



Ruolo delle diatomee nella valutazione delle acque correnti in rispetto alla Direttiva 2000/60/CE



Recepimento della Direttiva 2000/60/CE a livello Nazionale

- **Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale.** (G.U. n. 88 del 14/04/2006 – Suppl. Ordinario. n. 96)
- **Decreto Ministeriale 16 giugno 2008, n. 131. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. Regolamento recante i criteri tecnici per la caratterizzazione dei corpi idrici (tipizzazione, individuazione dei corpi idrici, analisi delle pressioni) per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante: «Norme in materia ambientale», predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 4, dello stesso decreto.** (GU n. 187 del 11-8-2008 - Suppl. Ordinario n.189)
- **Decreto Ministeriale 14 aprile 2009, n. 56. Regolamento recante «Criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici e l'identificazione delle condizioni di riferimento per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante Norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del decreto legislativo medesimo».** (GU n. 124 Suppl. Ordinario n. 83)
- **Decreto Ministeriale Regolamento recante “Criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali, per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 2 aprile 2006, n. 152, recante norme in materia ambientale” predisposto ai sensi dell’articolo 75, comma 3, del medesimo decreto (In pubblicazione)**

Fino ad oggi

- **Protocollo di campionamento**
- **Raccolta dati per l'Intercalibrazione**
- **Individuazione del metodo nazionale**
- **Decreti**



APAT

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

Metodi biologici per le acque. Parte I



XX / 2007

MANUALI E LINEE GUIDA

MACROINVERTEBRATI: www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/fiumi_macroinvertebrati.pdf
DIATOMEI: www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/fiumi_diatomei.pdf
MACROFITE: www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/laghi_macrofite.pdf
PESCI: www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/fiumi_fauna.pdf

Metodo

• Mancini L, Sollazzo C. (Ed.). *Metodo per la valutazione dello stato ecologico delle acque correnti: comunità diatomiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/19).

<http://www.iss.it/binary/publ/cont/0919web.pdf>

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Metodo per la valutazione dello stato ecologico
delle acque correnti: comunità diatomiche

A cura di
Laura Mancini (a) e Caterina Sollazzo (b)
(a) Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,
Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Direzione per la Qualità della Vita, Ministero dell'Ambiente
e della Tutela del Territorio e del Mare, Roma

ISSN 1123-5117
Rapporti ISTISAN
09/19

Inquadramento sistematico delle Diatomee

Regno: *Protista* (protisti fotosintetici)

Divisione: *Bacillariophyta*.

Classe: *Bacillariophyceae* dal latino *bacillum* = bastoncello.

Diatomee dal greco: *témnein* (tagliare) *diá* (attraverso).

Sono **alghe eucariotiche microscopiche unicellulari** (da 5 a 700 μm).

Si contano **più di 200 generi** di Diatomee (Round & Crawford, 1990). Possono vivere libere o formando colonie.

Si trovano con differenti specie sia in acque dolci che salate, sia in ambienti lotici che lentic, sia a reazione basica che acida.

Le Diatomee bentoniche colonizzano substrati inerti (litici) e vegetali formando una patina mucillaginosa di colore scuro.

Le Diatomee planctoniche rappresentano una grande frazione del fitoplancton.

Parete cellulare: frustulo

• **Componente inorganica:** **quarzite** o **silice amorfa idrata** ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) che costituisce oltre il 50% del peso secco della cellula. Questo gel è impregnato e reso resistente da metalli come alluminio, magnesio, ferro e titanio. Dopo la morte delle cellule la componente organica si degrada, mentre il frustulo siliceo si deposita sul fondale di oceani e laghi formando depositi di **farina fossile** o **tripoli** o **diatomite**.

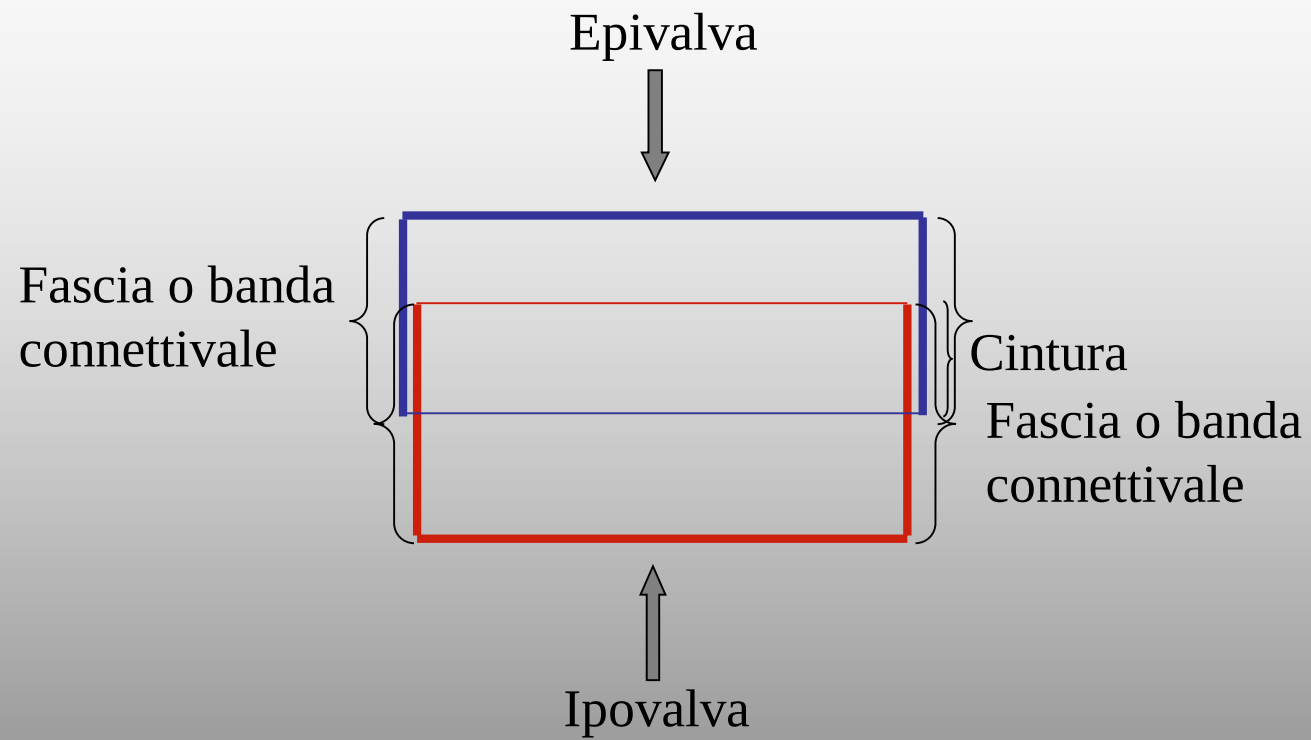
Le Diatomee fossili più antiche risalgono al primo Giurassico (circa 190-180 milioni di anni fa).



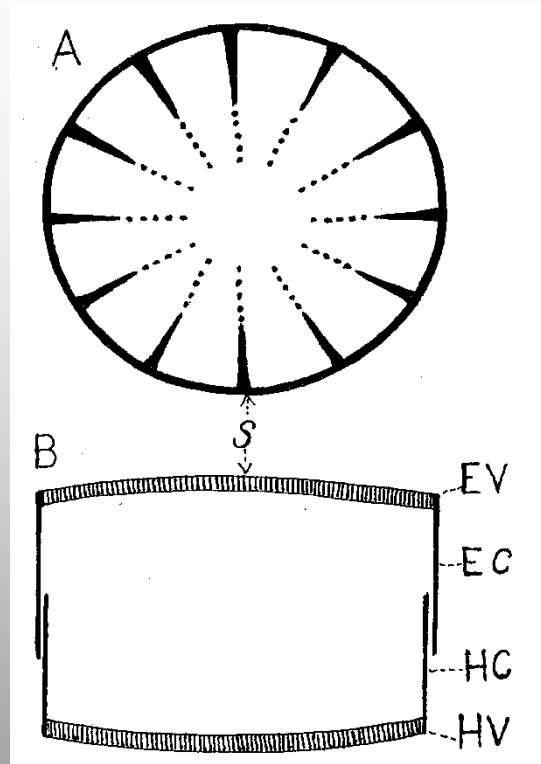
- produzione della dinamite e in particolari analisi di tipo cromatografico
- test di tromboplastina parziale attivata, per valutare la funzionalità di alcune componenti della cascata della coagulazione.
- enologia ed agricoltura

- **Componente organica:** **sostanze pectiche** (derivano dalla polimerizzazione dell'acido galatturonico) e **glucidi** (mannosio, arabinosio, ecc.).

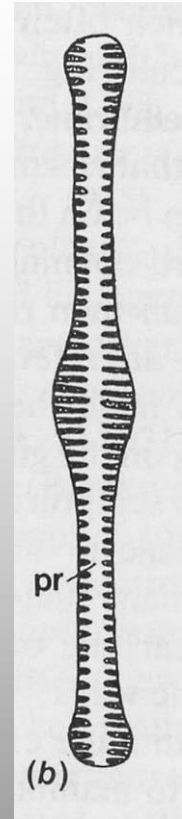
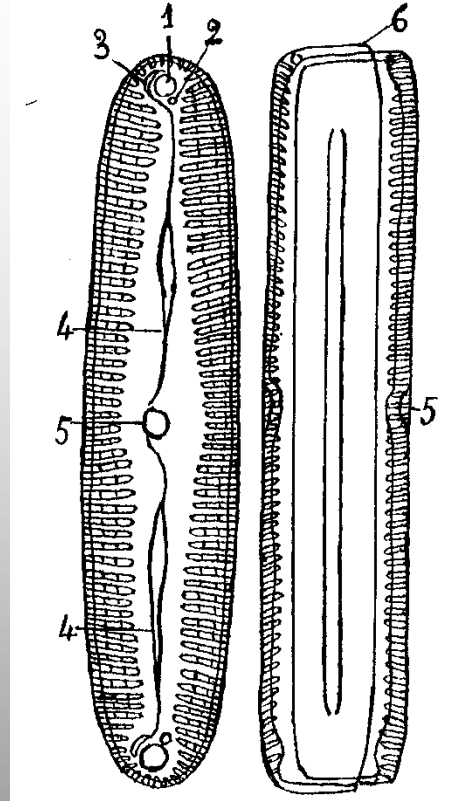
Il frustulo è composto da due **teche** o **valve**: l'**epivalva** e l'**ipovalva**.



Centrales



Pennales



Le Centriche non posseggono rafe (arafidee).

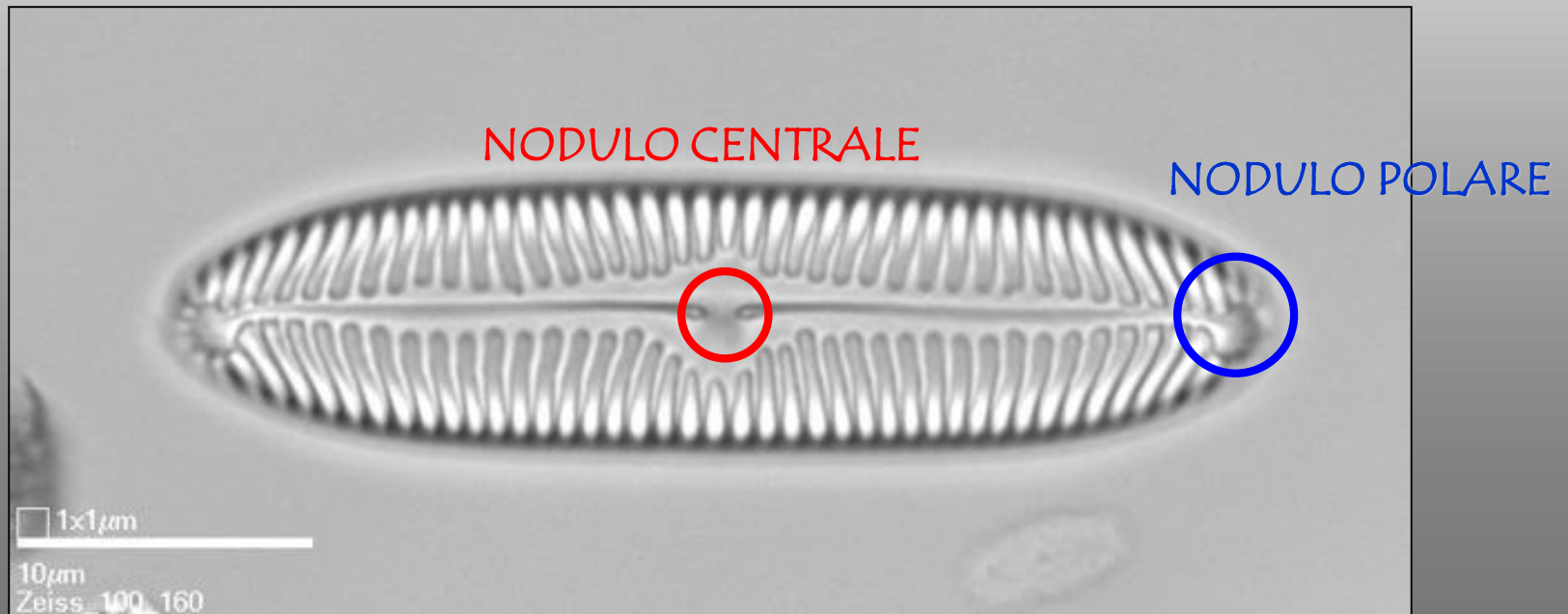
Nelle Pennate il rafe può essere su entrambe le valve (birafidee), su una sola valva (monorafidee) e a volte può mancare e può essere visibile uno pseudorafe.

RAFE

Fessura longitudinale che scorre lungo il piano apicale.

