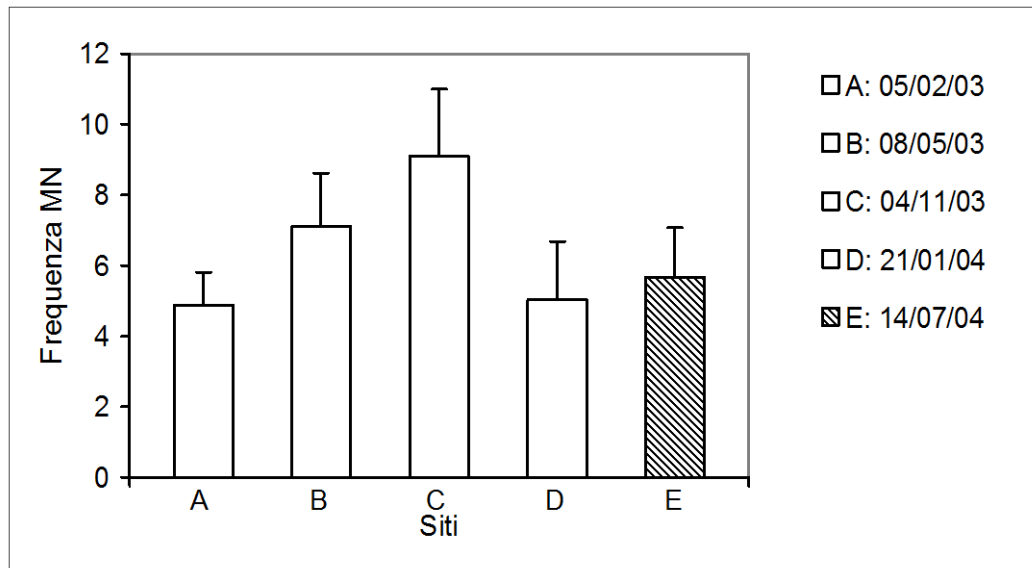


Figura 6. Frequenze di micronuclei in mitili prelevati dal vivaio dell'isola della Palmaria all'inizio dei quattro monitoraggi (A, B, C, D) e campionati all'isola della Capraia (E). Quest'ultimo valore differisce significativamente da quelli riscontrati nel sito di riferimento al tempo "zero" nei monitoraggi B ( $p < 0.05$ ) e C ( $p < 0.001$ ).

### 3) Ricerca ed identificazione di ceppi fagici nei mitili.

La ricerca di ceppi fagici negli organismi marini viene considerata un indicatore attendibile del grado di contaminazione, soprattutto di origine antropica, delle acque.

Rispetto alla stesura originale del progetto sono state introdotte alcune varianti che vengono elencate di seguito:

1- la ricerca dei fagi di *Bacteroides fragilis* è stata resa più sensibile attraverso l'utilizzo di un secondo stipite rivelatore (RYC 2056), in grado svelare uno spettro fagico più ampio rispetto allo stipite HSP-40;

2- si è inserita la ricerca dei colifagi somatici mediante lo stipite rivelatore di *E.Coli* WG5, in grado di svelare uno spettro di colifagi appartenenti a 4 diverse famiglie virali, ampliando così le informazioni sulla presenza di fagi nelle acque;

3- la rilevazione dei fagi di *B. fragilis* mediante PCR non è stata eseguita in quanto:

- i primi risultati sull'isolamento ci indicavano che i fagi litici per *B. fragilis* HSP-40, a differenza di quelli per *B. fragilis* RYC 2056, erano un reperto molto raro;
- le sequenze genomiche disponibili in gene bank ai fini della selezione dei primers per poter allestire la PCR si riferivano solo al fago B40-8 isolato tramite HSP-40, mentre nessuno dei fagi litici per *B. fragilis* RYC 2056 risultava sequenziato, si presentavano pertanto grosse difficoltà a disegnare primers specifici che amplificassero sequenze genomiche di questo fago;
- sulla base delle prime esperienze si è appurato inoltre che la PCR avrebbe fornito una sensibilità decisamente inferiore rispetto alle metodiche di isolamento da noi utilizzate, le quali teoricamente sono in grado di svelare, tramite la metodica di arricchimento, fino ad una sola particella fagica dispersa in 20 g di tessuto di mitili;

Considerando i 5 prelievi fatti nella stazione 0 al momento del posizionamento dei mitili, i prelievi fatti successivamente al posizionamento nelle stazioni 1, 2, 3, 4 ed il prelievo fatto nella stazione 5, sono stati eseguiti un totale di 18 diversi campionamenti.

Nella Tabella 1 vengono riportati i risultati relativi alle positività per colifagi somatici, fagi di HSP40 e fagi di RYC 2056, espressi come rapporto fra il numero dei prelievi positivi e il numero dei prelievi eseguiti per ciascuna stazione.

Tabella 1. Rilevazione dei fagi nelle stazioni di studio

Stazione	Numero prelievi	Positività* Colifagi	Positività * fagi di HSP 40	Positività * fagi di RYC 2056
0	6	0.83	0	0.83
1	10	1	0	0.80
2	9	0.89	0.11	0.44
3	6	0.83	0.17	0.50
4	12	1	0.17	1
5	1	0	0	0

\* Rapporto n° prelievi positivi/n° prelievi

Nel grafico 7 sono riportati i risultati ottenuti per isolamento di colifagi somatici nelle stazioni 1 – 4 successivamente al secondo posizionamento dei mitili, quello che ha consentito un numero di prelievi maggiore e più esteso nel tempo.

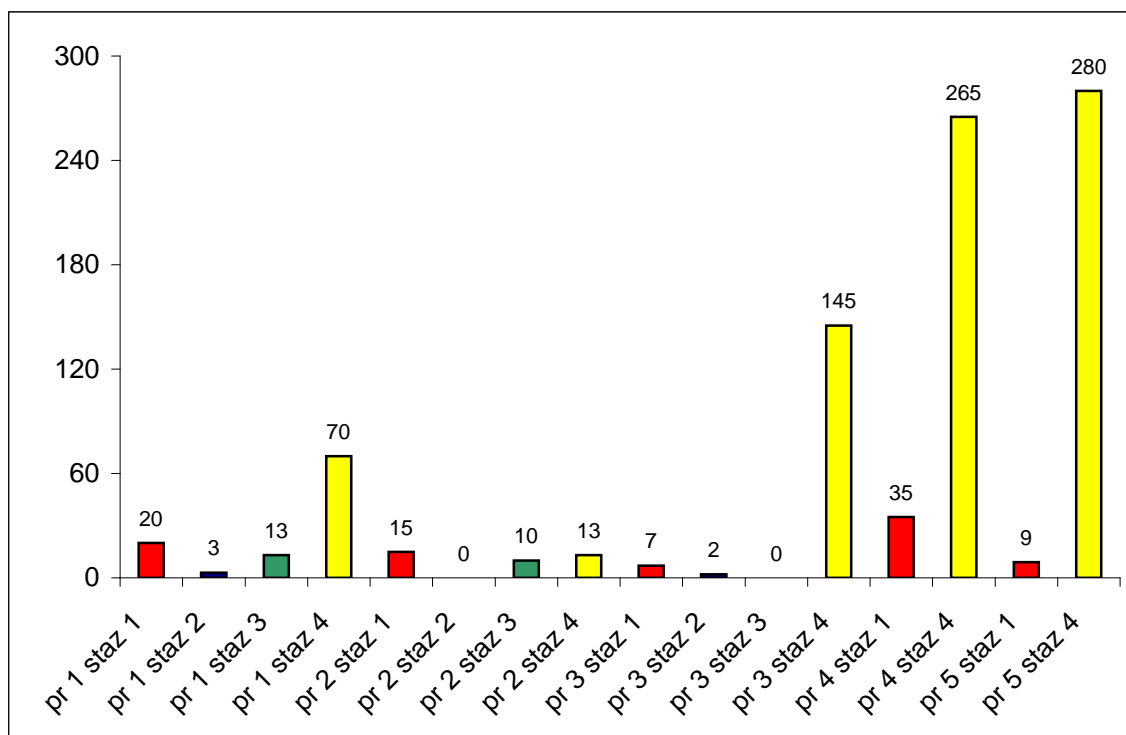


Figura 7. Risultati colifagi somatici (UFC 0,2g) nei 5 prelievi (pr 1-5) successivi al secondo posizionamento dei mitili nelle stazioni 1-4.

Nelle stazioni di studio 1 - 4 sono stati isolati dai mitili, colifagi somatici anche se con frequenza diversa. Fra i campioni risultati positivi i titoli in UFP/0,2 g di tessuto oscillavano da 1 a 500. Solo nelle stazioni 2, 3 e 4 sono stati isolati fagi litici per HSP 40, a titolo inferiore a 1 UFP/0,2g di tessuto. Nelle stazioni 1 - 4 sono stati isolati fagi litici per RYC 2056, i titoli per questi fagi sono stati sempre molto bassi, in 13 casi inferiori ad 1 UFP/0,2g di tessuto e in 14 casi variavano da 1 a 10 UFP/0,2g di tessuto. Nella stazione 0 di partenza dei mitili sono stati comunque isolati colifagi somatici e fagi litici per RYC 2056 in 5 prelievi su 6, anche se i titoli sono stati molto bassi (da 1 a 37 UFP/0,2g di tessuto per i colifagi; da meno di 1 a 2 UFP/0,2g di tessuto per i fagi litici per RYC). Questo fatto ha reso più difficile la valutazione di contaminazione delle stazioni di studio relativamente a questi fagi. Nella stazione 5 presso l'isola di Capraia, dove sono stati prelevati mitili naturali, non sono stati isolati fagi.