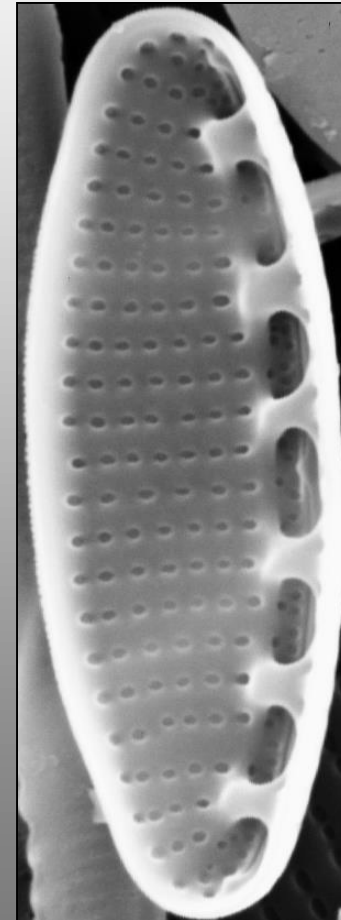
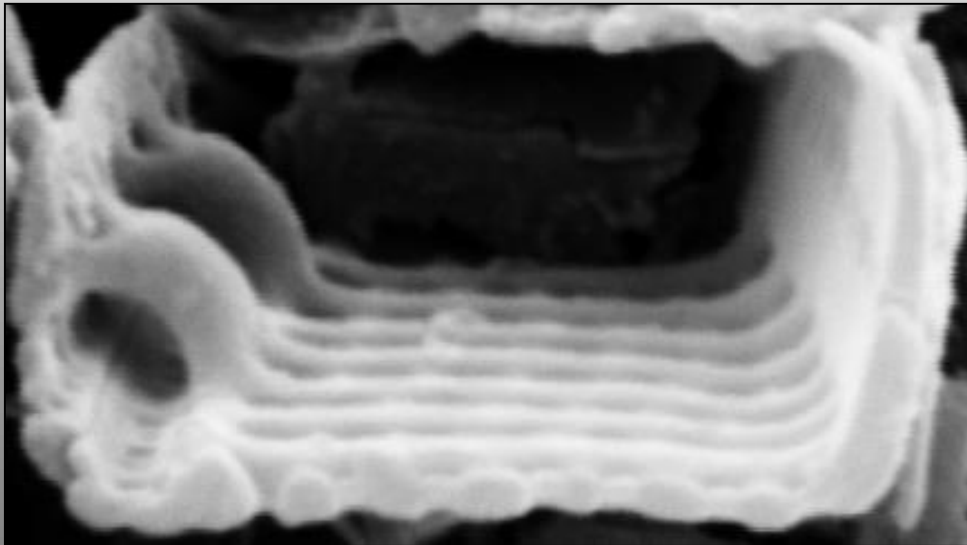
Il rafe è formato da due braccia che partono dal nodulo centrale (ispessimento di silice) e terminano nei noduli polari.

Alcuni fini canali scavati nel nodulo centrale mettono in comunicazione i due rami del rafe.



Canale del rafe

Sorta di canale costituito da ispessimenti di silice (fibule) alternati a pori. Visibile grazie a ispessimenti che vanno dalla periferia verso il centro della cellula.



Movimento

Contrariamente ad altri organismi le Diatomee **non** sono dotate di flagelli (eccetto i gameti maschili delle *Centrales*).

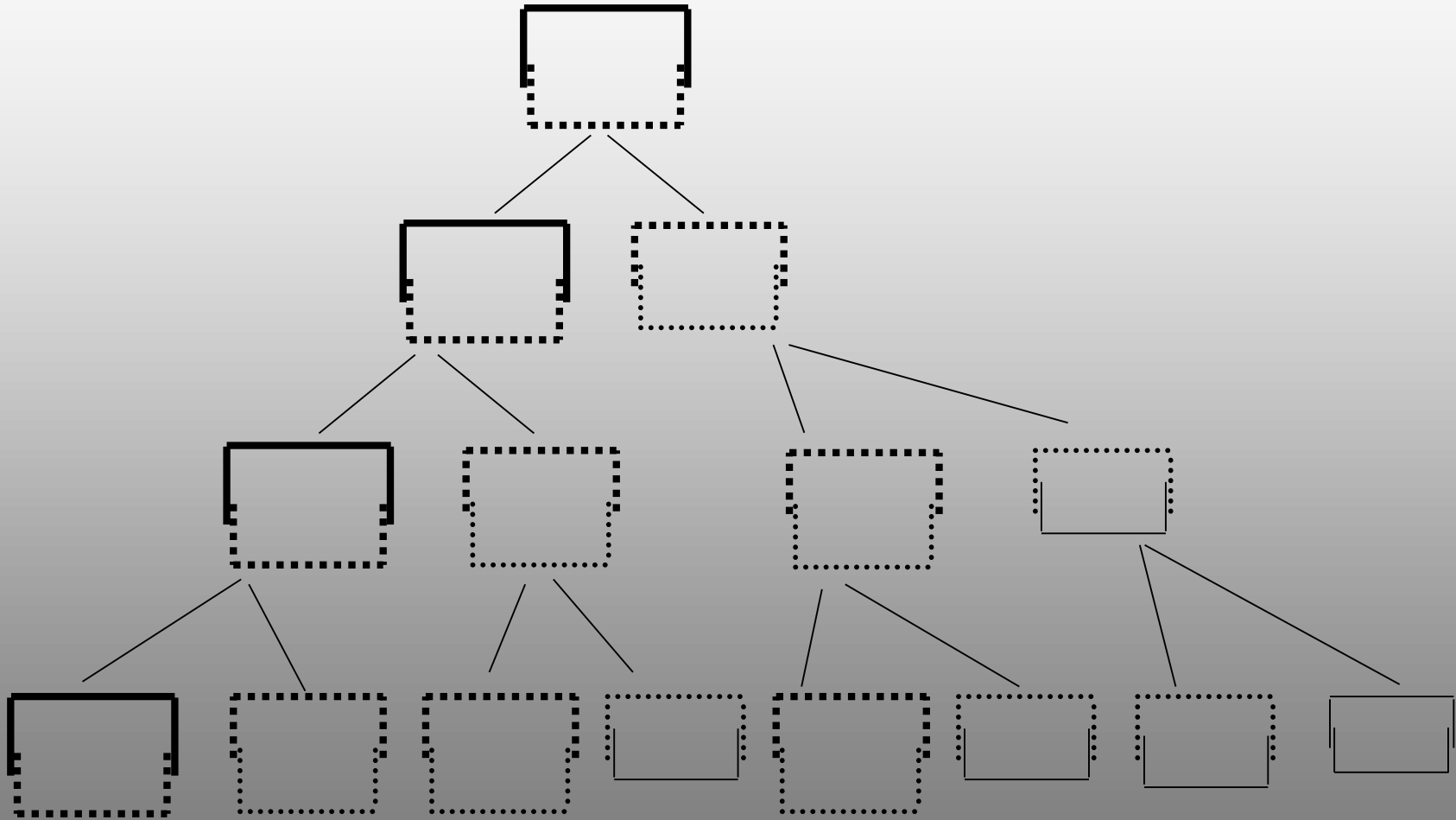
Le ***Pennales*** che posseggono il rafe sono in grado di effettuare spostamenti su substrati più o meno solidi. La **forza motrice** è generata dall'interazione tra **filamenti di actina** e **strutture transmembrana** (ATPasi e proteine capaci di movimenti traslazionali nella membrana cellulare). Le strutture transmembrana sono a loro volta connesse a filamenti mucopolisaccaridici, che nella parte distale si attaccano al substrato.

I filamenti mucopolisaccaridici vengono estrusi, in conseguenza a **stimoli ambientali** e **trofici**, da corpi mucillaginosi siti nel citoplasma subito sotto la membrana plasmatica.

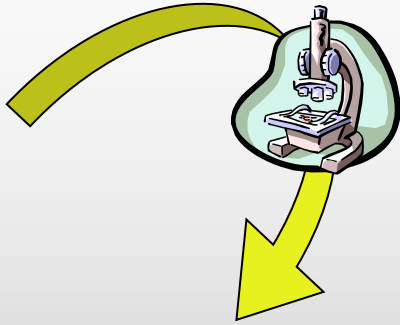
Lo spostamento che ne risulta è una sorta di **scivolamento** sul substrato, tramite una **scia mucillaginosa** che le Diatomee stesse emettono attraverso i **pori terminali** e **centrali** del rafe. La **velocità** dello spostamento varia tra i 2 e i 14 $\mu\text{m sec}^{-1}$ in base alla **forma** del rafe, alla **consistenza del substrato** e all'**intensità dello stimolo**.

Riproduzione

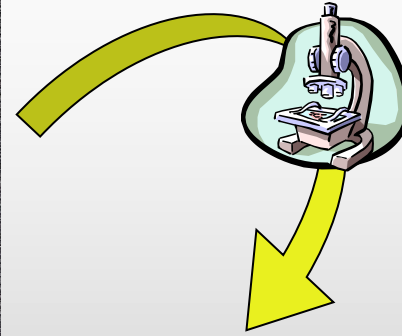
Agamica e gamica



Campione non trattato



Campione trattato

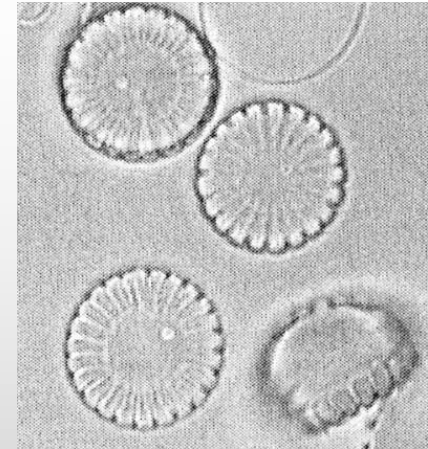
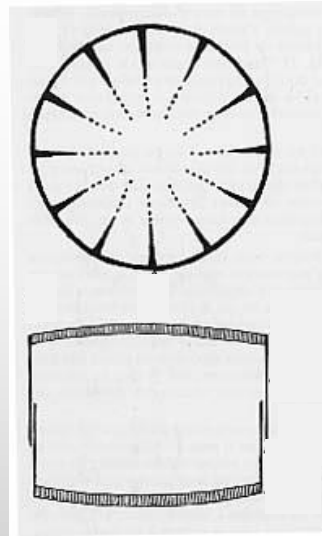


Diatomee

Centriche

Simmetria radiale.

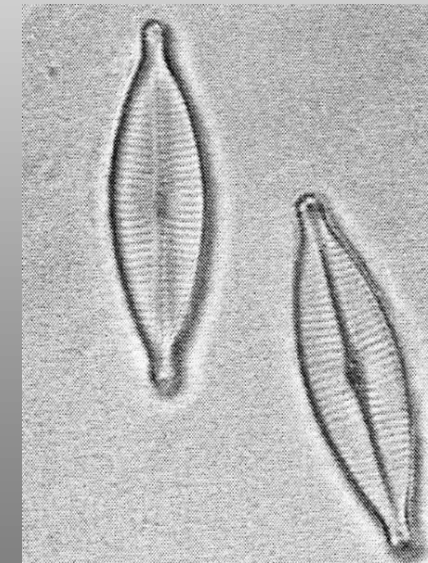
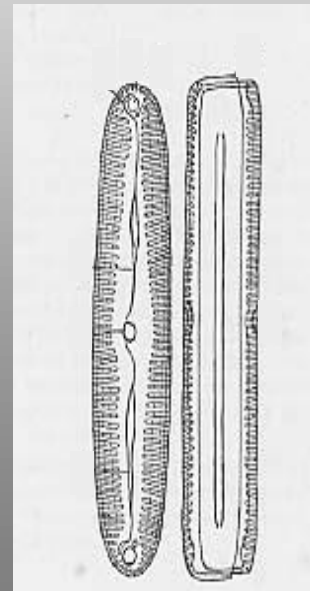
Valve circolari, triangolari, quadrate o poligonale.



Pennate

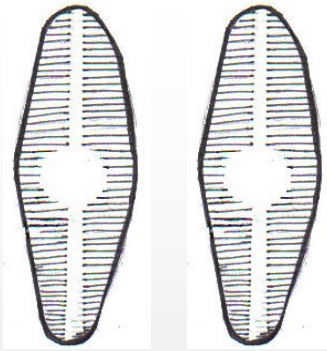
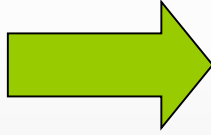
Simmetria bilaterale.

Valve allungate, lanceolate o ellittiche



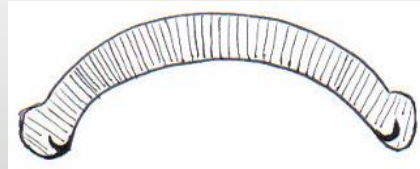
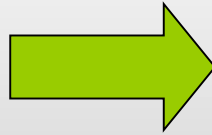
Pennate

assente



ARAFIDEE

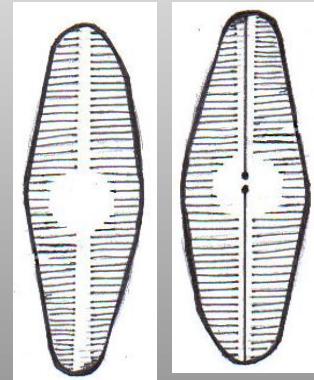
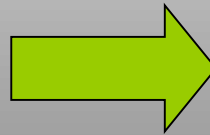
ridotto a una
virgola ai poli



BRACHYRAFIDEE

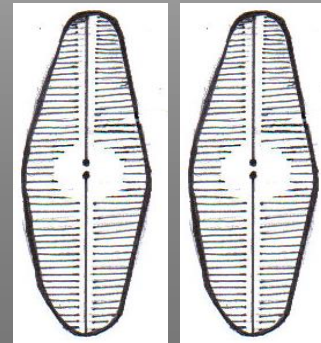
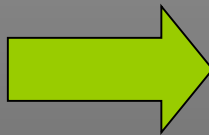
RAFE

su una sola valva
(ipovalva)