Il prelievo nella stazione 0 fatto al momento del posizionamento aveva fornito risultati negativi per colifagi somatici per cui è stato possibile valutare le variazioni durante i successivi prelievi. Dai risultati si deduce che la stazione 4 è risultata la più contaminata in assoluto nel corso dei 5 prelievi eseguiti, seguita dalle stazioni 1, 3 e 2. Nella stessa campagna di prelievi la stazione 4 è risultata positiva al terzo prelievo anche per fagi di HSP 40, mentre per i fagi di RYC isolati ai più riprese nelle stazioni 4, 3 ed 1 i risultati non possono essere considerati significativi in quanto il fago era già presente nei mitili prelevati dalla stazione 0 al momento del posizionamento. Anche se è molto probabile che l'infezione si sia mantenuta e/o acquisita nelle stesse stazioni di studio come è successo nella campagna seguita al posizionamento del terzo posizionamento quando i mitili della stazione di partenza non contenevano fagi di RYC.

Ambedue le metodiche utilizzate per l'isolamento dei fagi di *B. fragilis* e dei colifagi somatici nei mitili sono risultate di pratico impiego e molto sensibili. La sensibilità delle metodiche utilizzate è evidenziata dall'isolamento di fagi dai mitili provenienti dalla stazione 0 di partenza considerata la meno inquinata. Nel contempo la specificità dei risultati è confermata



dal fatto che nella stazione 5, quella considerata la più “pulita” in assoluto, non sono stati isolati fagi.

Il metodo utilizzato per l’isolamento di colifagi somatici risulta rapido e di facile esecuzione. L’isolamento viene fatto direttamente dal surnatante dell’omogeneizzato di mitili, ed utilizzando diluizioni scalari di questo si può determinare subito il titolo virale.

Per l’isolamento dei fagi di *B. fragilis*, il metodo di arricchimento è necessario per ottimizzare la sensibilità. Eseguendo la titolazione sui campioni di omogeneizzato risultati positivi all’arricchimento si nota che nella maggior parte dei casi, a causa del basso titolo virale, in mancanza del test di arricchimento, la presenza del fago non sarebbe stata svelata.

Le differenze riscontrate negli isolamenti di fagi con i due stipiti rivelatori di *B. fragilis* sono in accordo con quanto osservato da altri autori. Lo stipite di *B. fragilis* RYC 2056 permette di isolare uno spettro ampio di fagi presenti nelle acque a seguito di contaminazione fecale di origine umana e/o animale; mentre lo stipite di *B. fragilis* HSP 40 permette di isolare uno spettro più ristretto di fagi da contaminazione fecale quasi esclusivamente di origine umana. Nonostante che lo stipite RYC si confermi come lo stipite di scelta per il suo ampio spettro di sensibilità, l’impiego in parallelo dei due stipiti batterici sugli stessi campioni può fornire informazioni supplementari sull’origine della contaminazione, utili ai fini della valutazione del rischio di presenza di virus enterici umani. I fagi di *B. fragilis* RYC 2056 sono stati rilevati a titoli più bassi rispetto ai colifagi somatici, ma la frequenza del loro isolamento è stata di poco inferiore. Pertanto considerando che i fagi di *B. fragilis* RYC 2056 forniscono maggiori informazioni dei colifagi sul rischio di presenza di virus enterici nei mitili (3, 5, 7, 10), la metodica usata per l’isolamento dei primi può essere considerata sufficientemente sensibile per essere applicata nei controlli di routine. Sulla situazione di contaminazione delle diverse stazioni di studio, l’esame complessivo dei dati dimostra che la stazione 4 è risultata di gran lunga la più contaminata seguita dalle altre in diversa misura, il metodo può essere pertanto utilizzato per valutare diversi gradi di contaminazione fagica in situazioni di campo. Vista la sufficiente standardizzazione raggiunta nelle metodiche si ritiene che uno sviluppo futuro della ricerca possa essere quello di una loro applicazione su scala più ampia con mitili naturali raccolti da diversi siti critici per avere informazioni sul pericolo di contaminazione virale.

#### **4) Valutazione dell'attività estrogeno-mimetica di sostanze xenobiotiche presenti in acque superficiali.**

Sono documentate in letteratura evidenze che una vasta varietà di composti chimici prodotti dall'uomo e presenti nell'ambiente acquatico, comunemente denominati Endocrine Disruptors (EDs) o interferenti endocrini, costituiscono un rischio per la biodiversità animale oltre che per la salute dell'uomo attraverso la catena alimentare.

Gli EDs hanno la potenzialità di esercitare tossicità a molti livelli e attraverso meccanismi molecolari diversi sul sistema ormonale in particolare estrogenico, androgenico e tiroideo.

Gli effetti endocrini e riproduttivi di queste sostanze sembrano imputabili principalmente alla loro capacità di: (a) deregolare la sintesi e il metabolismo degli ormoni endogeni; (b) alterare la sintesi dei recettori ormonali; (c) mimare l'effetto degli ormoni endogeni; (d) antagonizzare l'effetto degli ormoni endogeni.

Gli effetti avversi in vari organismi acquatici includono anormale funzione tiroidea e sviluppo, diminuita fertilità e successo riproduttivo, demascolinizzazione e femminilizzazione, defemminilizzazione e mascolinizzazione, diminuita sopravvivenza dei nati. I composti chimici e le miscele complesse capaci di deregolare il sistema endocrino possono compromettere quindi la salute riproduttiva e il successivo sviluppo della fauna selvatica fino all'estinzione di specie, come è accaduto nei grandi laghi americani e sta accadendo nel Mare del Nord.

I composti antropogenici riscontrabili in acque superficiali (dilavamento terreni agricoli, cantieristica navale, nautica da diporto, scarichi industriali, effluenti di impianti di trattamento di acque reflue urbane, etc.) la cui attività ormono-mimetica è stata accertata, sono molteplici e appartenenti a classi chimiche diverse (diclorodifenilietani, ciclodieni, esaclorobenzeni, esaclorocicloesani, PCBs, diossine, PCDD, mercurio, stagno tributile come antifouling per gli scafi).

*Linea di lievito utilizzata.* È stata utilizzata la linea di lievito ricombinante RMY326 ER-ERE (auxotrofa per triptofano ed uracile) contenente il recettore  $\alpha$  umano per gli estrogeni (hER $\alpha$ ) inserito nel plasmide pG/ER(G), ed un elemento di risposta agli estrogeni (ERE) a monte del gene reporter lacZ che codifica per l'enzima  $\beta$ -galattosidasi contenuto nel plasmide PUC $\Delta$ SS-ERE. Inoltre, nel plasmide pG/ER(G) è contenuto il gene TRP1 che codifica per un enzima richiesto per la biosintesi del triptofano, mentre nel plasmide PUC $\Delta$ SS-ERE è contenuto il gene URA3 che codifica per un enzima richiesto per la biosintesi dell'uracile.

*Bioassay (Saggio della  $\beta$ -galattosidasi).* Il saggio della  $\beta$ -galattosidasi valuta la capacità di molecole di riconoscere e di legare il recettore estrogenico umano espresso dal lievito ricombinante. L'attivazione del recettore conseguente al legame con il ligando induce la trascrizione del gene reporter lacZ che codifica per l'enzima  $\beta$ -galattosidasi la cui produzione è rilevabile e quantificabile mediante spettrofotometria. Per ogni saggio sono state effettuate tre repliche. I risultati sono espressi come rapporto tra la attività  $\beta$ -galattosidasica indotta da ogni singolo campione e quella indotta dal 17  $\beta$ -E<sub>2</sub> (10 nM) x 100.

*Analisi statistica.* L'analisi statistica è stata condotta mediante software Statgraphic versione 5.1 Plus. Un valore di  $p < 0,05$  è stato usato come livello di significatività. Nella messa a punto della metodica sono stati adottati criteri minimi per stabilire quando considerare positiva la risposta del test: 1) un composto è da considerarsi positivo se l'analisi della varianza per componenti mostra che la variabilità dovuta al trattamento (dose) è significativamente ( $p < 0,05$ ) maggiore di quella dovuta alla variabilità intersperimentale (esperimenti) e gli effetti sono stati valutati mediante analisi multifattoriale della varianza (MANOVA); 2) deve esserci una correlazione significativa dose-risposta in un range di dosi, almeno due. La valutazione è stata fatta utilizzando il Multiple Range Test (MRT) e l'analisi di regressione lineare (LRA). Sensibilità. Per valutare la sensibilità del ceppo abbiamo determinato la concentrazione di 17  $\beta$ -estradiolo ( $E_2$ ) e di dietilstilbestrolo (DES) che induce il 50% della massima attività enzimatica ( $EC_{50}$ ).

17  $\beta$ -estradiolo (estrogeno naturale). i valori di  $EC_{50}$  ottenuti con il ceppo di lievito da noi utilizzato si collocano nel range 0,2-1,5 nM che è il range di risposta riportato in letteratura internazionale e ottenuto con differenti costrutti di lievito.

Dietilstilbestrolo (estrogeno sintetico). I valori di  $EC_{50}$  si collocano tra 0,2 nM and 3 nM (Figura 8).