MONORAFIDEE

su entrambe
le valve

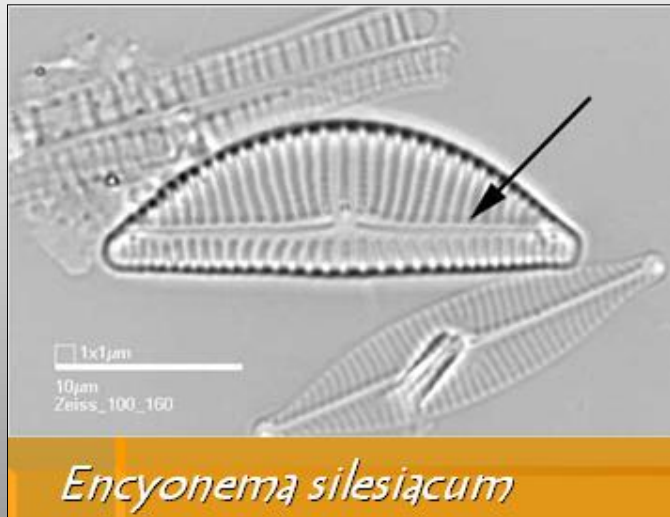


BIRAFIDEE

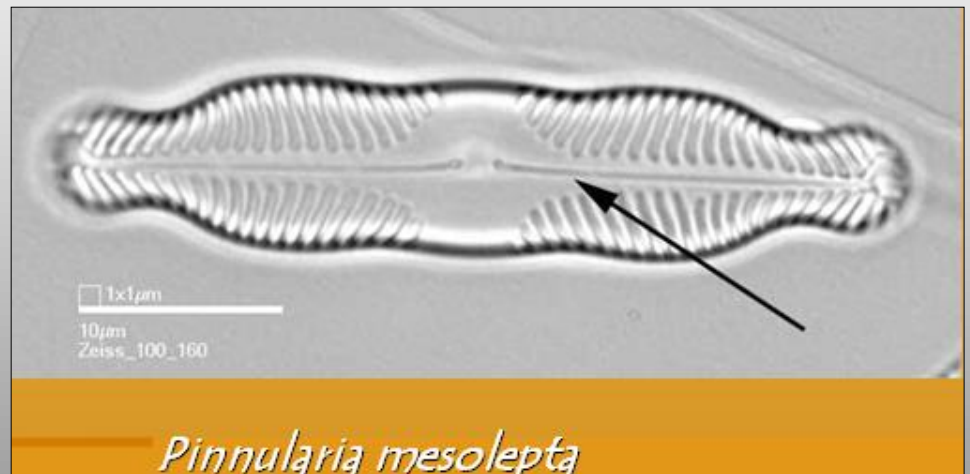
RAFE

1. Posizione

Laterale

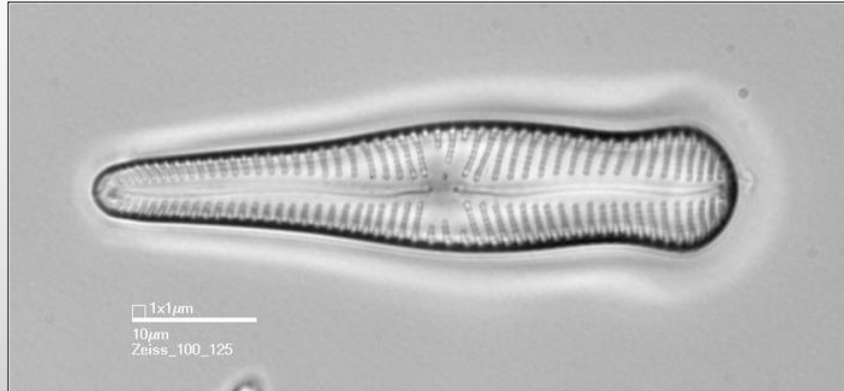


Mediano



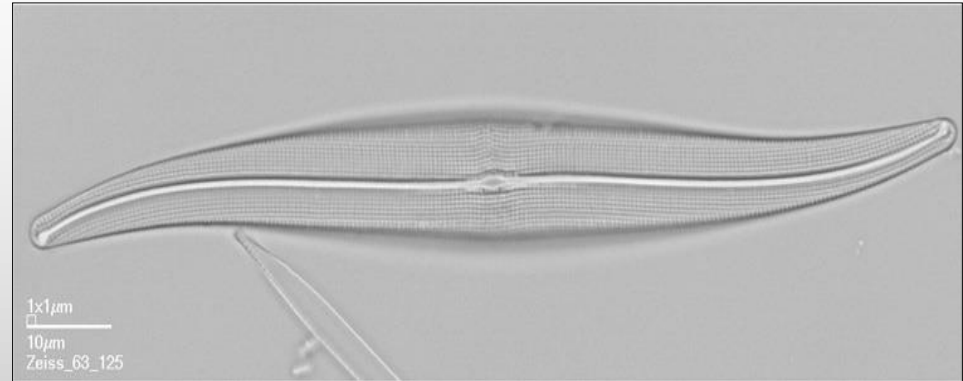
2. FORMA DEL RAFFO

Sinuoso



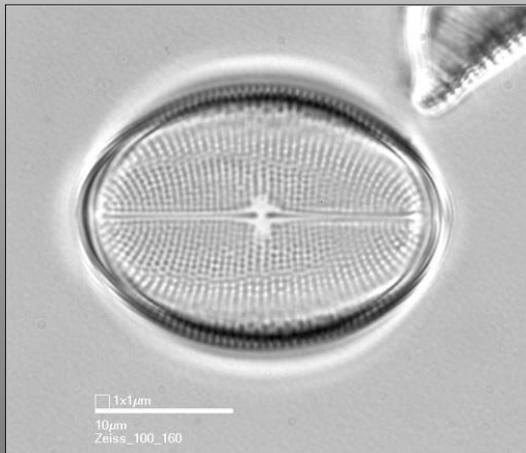
Gomphonema truncatum var. *capitatum*

Sigmoide



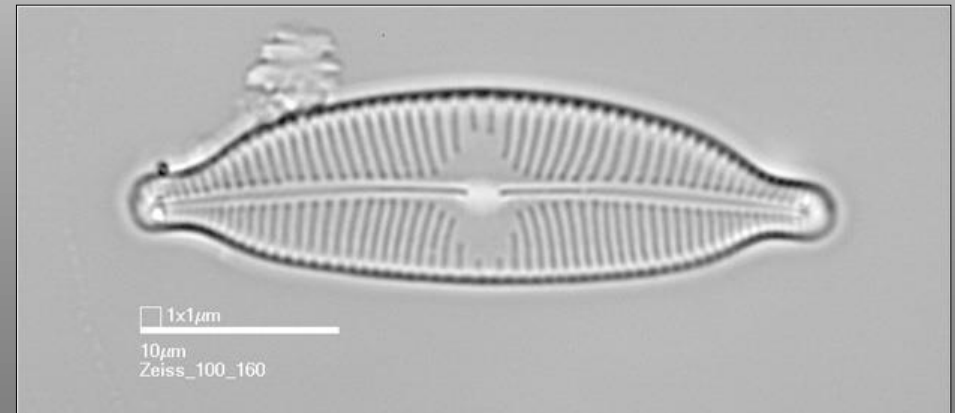
Gyrosigma acuminatum

Lineare



Cocconeis pediculus

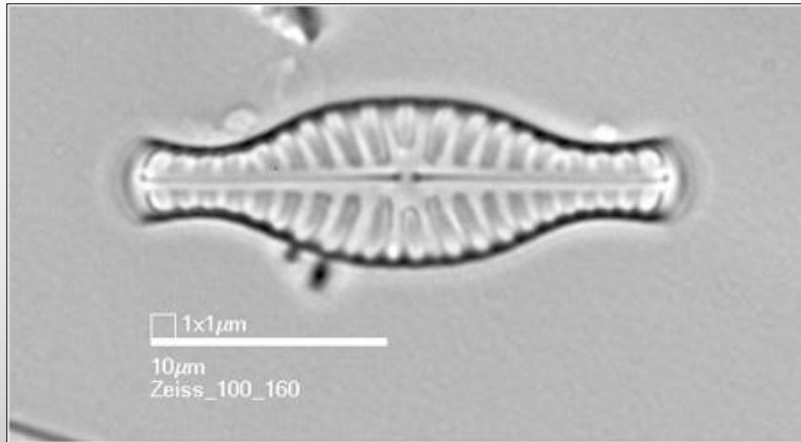
Arcuato



Cymbella naviculiformis

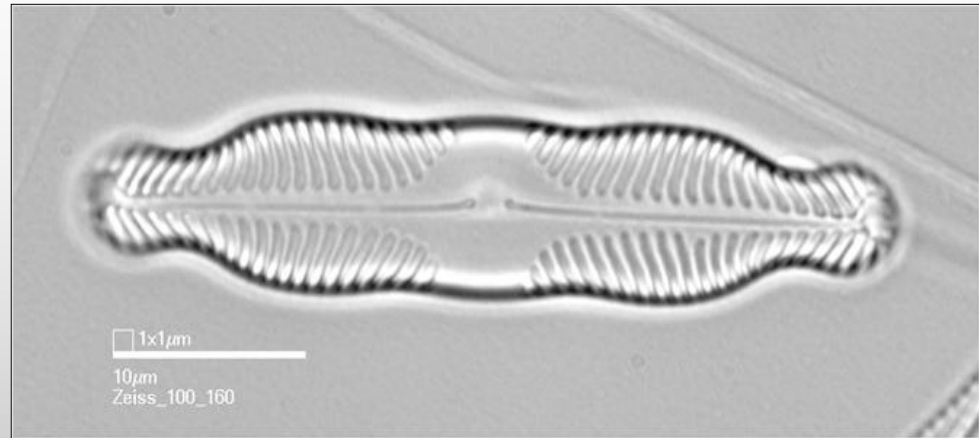
..IN PROSSIMITA' DEI NODULI CENTRALI

Lineare



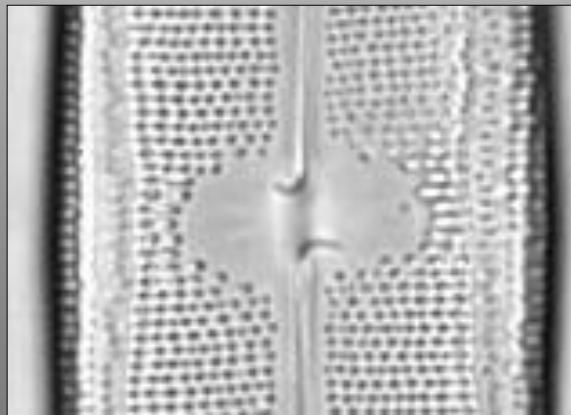
Navicula capitata var. *capitata*

Rivolti verso lo stesso lato



Pinnularia mesolepta

Rivolti in direzione opposta

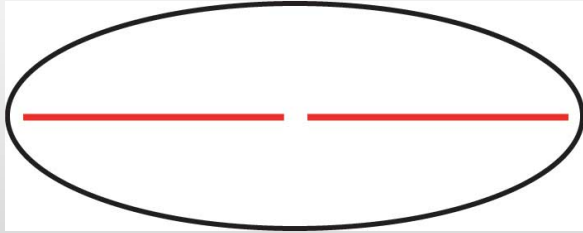


Neidium ampliatus

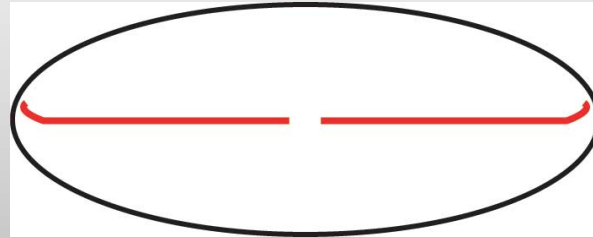
..IN PROSSIMITA' DEI NODULI POLARI

Il rafe può estendersi fino ai poli o interrompersi leggermente prima

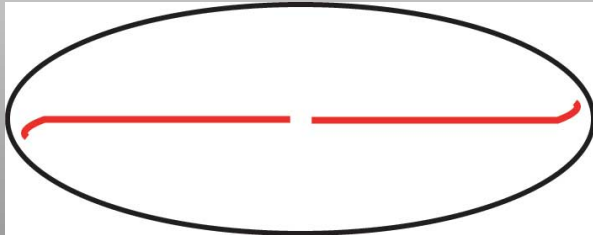
DRITTO



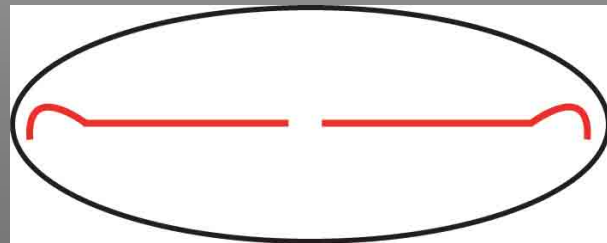
RIVOLTI ENTRAMBE VERSO L'ALTO O VERSO IL BASSO (importante x Cymbella)



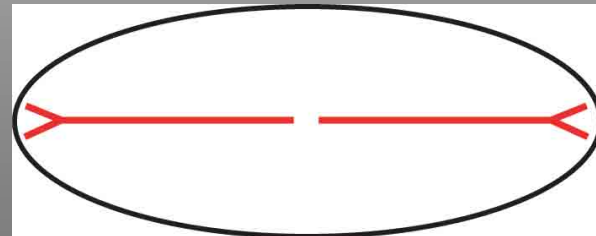
RIVOLTI IN DIREZIONI OPPOSITE



UNCINO

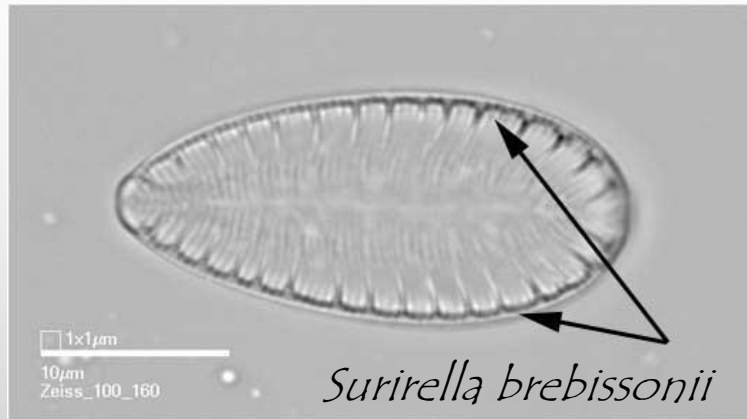


BIFORCATI

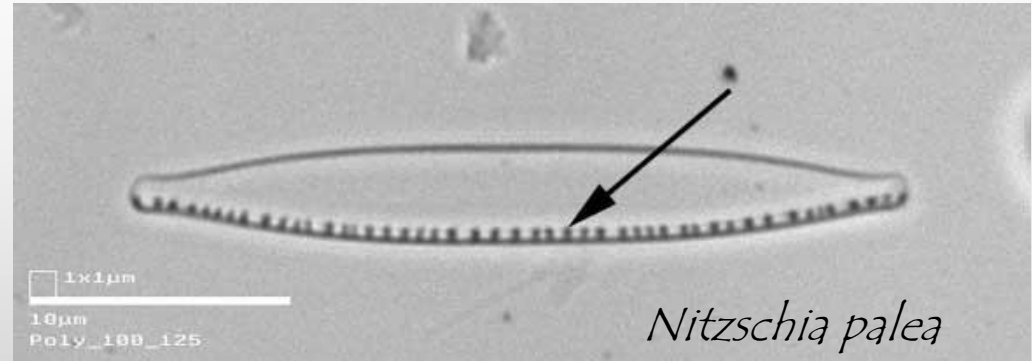


1. POSIZIONE DEL CANALE DEL RAFFO

Attorno alla valva



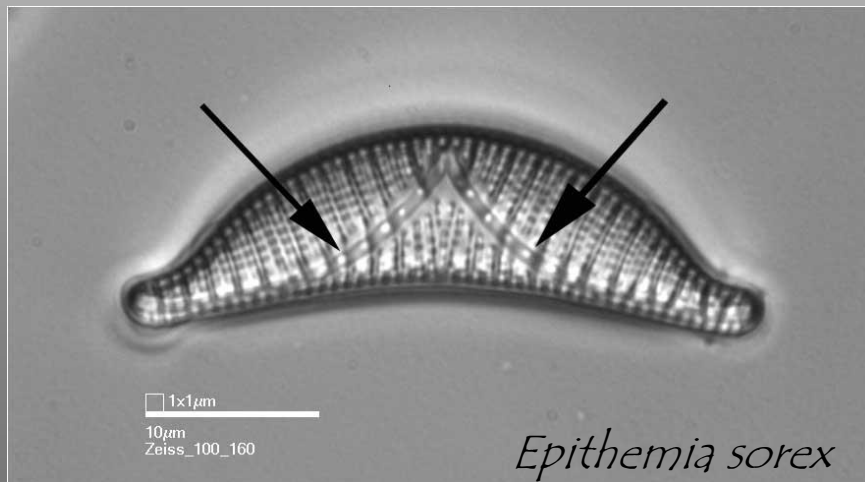
Nella parte periferica della valva



LE FIBULE possono essere corte o estendersi verso la parte interna della faccia deflette nella zona centrale formando una « V »