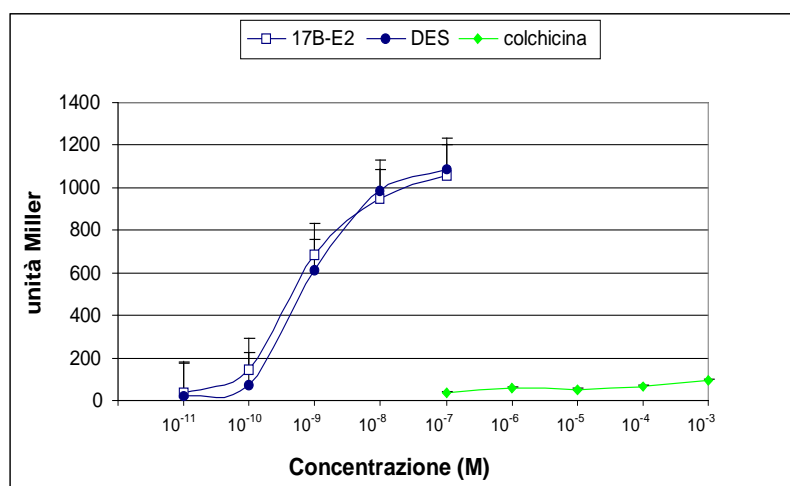


Figura. 8. Curva dose-risposta di 17 $\beta$ -estradiolo, DES, colchicina (controllo negativo)

*Specificità.* La specificità del costrutto è stata verificata sottoponendo al test composti chimici citati in letteratura come attivi e/o non attivi per attività estrogeno-simile: dietilstilbestrolo (DES), colchicina (Sigma, Milano, Italia), i fitoestrogeni naringenina (NG), naringina, quercetina (Aldrich Chemical Co., Milano, Italia), i biocidi toxaphene (TXP), deltametrina (DMT), i policlorobifenili (PCBs) congeneri 101 e 118 (Dr. Ehrenstorfer, GmbH, Ausburg, Germany), e sei composti organoclorurati (OCs): 1,1'-2,2,2-trichloroethylidene-bis(4-chlorobenzene)(DDT), 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethylene(DDE), dieldrina (DIE), aldrina (ALD), metossicloro (MTX) e esaclorocicloesano (BHC). Il test si è dimostrato altamente riproducibile se utilizzato in condizioni standardizzate. La metodologia utilizzata e i risultati di questo studio sono riportati dettagliatamente nella "prima relazione" del 30 giugno 2003.

Tabella 2. Attività  $\beta$ -galattosidasica (%) dei composti saggiati per valutare la specificità del ceppo.

<i>Composti</i>	<i>Concentrazione (M)</i>	<i>Attività <math>\beta</math>-galattosidasica (%)</i>
<i>17 <math>\beta</math>-estradiolo</i>	$10^{-7}$	<b>100</b>
<i>Dietilstilbestrolo</i>	$10^{-7}$	<b>100</b>
<i>Aldrina</i>	$10^{-4}$	<b>4,74</b>
<i>Colchicina</i>	$10^{-4}$	<b>&lt; 3,94</b>
<i>PCB 101</i>	$10^{-5}$	<b>18,35</b>
<i>PCB 118</i>	$10^{-5}$	85,88
<i>DDT</i>	$10^{-4}$	<b>2,77</b>
<i>DDE</i>	$10^{-4}$	<b>3,06</b>
<i>Deltametrina</i>	$10^{-4}$	30,7
<i>Dieldrina</i>	$10^{-4}$	<b>2,47</b>
<i>Esaclorocicloesano</i>	$10^{-4}$	<b>15,0</b>
<i>Metossicloro</i>	$10^{-4}$	57,8
<i>Naringenina</i>	$10^{-4}$	72,3
<i>Naringina</i>	$10^{-4}$	<b>2,93</b>
<i>Quercetina</i>	$10^{-4}$	<b>7,7</b>
<i>Toxaphene(*)</i>	$10^{-6}$	<b>0,66</b>

La risposta del toxaphene (\*) è stata calcolata alla concentrazione  $10^{-6}$  M poichè a  $10^{-4}$  M è stato osservato un marcato decremento della densità cellulare

*Sviluppo del metodo di estrazione di matrice organica da acque superficiali.* Sono stati messi a punto due sistemi di estrazione in fase solida della matrice organica di acqua di mare (colonne di resine XAD-2 e cartucce C-18 Sepack) e sono stati valutati l'efficienza di estrazione, i vantaggi e i limiti delle due metodiche. Poiché alcuni campioni presentavano torbidità e materiale corpuscolato in sospensione si è reso necessario introdurre una fase di prefiltrazione. Questa consente l'eliminazione del particolato grossolano (sabbia, plancton, frammenti di macroalghe e fanerogame marine, etc.) che potrebbe ostruire il letto adsorbente costituito dalla resina e facilita l'adsorbimento della matrice fine su cui possono essere condensati composti ad azione ormono-simile. Per la prefiltrazione sono stati utilizzati filtri Whatman (porosità  $8\mu\text{m}$ ). Gli estrogeni naturali e i composti chimici di sintesi estrogeno mimetici (xenoestrogeni) sembrano non essere trattenuti da filtri di tale porosità.

*Filtrazione su resine XAD-2.* Mediante pompa peristaltica collegata con tubi di teflon alle tuniche, l'acqua (20 litri) viene fatta fluire attraverso le colonne cromatografiche. Per ogni campione sono state utilizzate due colonne (diametro 1 cm) riempite di resina XAD-2 per una altezza di 20 cm ciascuna. La resina è stata condizionata prima dell'uso con lavaggi in acetone (15 ml) e metanolo (15 ml) per rimuovere tracce di contaminanti biologicamente attivi che potrebbero produrre errori sperimentali.

Sono state condotte prove per l'ottimizzazione del flusso/tempo in funzione dell'allestimento delle successive prove sperimentali e dell'organizzazione dell'attività di laboratorio. I campioni sono stati filtrati a velocità di flusso di 50 ml/min. Le colonne sono state asciugate

in flusso di azoto e successivamente eluite con metanolo (25 ml) e n-esano (25 ml). I solventi sono stati evaporati in Rotavapor.

L'estratto è stato risospeso in 2 ml di dimetilsolfossido (DMSO) e 10 ml sono stati aggiunti ad 1 ml della coltura di lievito allestita per il saggio. La concentrazione finale dell'estratto nel tubo test rappresenta il campione di partenza concentrato 100x.

*Filtrazione su cartucce C18.* Per la filtrazione su cartucce C18 è stato utilizzato il protocollo fornito per l'uso del Visiprep™ Manifold (Supelco). Le cartucce sono state condizionate prima dell'uso con lavaggi in metanolo (15 ml) e n-esano (15 ml). La filtrazione è stata effettuata a velocità di flusso di 17 ml/min. L'efficienza di recupero è stata valutata filtrando una soluzione di DES (13 µg/l) e saggiando l'estratto con il lievito. I risultati hanno mostrato una efficienza di recupero del 98%.

*Vantaggi e limiti delle due metodiche.* A parità di volume d'acqua processato con le due procedure, gli estratti ottenuti da resine XAD-2 hanno prodotto una maggiore induzione nel saggio biologico in vitro, indicando un maggior recupero della frazione organica con attività ormonosimile con questo sistema. Le resine XAD-2 necessitano però di un passaggio in flusso di azoto e di un maggior lavoro di preparazione a monte. Le cartucce C18 consentono una maggior velocità di applicazione, ma si intasano facilmente per la presenza nei campioni di materiale corpuscolato. In funzione dei risultati ottenuti sono state scelte le resine XAD per l'attuazione della campagna di monitoraggio.

*Applicazione in campo.* E' stato effettuato il monitoraggio di acque marine dell'Alto Tirreno di diversa tipologia (mare aperto, acque di transizione, aree portuali). I risultati sono presentati nelle figure 9,10,11.