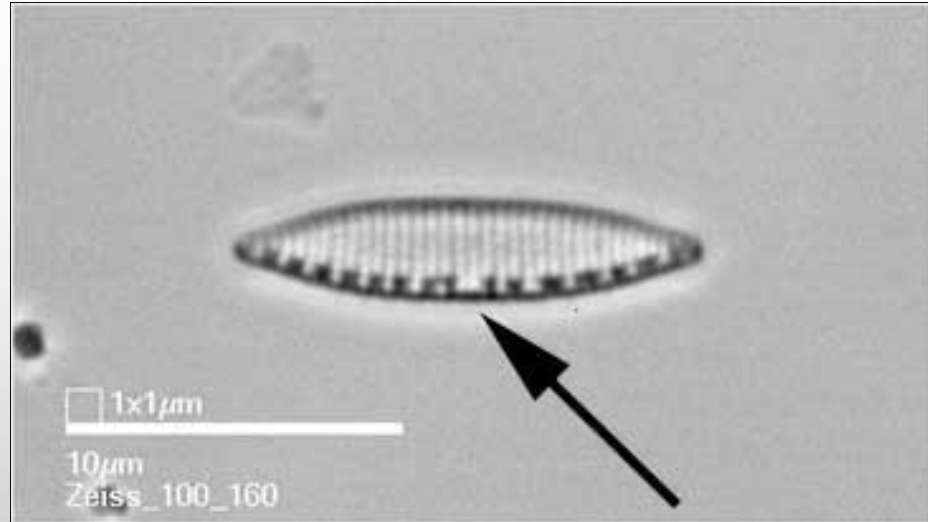
Eccentrico



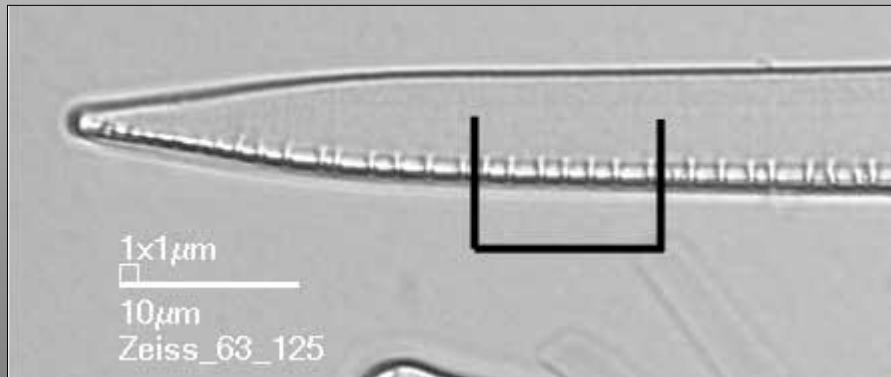
ASSENZA NELLA PARTE CENTRALE

ASSENTE

Nitzschia inconspicua



DENSITA'

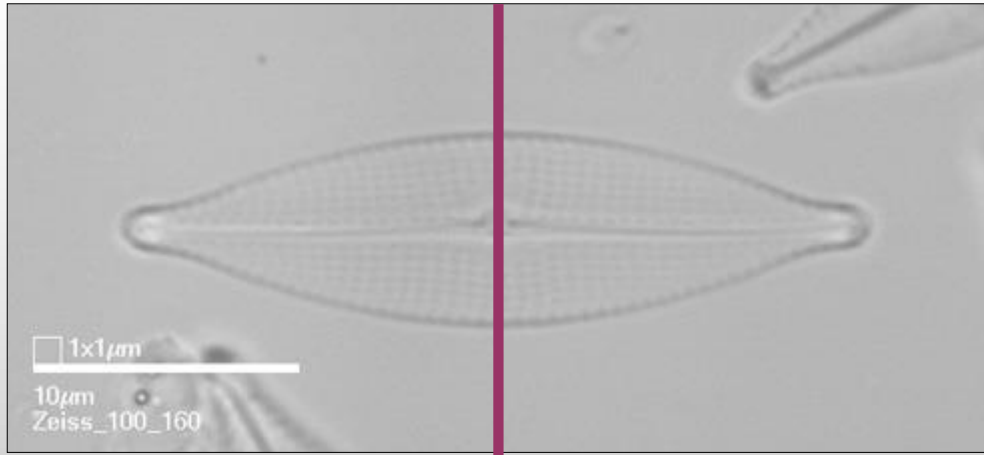


Nitzschia recta

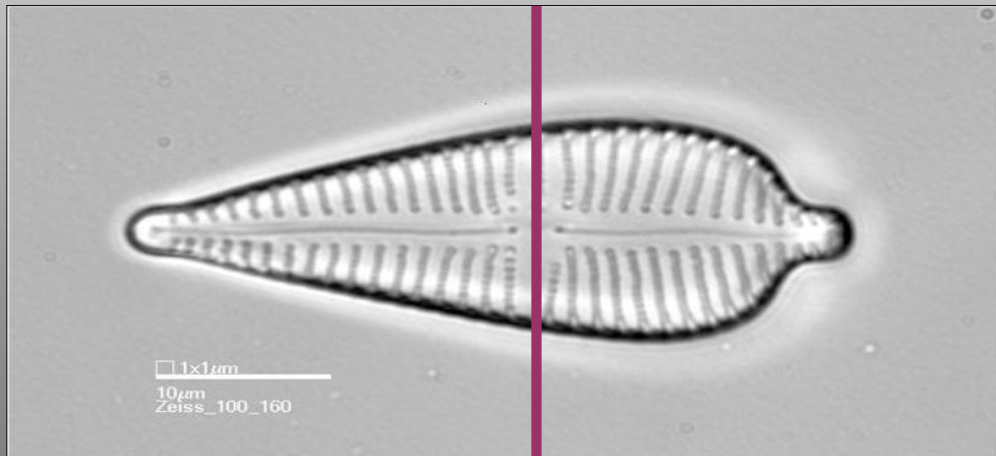
SIA DELLE FIBULE

SIA DELLE STRIE

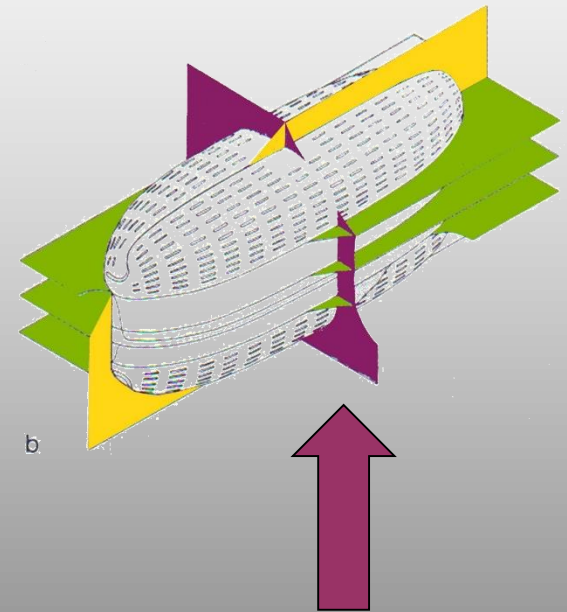
SIMMETRIA TRANSAPICALE



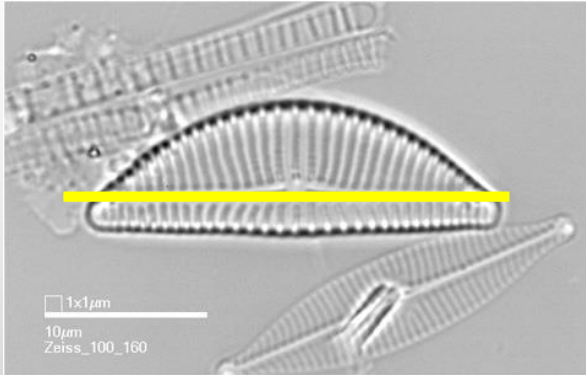
ISOPOLARE



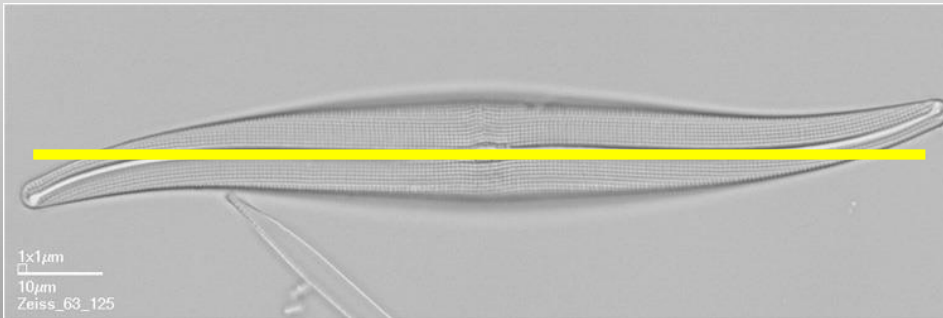
ETEROPOLARE



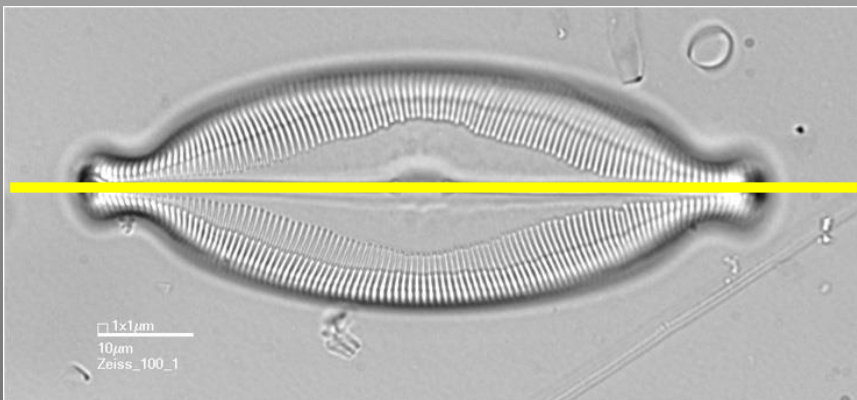
SIMMETRIA APICALE



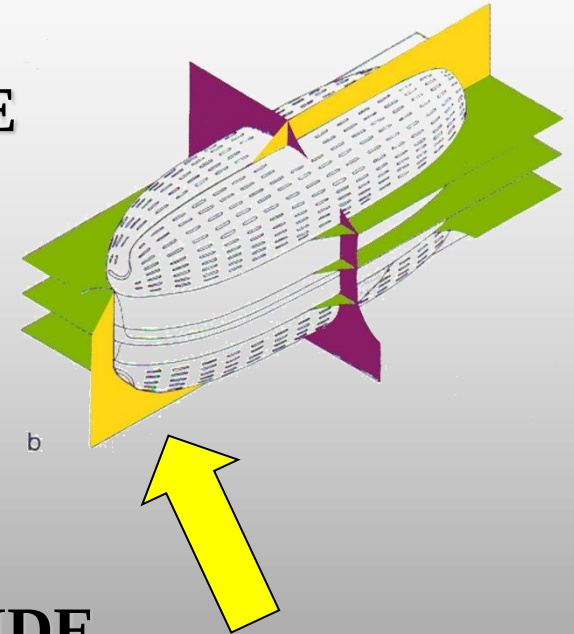
DORSIVENTRALE
(Cymbella)



SIGMOIDE



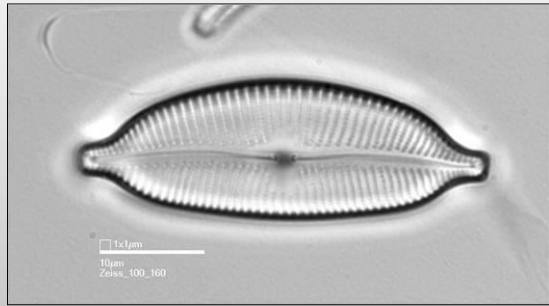
ISOBILATERALE



MARGINI DELLE VALVE (quando dorsiventrale)

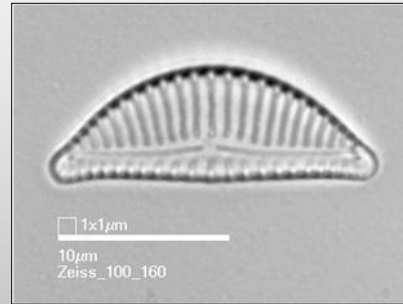
Il margine più CONVESSO è quello DORSALE; il meno convesso (spesso rettilineo o concavo) è quello VENTRALE

ENTRAMBE CONVESSI



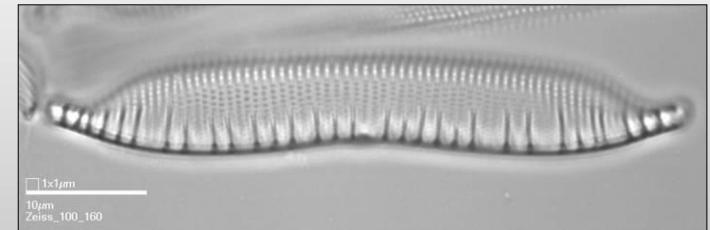
Cymbella naviculiformis

**DORSALE CONVESSO
VENTRALE ± RETTILINEO**



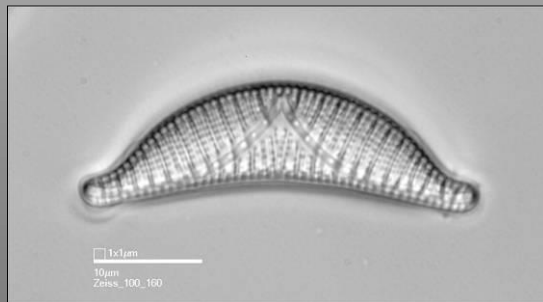
Encyonema silesiacum

**DORSALE CONVESSO,
VENTRALE
BIARCUATO**



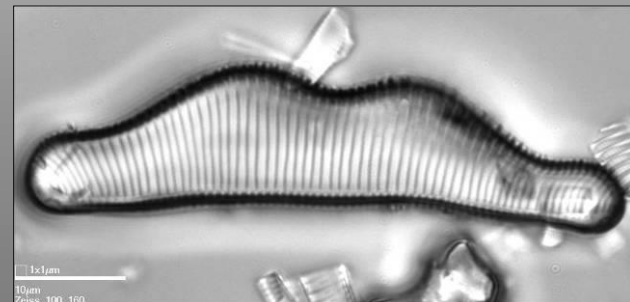
Hantzschia virgata

**DORSALE CONVESSO
VENTRALE CONCAVO**



Epithemia sorex

**DORSALE CONVESSO E ONDULATO
VENTRALE CONCAVO**

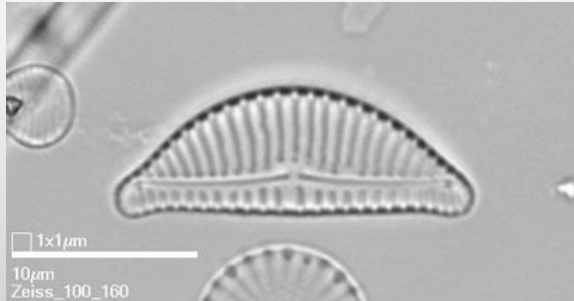


Eunotia diodon

APICI DELLE VALVE (quando dorsiventrale)