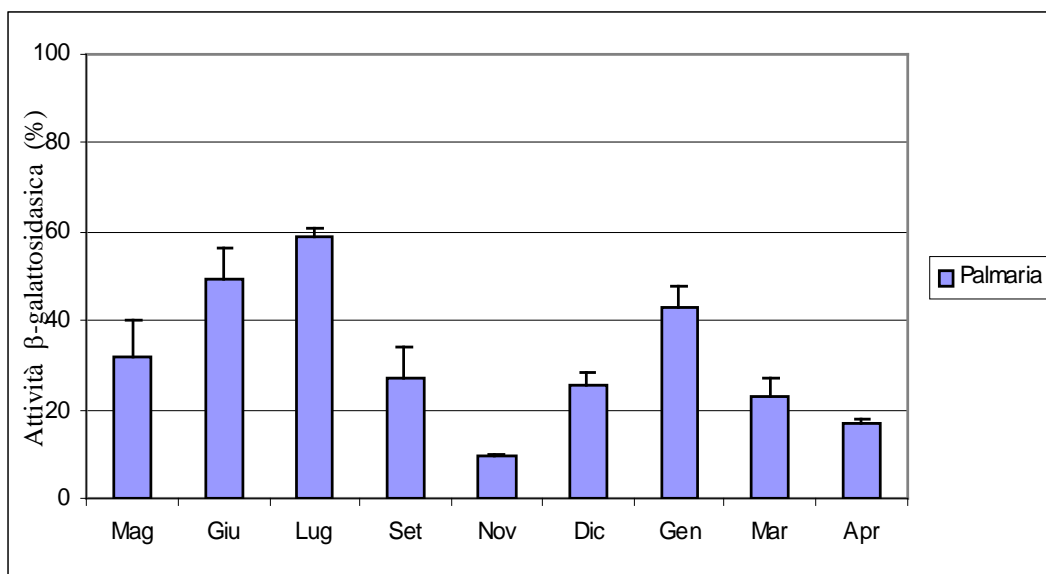


Figura 9. Mare aperto

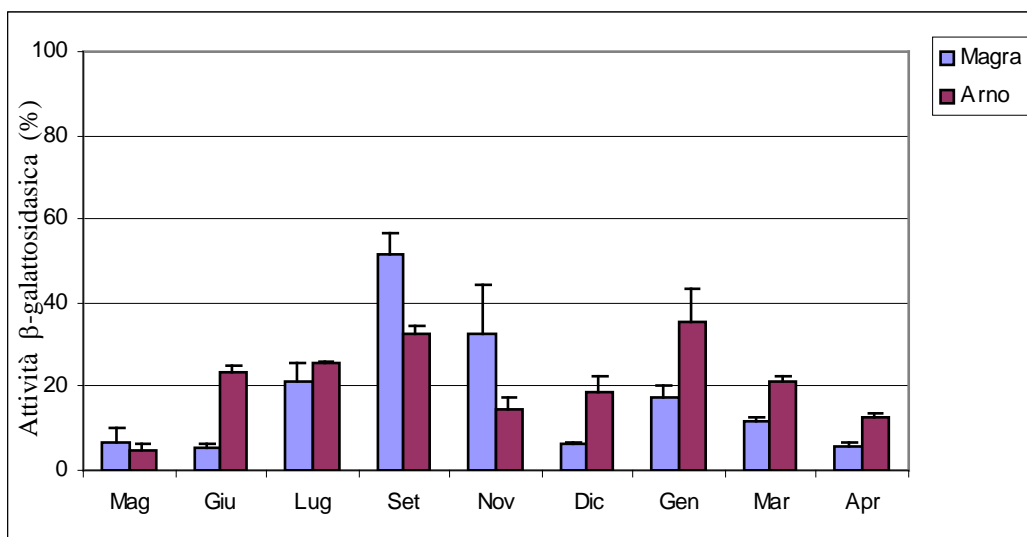


Figura 10. Acque di transizione

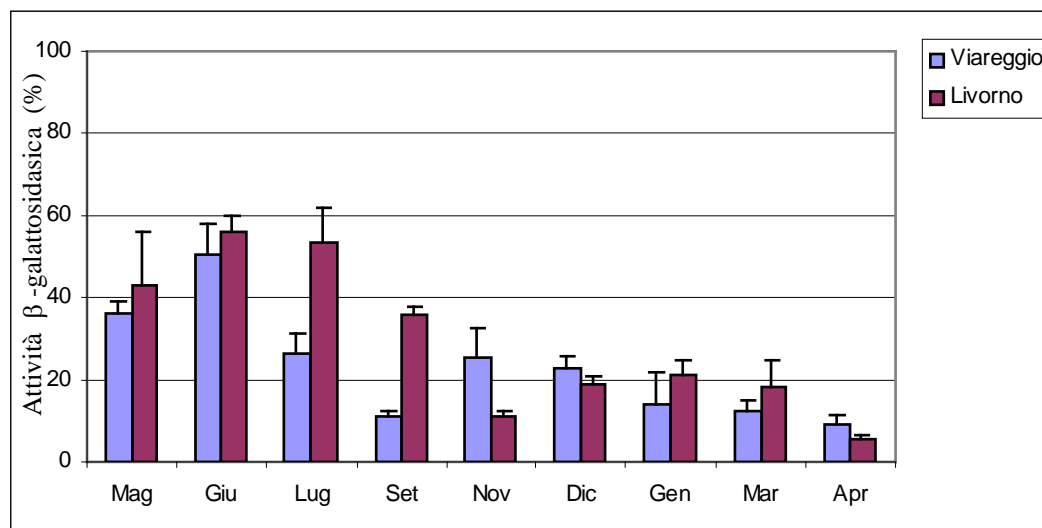


Figura 11. Acque portuali

*Attività estrogenica o agonista.* Come si evince dai grafici abbiamo evidenziato una significativa presenza nelle acque marine di sostanze capaci di legarsi al recettore estrogenico alfa umano (estrogenicità o attività agonista). Nel complesso dei 45 campioni, le acque hanno mostrato un diverso grado di inquinamento da parte di interferenti estrogenici compreso nel range 4,5% - 59,03%. Sono state evidenziate differenze statisticamente significative ( $p < 0,05$ ) dipendenti dal sito di campionamento.