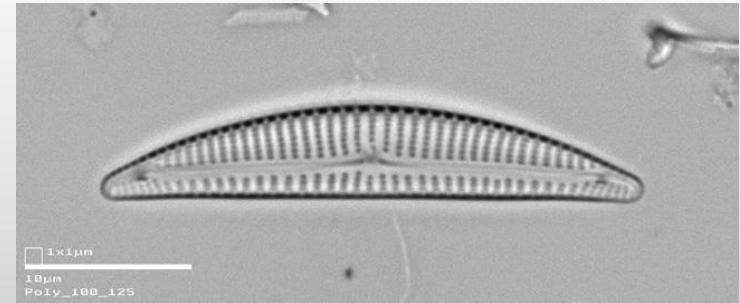
Relazione tra gli apici delle valve e i margini dorsiventrali

RIVOLTI VERSO IL MARGINE VENTRALE



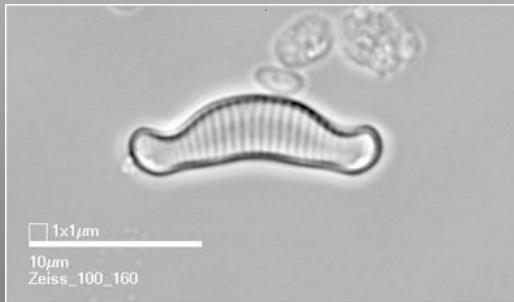
Encyonema minutum

DRITTI



Encyonema neogratile

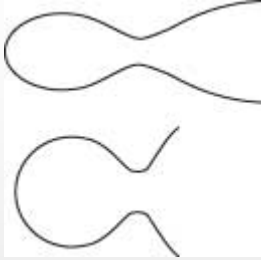
RIVOLTI VERSO IL MARGINE DORSALE



Eunotia exigua

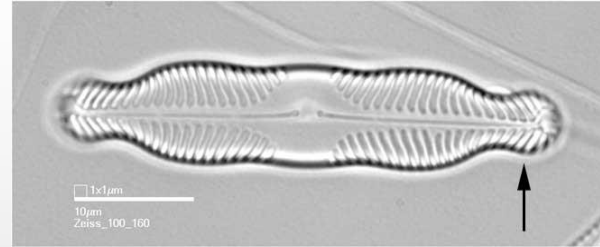


CAPITATI

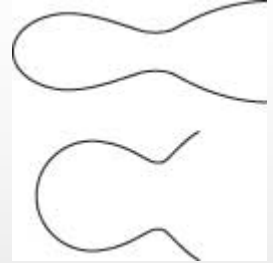


Pinnularia braunii

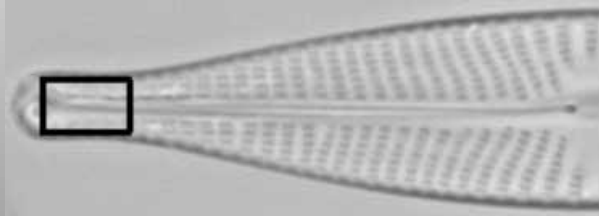
SUB-CAPITATI



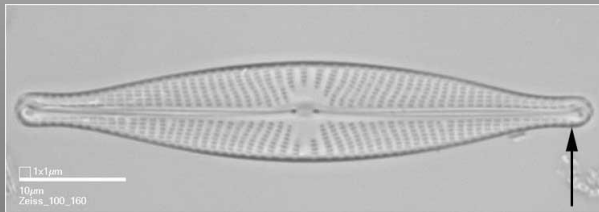
Pinnularia mesolepta



ROSTRATI

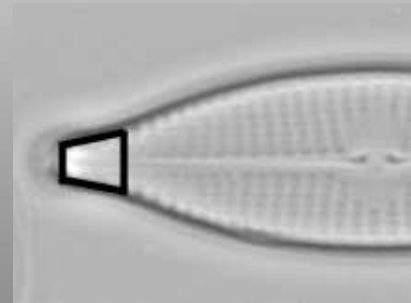


Navicula rhynchocephala



Navicula rhynchocephala

SUB-ROSTRATI



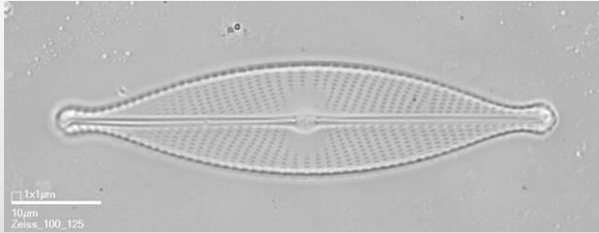
Navicula gregaria

Senza « collo » e approssimativamente
simile ad un trapezio

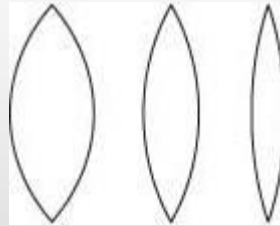
Senza « collo » e approssimativamente simile a
un rettangolo

PROFILO DELLE VALVE (quando isobilaterale, NON considerare i poli)

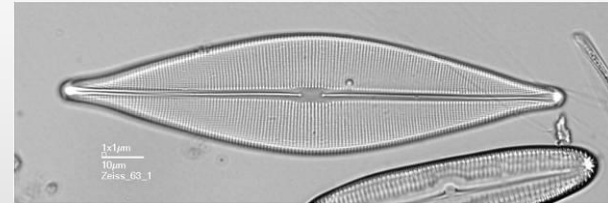
LANCEOLATO



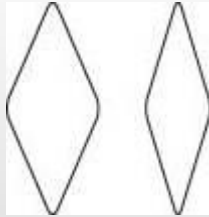
Navicula rhynchocephala



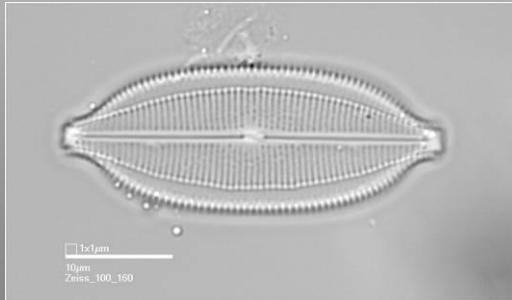
ROMBICO



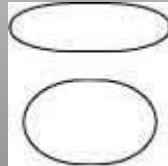
Craticula cuspidata



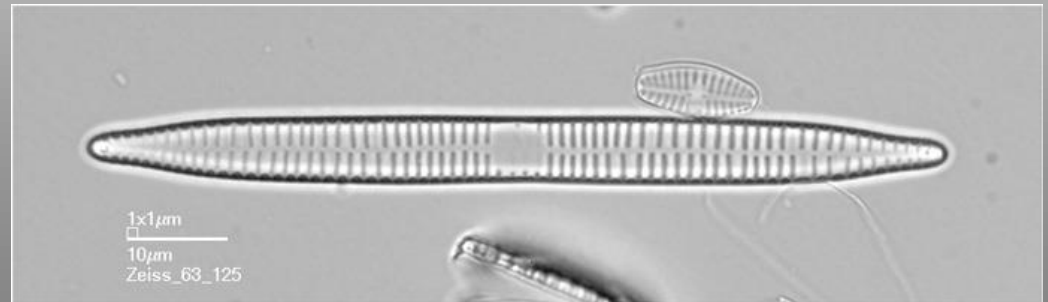
ELLITTICO



Neidium dubium



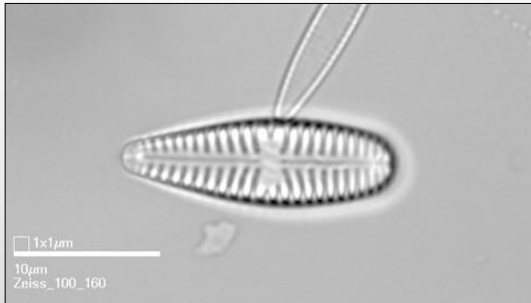
LINEARE



Synedra ulna

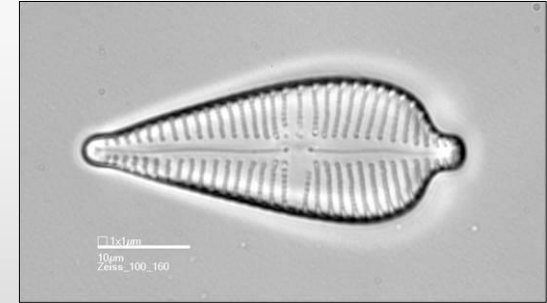
AREA CENTRALE

Simmetrica



Gomphonema olivaceum

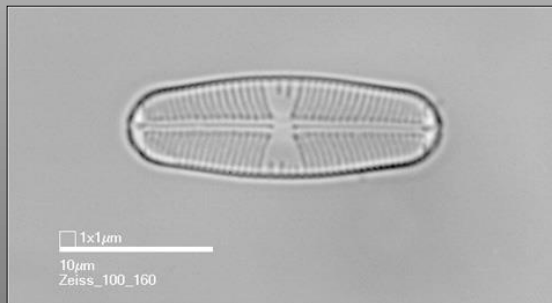
Asimmetrica



Gomphonema augur

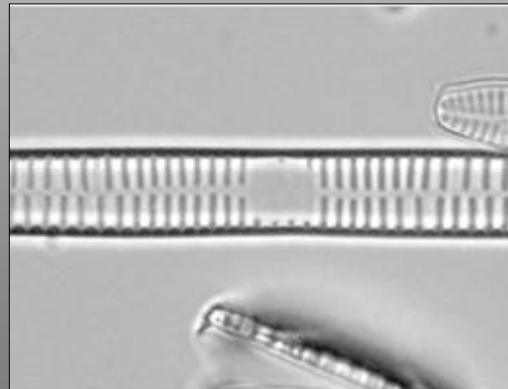
FORMA

Allargata



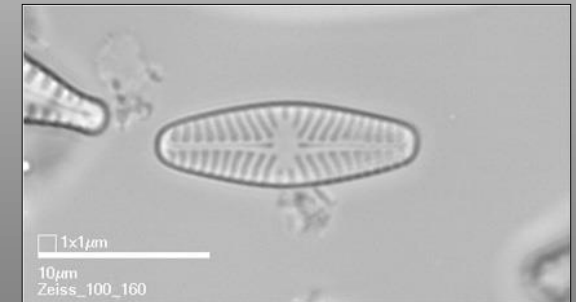
Sellaphora pupula

Rettangolare



Synedra ulna

Ellittica

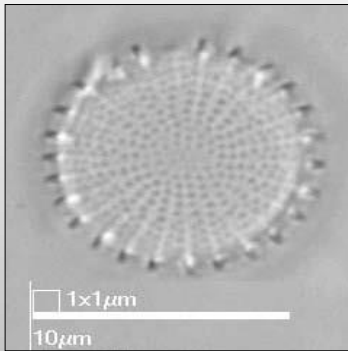


Navicula cincta

Strie

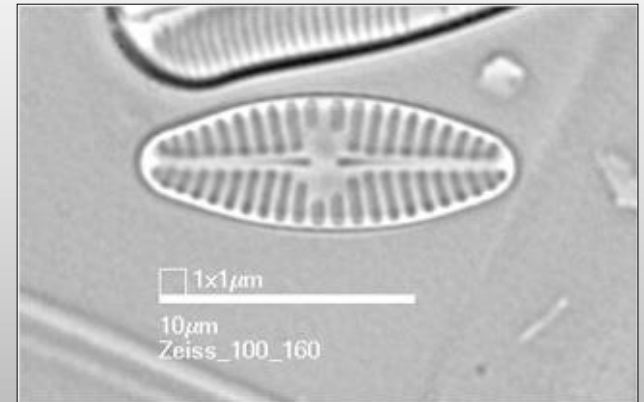
La visibilità di questo carattere dipende dalla risoluzione del microscopio, ma in generale le strie con densità $>$ di 25-30 / 10 μm sono difficilmente visibili

Radiali



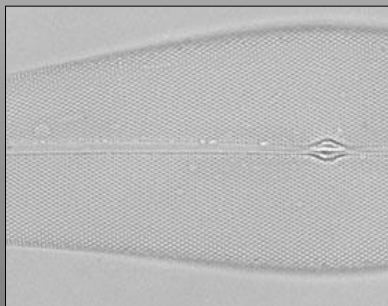
Stephanodiscus hantzschii

Trasversali



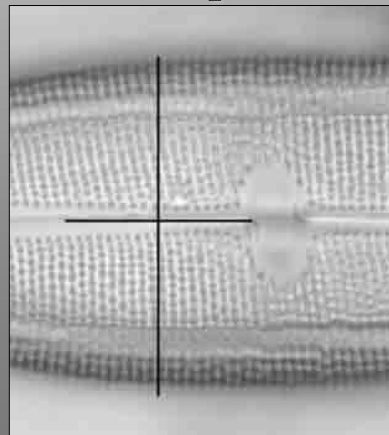
Planothidium lanceolatum

Decussate



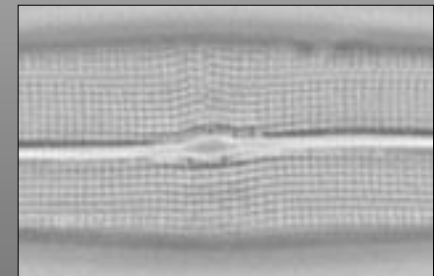
Pleurosigma angulatum
(60°)

Oblique



Neidium amplicatum

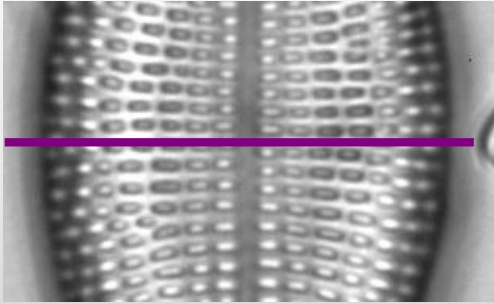
Longitudinali e trasversali



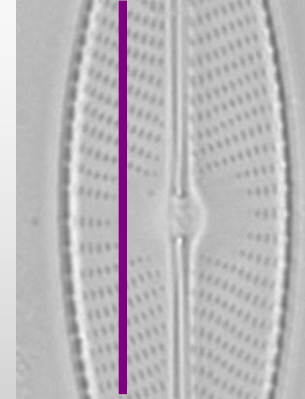
Gyrosigma acuminatum (90°)

..Se risolvibili con quale forma e orientamento

Trasversali vs area longitudinale Parallele all'area longitudinale



Cocconeis placentula var. *pseudolineata*

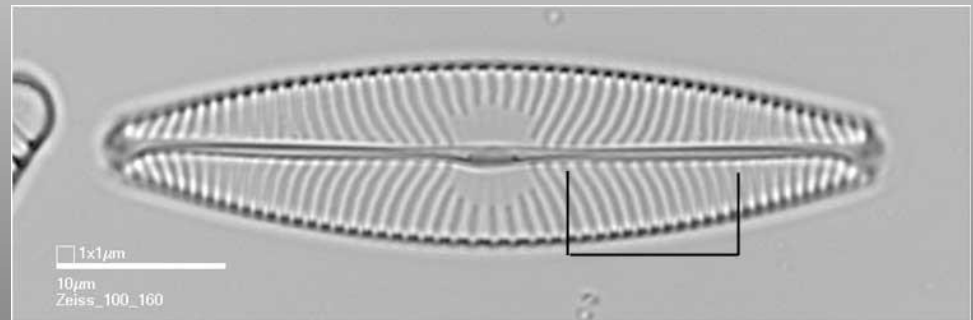


Navicula rhynchocephala

Radiate

Alternate corte e lunghe o
della stessa lunghezza?

..e densità



Navicula lanceolata

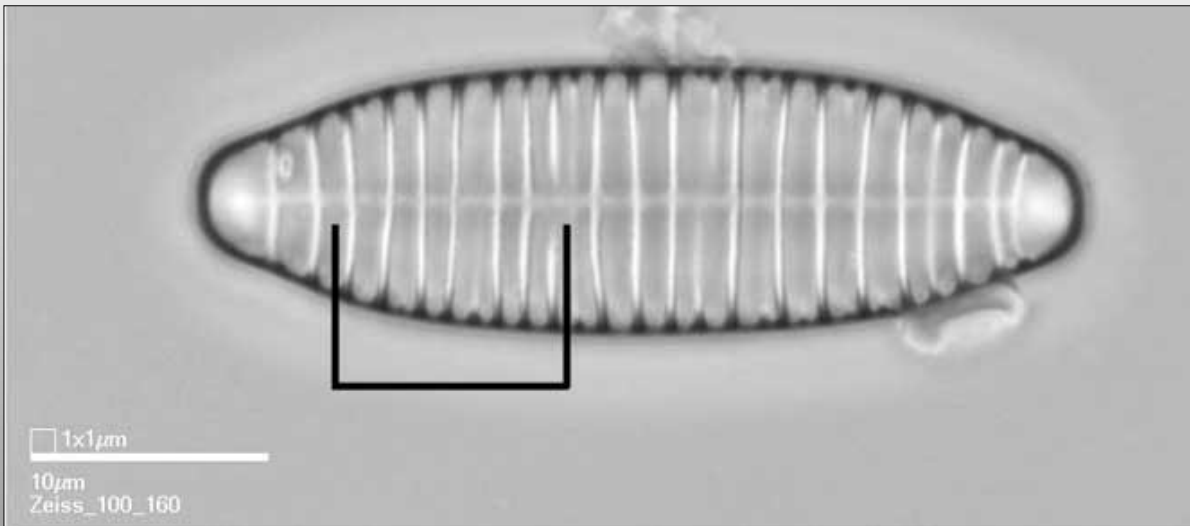
Numero di strie misurate in 10 μm a metà
strada tra il centro e i poli (11/10 μm).



Navicula cincta

COSTE

Ispessimenti delle valve che si estendono attraverso l'intera faccia valvare..



Diatoma vulgare

densità: il numero di coste in 10 µm a metà strada tra il centro e i poli (7/10 µm)

Utilità delle Diatomee

- Alghe-foraggio.
- Colture di ostriche. *Navicula ostrearia* produce un pigmento blu-verde (marennina) responsabile della colorazione delle ostriche. Fornisce anche proprietà organolettiche pregiate.
- Alcune Diatomee come *Chaetoceros calcitrans* sono in grado di degradare gli idrocarburi in ambiente marino.
- Utilizzate in medicina legale per diagnosticare la morte per annegamento.
- Farina fossile inerte agli acidi e alle basi trova largo impiego in varie applicazioni industriali anche per il suo potere abrasivo, coibente (resistente alle elevate temperature) ed assorbente.

- Fossili guida in stratigrafia.
- Utili in paleoecologia; per esempio, dopo aver esaminato un campione di farina fossile al microscopio, si può capire se la deposizione è avvenuta in bacino lacustre o alla foce di un fiume o in mare aperto.
- L'accumulo sul fondo dei bacini di materiale organico dovuto alle Diatomee ha contribuito, nel corso delle ere geologiche, alla formazione dei giacimenti di petrolio.
- Biomonitoraggio.

IL CAMPIONAMENTO

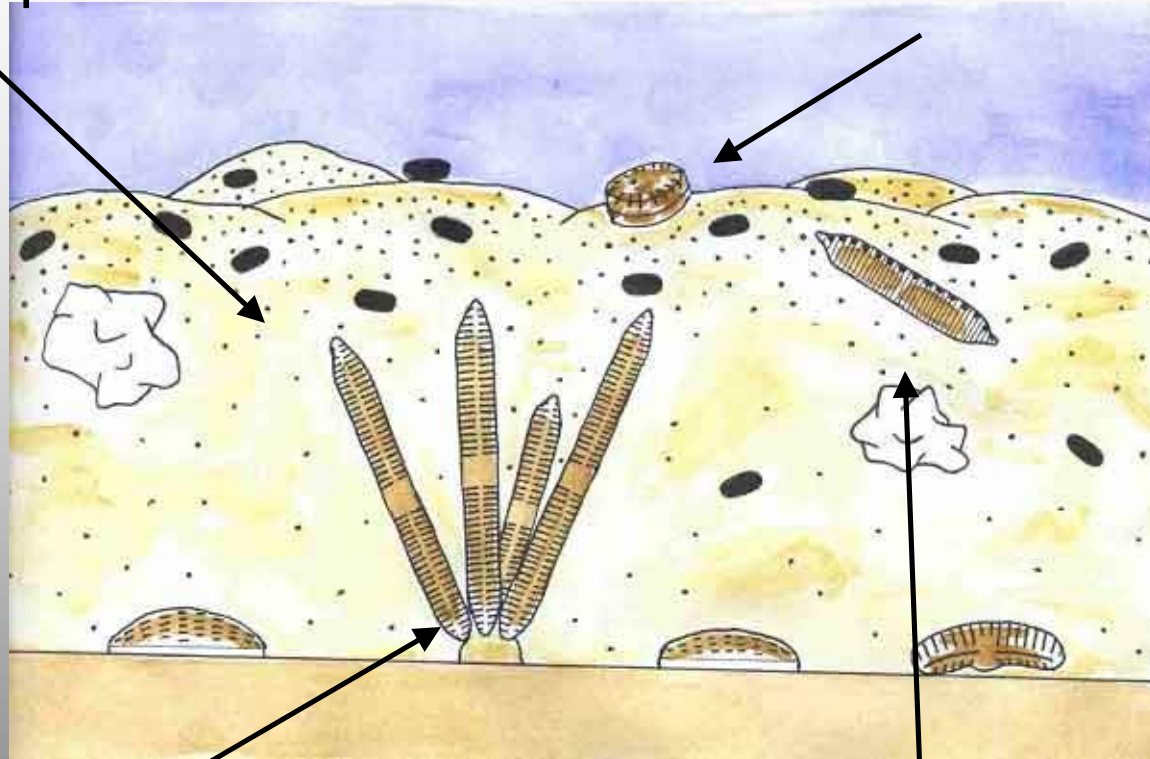
Sulla base di:

- EN 13946:2003 (Water quality – Guidance Standard for the routine sampling and pre-treatment of benthic diatom samples from rivers)
- Dell'Uomo, 2004 "l'Indice Diatomico di eutrofizzazione/polluzione (EPI-D) nel monitoraggio biologico delle acque correnti. Linee guida
- "Protocollo di campionamento delle diatomee bentoniche dei corsi d'acqua" (APAT, 2008).

Matrice di polisaccaridi

Plankton "in transito"

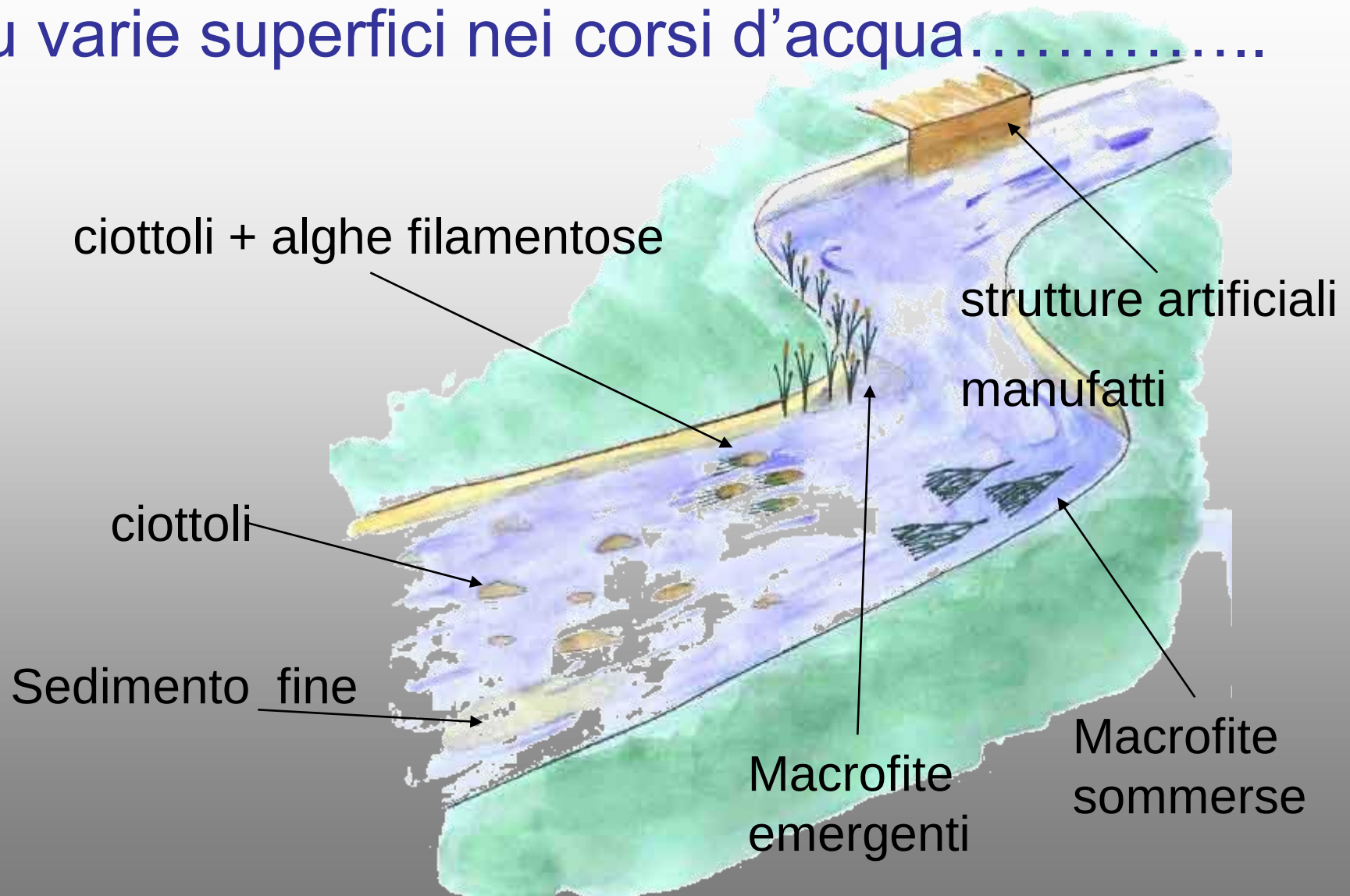
20 μm



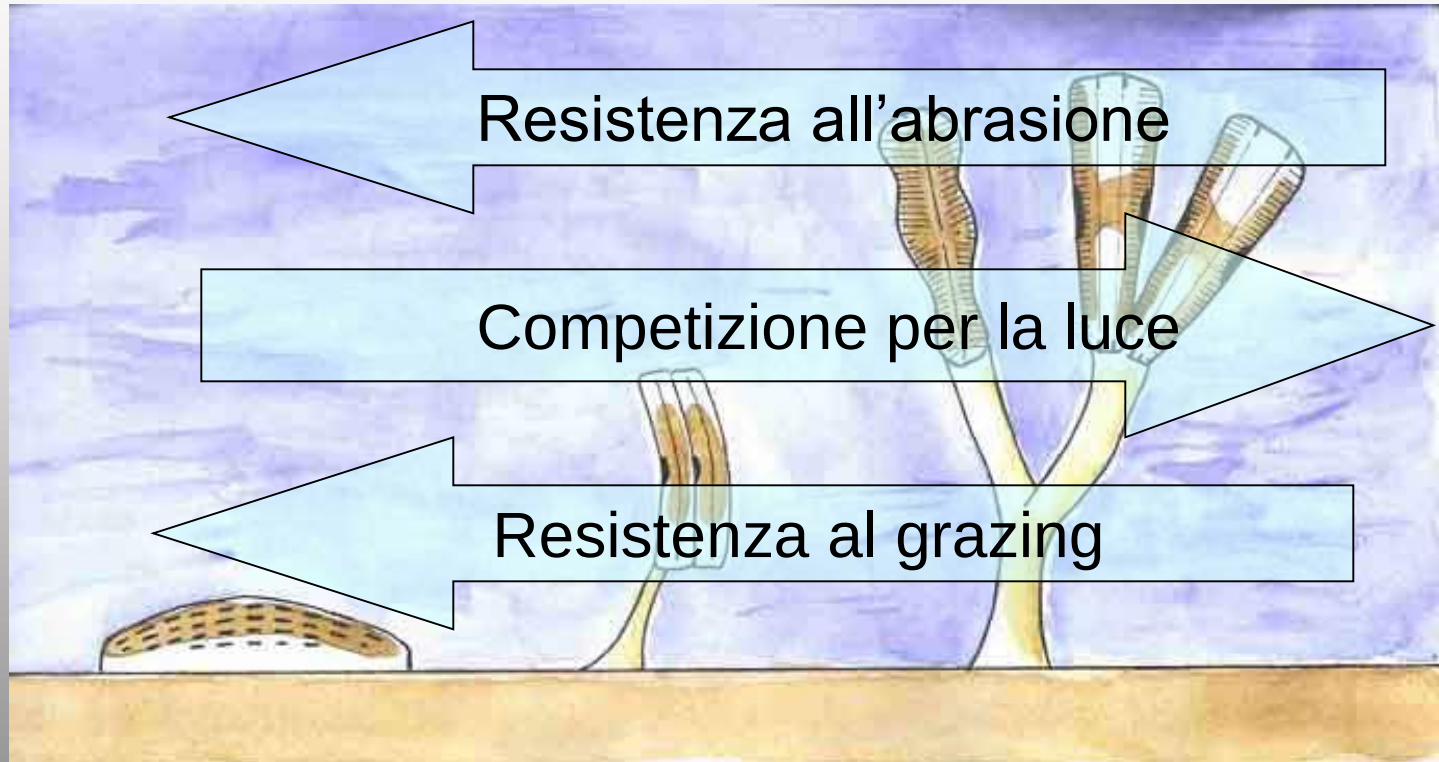
taxa pedunculati, es *Synedra*

Taxa mobili, es *Nitzschia*

Il biofilm può essere trovato
su varie superfici nei corsi d'acqua.....