Gli estratti delle acque di mare provenienti dalla Palmaria (Golfo di La Spezia) sono state le più attive ( $p = 0,0013$ ) nell'esprimere l'estrogenicità.

L'estrogenicità delle acque di transizione dell'Arno sono risultate significativamente ( $p < 0,05$ ) più contaminate da ED rispetto al Magra durante il periodo di campionamento.

Le acque prelevate nelle aree portuali di Livorno contenevano, rispetto a quelle di Viareggio, sostanze ad attività agonista significativamente maggiore ( $p < 0,05$ ).

Sono state osservate variazioni stagionali nella distribuzione di EDs con picchi di estrogenicità in Settembre, per le acque di estuario, e in giugno per le acque portuali ( $p < 0,05$ ). E' possibile allestire una scala scala dell'inquinamento da parte di sostanze con attività estrogenica secondo la quale il sito Palmaria è risultato quello a maggior contaminazione, seguito nell'ordine da Livorno > Viareggio > Arno > Magra.

*Attività antiestrogenica o antagonista.* E' stata valutata la eventuale presenza di sostanze in grado di inibire il legame estradiolo-recettore alfa e quindi di inibire l'attività dell'estradiolo (attività ormono-simile di tipo antagonista). Per studiare l'effetto antagonista le cellule di lievito sono state cotratte con i singoli campioni e con estradiolo a concentrazione 1 nM. Contemporaneamente è stato allestito un controllo positivo di cellule trattate soltanto con 17  $\beta$ -estradiolo 1nM. I risultati sono espressi come % della attività  $\beta$ -galattosidasi indotta dal controllo positivo (Tabella 3).

Tabella.3. Attività antiestrogenica o antagonista

	Maggio 2003	giugno	luglio	settembre	novembre	dicembre	Gennaio 2004	marzo	aprile
<b>P</b>	85,16±14,7	85,00± 6,7	74,56±17,4	65,22± 1,8	97,82±6,3	80,89±2,9	91,01±1,9	91,87±6,7	81,48±4,9
<b>L</b>	83,73±6,4	83,09±0,6	77,35±5,3	65,62±11,5	82,90±2,4	78,82±10,8	87,30±8,2	79,81±4,5	82,21±10,0
<b>V</b>	72,88±6,3	76,49±5,2	86,21±4,6	57,53±6,9	75,67±17,6	78,92±6,7	92,51±16,3	81,41±2,5	73,17±6,3
<b>M</b>	92,64±7,8	88,33±1,4	69,49±8,5	57,08±3,0	78,15±0,1	83,34±3,0	76,28±4,4	83,08±5,9	73,61±3,9
<b>A</b>	57,95±6,9	59,94±13,0	75,82±7,4	47,16±4,3	97,98±17,1	69,39±8,9	86,01±5,6	88,04±5,6	79,05±6,6

P, isola Palmaria; L, porto di Livorno; V, porto di Viareggio; M, Foce fiume Magra; A, foce fiume Arno.

Le acque raccolte alla foce del Magra e dell'Arno (acque di estuario o di transizione) e nell'area portuale di Viareggio hanno mostrato attività antiestrogenica significativamente più alta (Magra  $p < 0,005$ ; Arno  $p = 0,0002$ ; Viareggio  $p = 0,0068$ ) di quelle campionate nei pressi dell'isola Palmaria. L'attività antagonista delle acque portuali di Livorno non ha differito significativamente da quella delle acque prelevate in mare aperto nel Golfo di la Spezia. I campioni raccolti in settembre in tutti i siti di campionamento hanno mostrato la più alta attività antagonista. Il 66% dei campioni di acqua dell'estuario del fiume Arno hanno mostrato una presenza rilevante di inquinanti capaci di inibire il legame recettore-estradiolo, con un picco del 53% di inibizione nel mese di settembre.

La Direttiva 2000/60/EC del Parlamento Europeo stabilisce un'azione comune nel campo della politica degli ambienti acquatici comprese le aree vicino alla costa, gli estuari e i golfi ed individua tra gli inquinanti di cui è prioritario il rilevamento, "*sostanze che possono avere ripercussioni sulle funzioni steroidea, tiroidea, riproduttiva o su altre funzioni endocrine*".

Noi riteniamo che il *yeast reporter gene assay*, ceppo *S. cerevisiae* RMY ER-ERE 326, sia una metodologia sensibile ed efficace da usare come primo livello di screening per il monitoraggio della qualità degli ambienti idrici dal punto di vista della deregolazione endocrina. E' in questo modo possibile costruire una mappa di tale inquinamento, ed indirizzare ricerche più approfondite solo su quei siti in cui il rischio ecologico sia più rilevante.