.....e contiene diatomee con differenti modalità di crescita

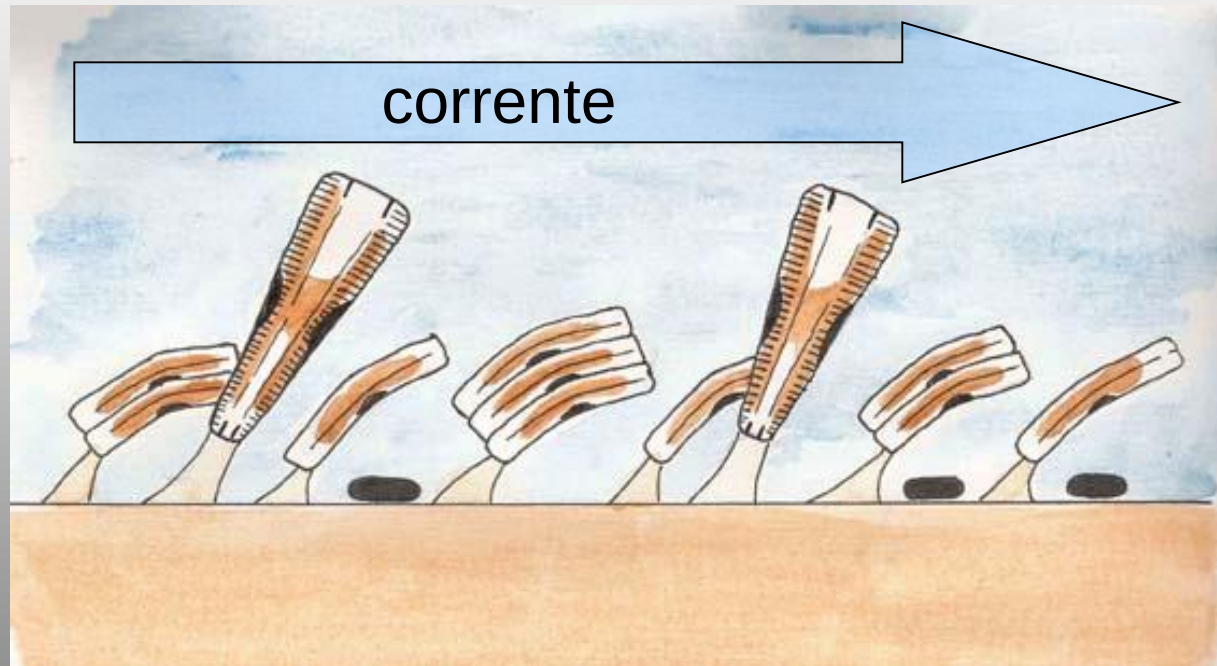


Prostrate, es.
Cocconeis

Peduncolate,
es
Achnanthydium

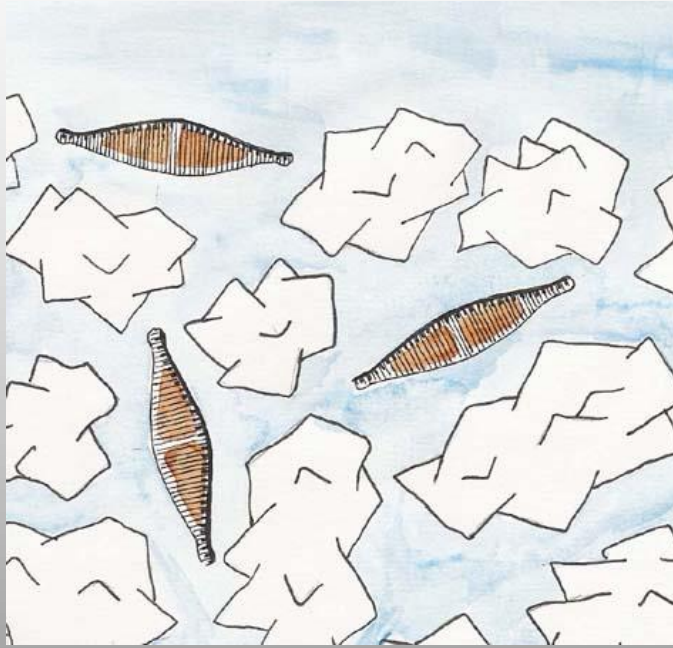
Arborescenti, es.
Gomphonema

Le differenze nelle modalità di crescita possono portare a comunità diverse a seconda del tipo di substrato

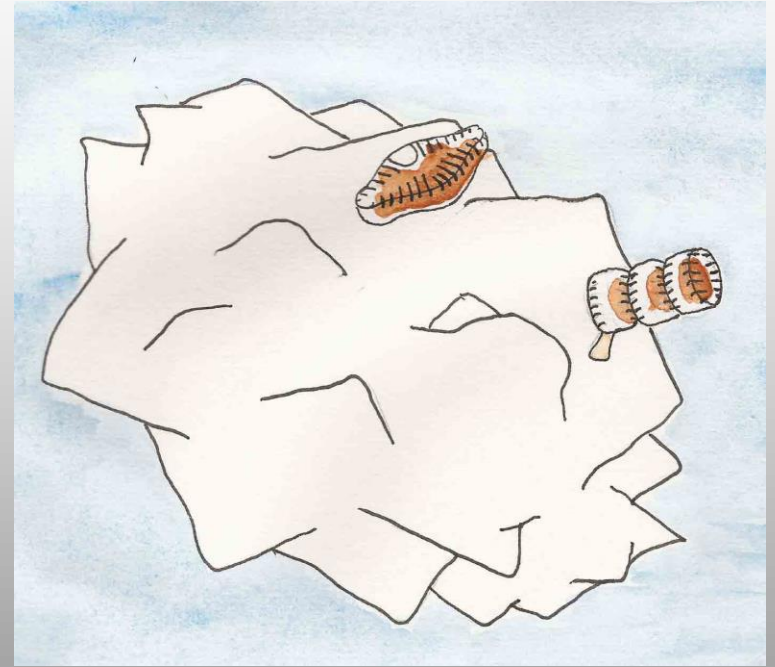


Ad esempio, superfici stabili (ciottoli) favoriscono le specie attaccate come ad es *Achnanthes* e *Gomphonema*

... mentre superfici meno stabili ospitano comunità diverse



I sedimenti più fini favoriscono le specie mobili come *Nitzschia*



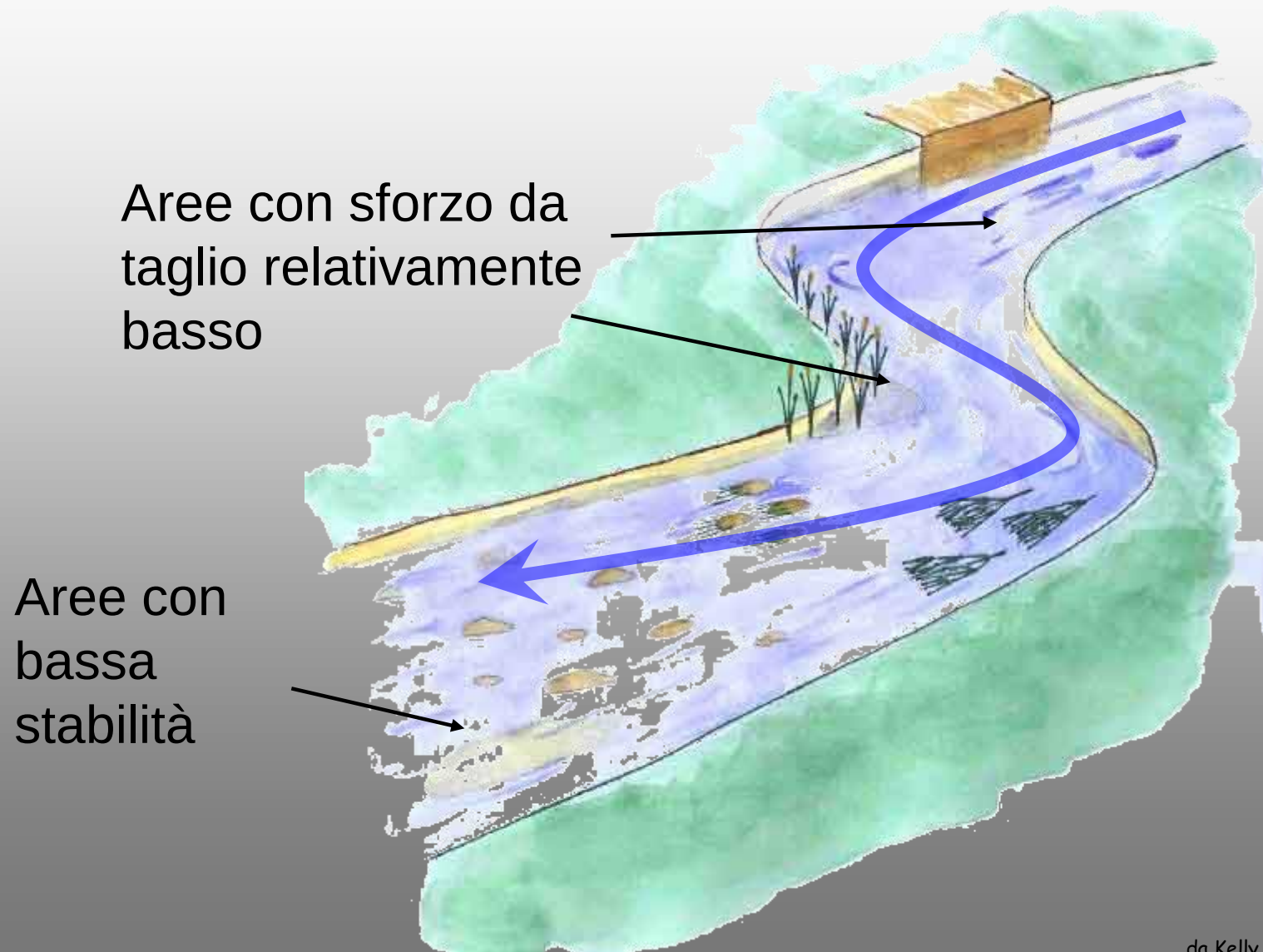
... mentre i grani di sabbia ospitano specie attaccate come *Staurosira*.

Le macrofite e le macroalghe hanno comunità associate

I filamenti di *Cladophora*, ad esempio, ospitano spesso Diatomee epifite come *Rhoicosphenia* e *Cocconeis*.



La comunità delle diatomee varia sia nello spazio.....



Il campionamento

EN 13946:2003 *Water quality – Guidance Standard for the routine sampling and pre-treatment of benthic diatom samples from rivers*

.....Importante che tutti campionino la stessa cosa.....



A) scelta della stazione

B) scelta del microhabitat

C) scelta del substrato

A) Scelta della stazione

Deve essere scelto un tratto di corso d'acqua che abbia substrati adatti al campionamento.

Come regola generale, tale tratto dovrebbe essere di almeno 10 m di lunghezza, ma lunghezze maggiori possono andare bene, a seconda dell'uniformità fisica del corso d'acqua e della disponibilità di substrati.

A) scelta della stazione

B) scelta del microhabitat

C) scelta del substrato

B) Scelta del microhabitat

Aspetti da considerare:

- Velocità della corrente
- Ombreggiatura
- Profondità dell'acqua

Velocità della corrente

- Campionare nel filone centrale
 - **Non rami laterali o zone di acqua stagnante**
 - Zone con corrente molto lenta (circa < 20 cm/s) dovrebbero essere evitate (detrito)

Profondità

- Campionare nella zona eufotica

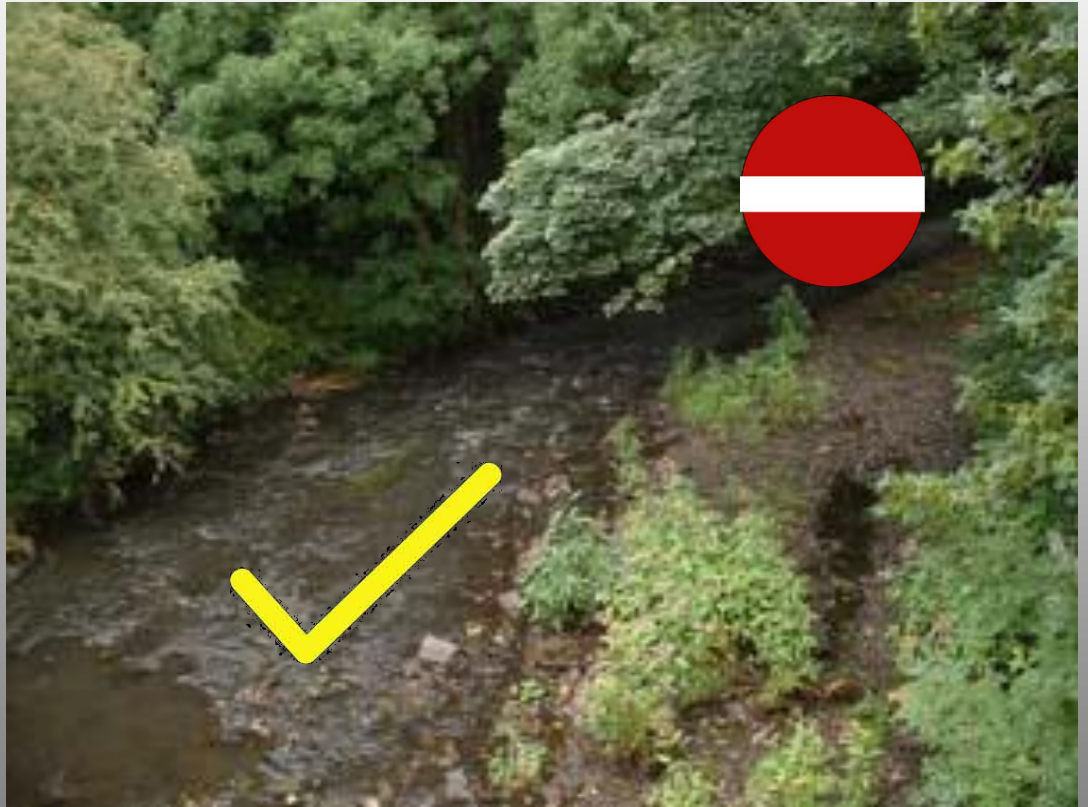
IMPORTANTE

I substrati dovranno essere sommersi da un tempo sufficiente ad assicurare che la comunità sia in equilibrio con l'ambiente.

Sono raccomandate almeno quattro settimane, ma il periodo dipende dalle condizioni ambientali

Ombreggiatura

- Evitare zone fortemente ombreggiate, a meno che queste siano caratteristiche
- Cercare di campionare stazioni con analoghe condizioni di ombreggiatura



A) scelta della stazione

B) scelta del microhabitat

C) scelta del substrato

C) Scelta del substrato

ciottoli ...

... o macrofite



Emerse
o sommerse

...Scelta del substrato

Le diatomee possono essere rinvenute sulla maggior parte delle superfici sommerse; comunque, la composizione della comunità varia a seconda del substrato scelto. Idealmente, un singolo substrato dovrebbe essere utilizzato in tutti i siti del monitoraggio.

- Sono preferibili le aree dell'alveo con una naturale presenza di substrati duri mobili (**massi e ciottoli**).
- Se tali substrati duri non sono presenti naturalmente, è allora possibile campionare **superfici verticali** o strutture artificiali quali ad es piloni di ponti (no substrati di legno).
- Altre **strutture dure artificiali**, come ad es mattoni possono essere utilizzate, purchè siano rimaste nel corso d'acqua per un tempo sufficiente ad assicurare la presenza di una comunità in equilibrio con l'ambiente.



A) Superfici naturali ciottoli senza alghe filamentose

I ciottoli sono il substrato preferibile in quanto bilanciano la **stabilità del substrato** (permettendo alle comunità di diatomee di svilupparsi) con la **manovrabilità**

Dovrebbero essere raccolti:

- almeno 5 ciottoli

oppure

- 5 piccoli massi

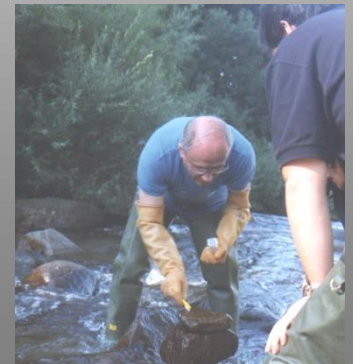
COMUNQUE un'area totale di circa 100-500 cm² o più

- Sciacquare delicatamente
- Mettere in una vaschetta con circa 50 ml di acqua
- Grattare con spazzolino o coltellino la parte posta in alto dei ciottoli
- Sciacquare nell'acqua della vaschetta
- Mettere il campione in un barattolino



oppure

- Grattare i ciottoli con spazzolini o coltellino
- Sciacquare direttamente in un barattolino

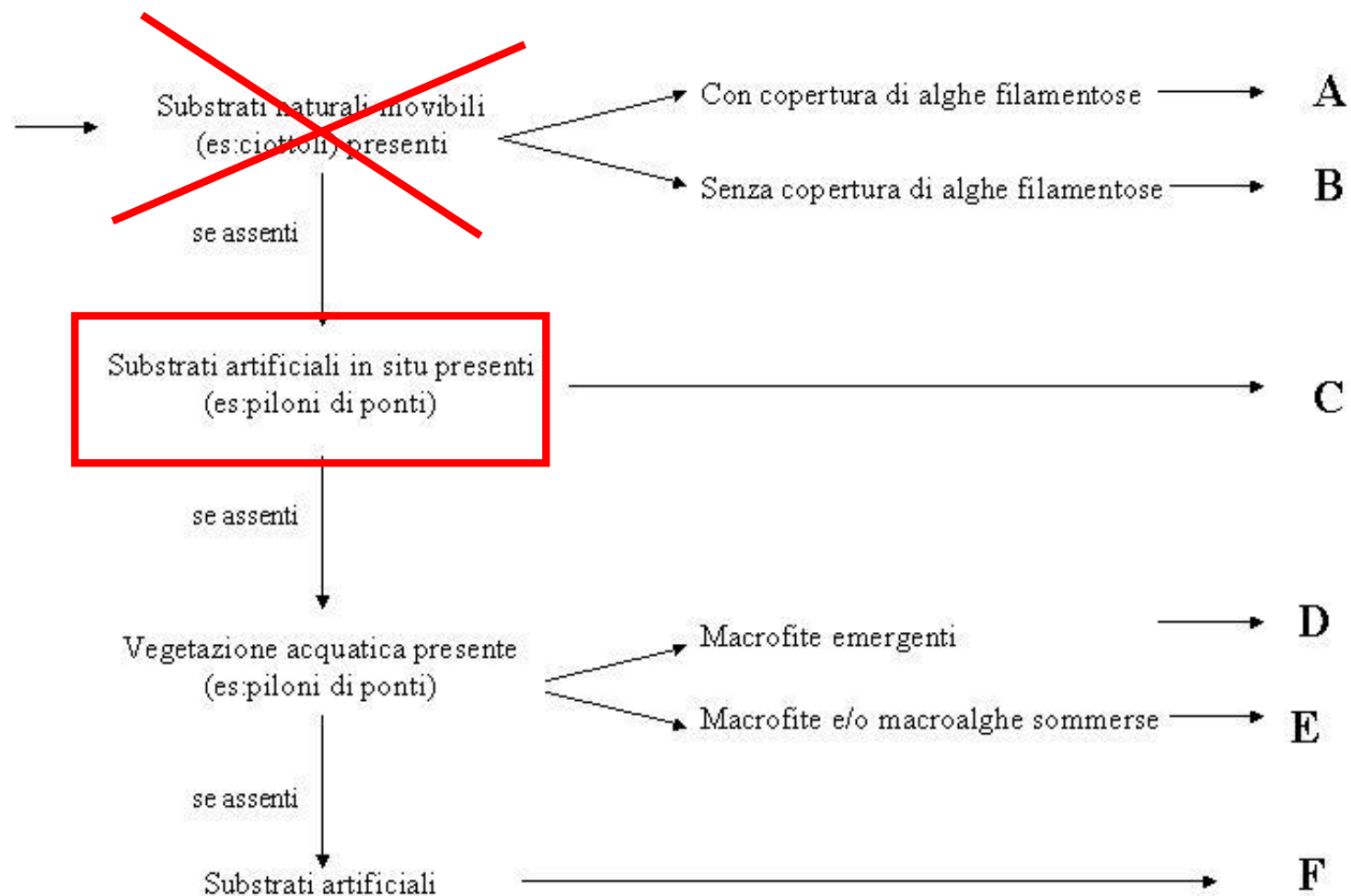


B) Superfici naturali ciottoli con alghe filamentose



Se $> 75\%$ del substrato è ricoperto da alghe filamentose, queste dovrebbero essere campionate in preferenza ai substrati privi di tali alghe. Rimuovere più filamenti possibile prima di grattare o raschiare

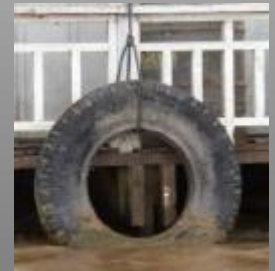


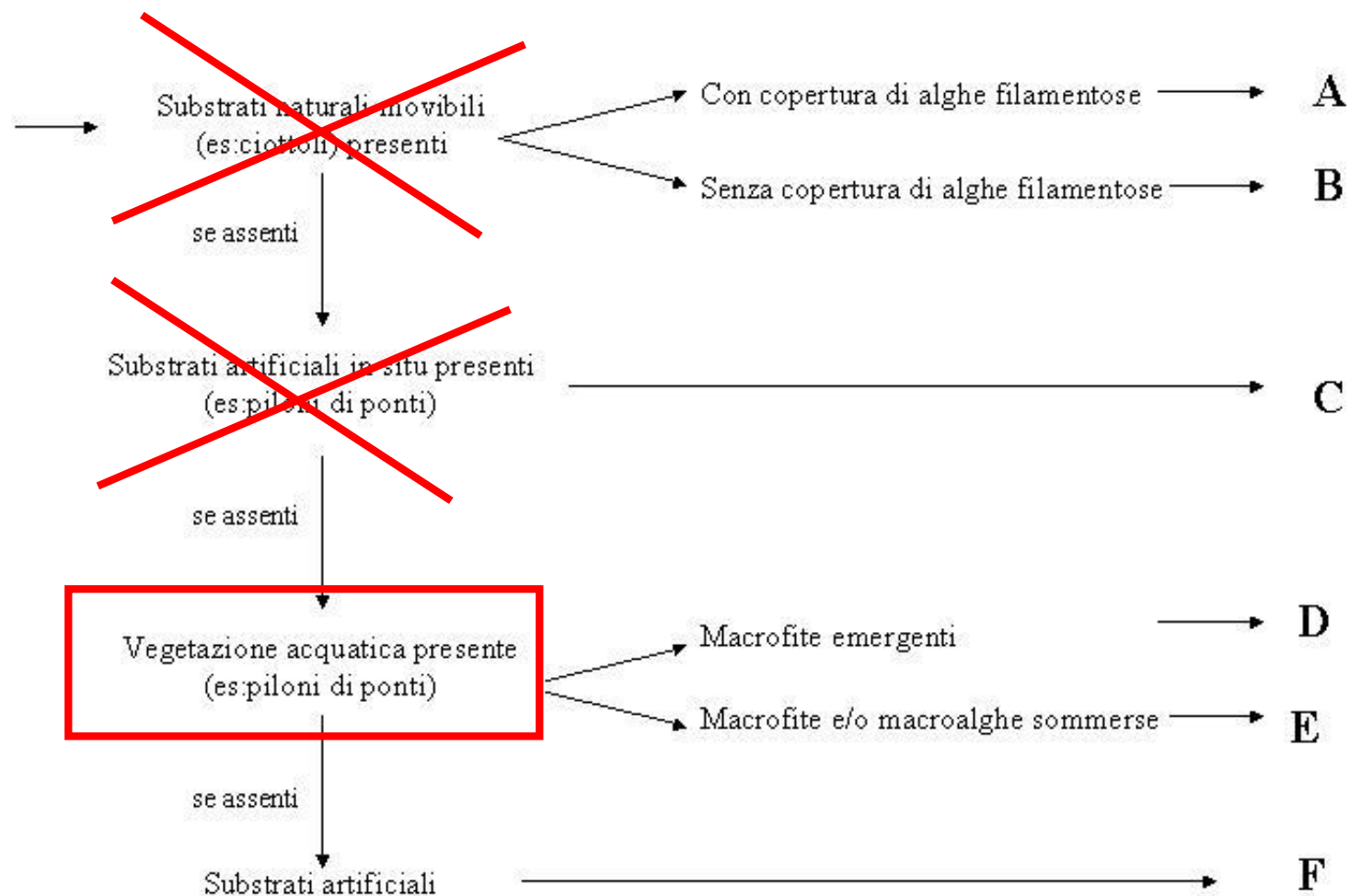


C) Superfici artificiali

es: piloni di ponti

- Grattare la superficie con la lama affilata per rimuovere le diatomee attaccate.
- Campionare area di almeno 10 cm².
- Il film di diatomee che aderisce alla lama dovrebbe essere rimosso direttamente in una bottiglia per campioni in cui è stata posta acqua del corso d'acqua.





D) Macrofite emergenti

I campioni dovrebbero essere raccolti dalle macrofite emergenti solo se sono parti che rimangono permanentemente sommerse ma che non sono contaminate dai sedimenti di fondo.

Tagliare gli steli a livello dell'acqua e metterli in una bottiglia per campioni di plastica o vetro.

In laboratorio rimuovere le diatomee dagli steli grattando o spazzolando delicatamente.



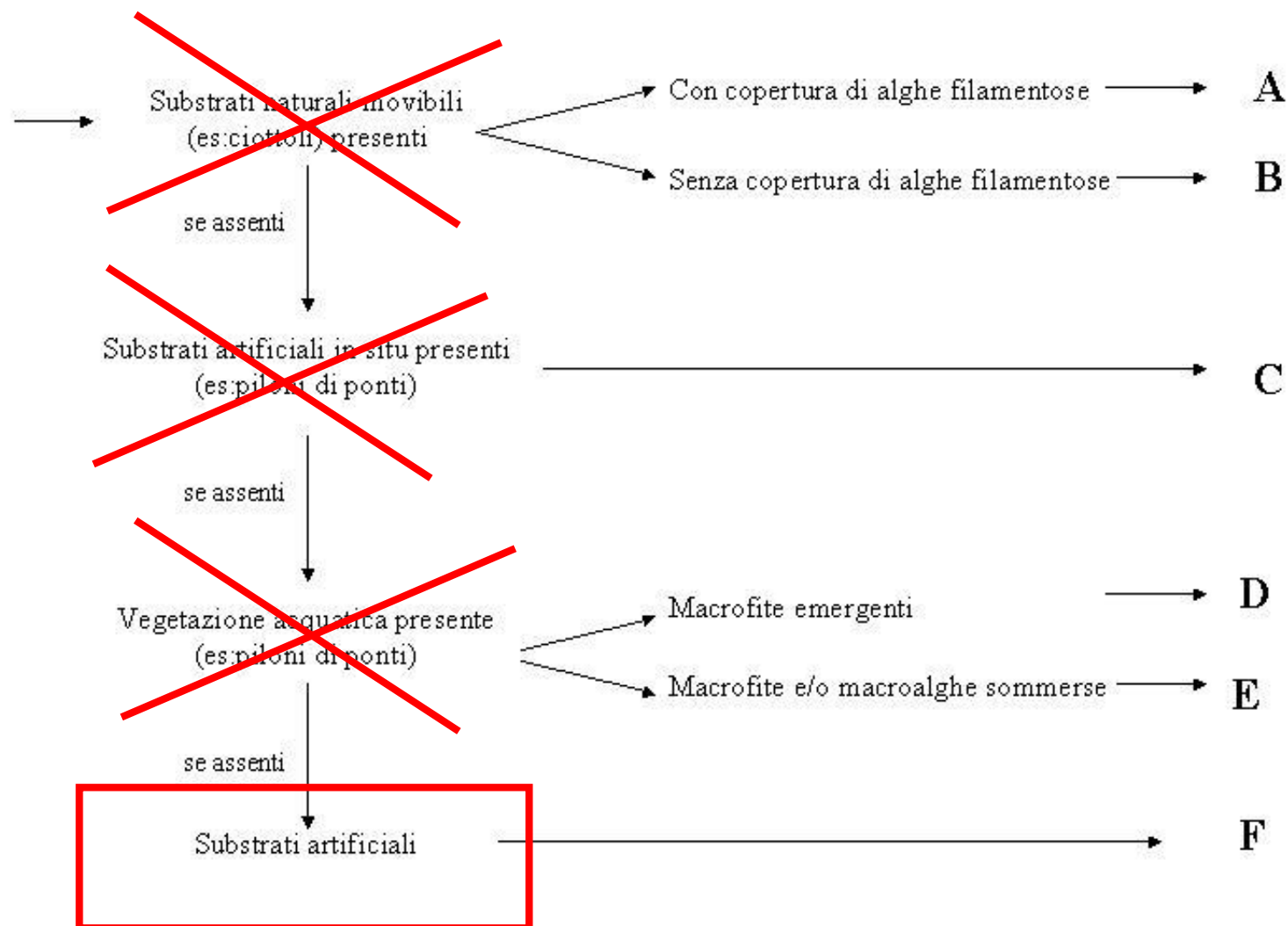
E) Macroalghe e macrofite sommerse

Raccogliere la pianta intera (cinque repliche) e metterla in una bottiglia di plastica per il trasferimento in laboratorio. Agitare le piante vigorosamente in un po' di acqua distillata o demineralizzata in un beaker grande per staccare le diatomee. Rimuovere le macrofite da beaker, lasciare che le diatomee sedimentino e togliere il surnatante.

In alternativa, tagliare alcuni pezzi delle piante sommerse e mettere i frammenti in una bottiglia da campionamento.

Nel caso di macroalghe filamentose, è anche possibile agitare una manciata di materiale e raccogliere la sospensione (che conterrà le diatomee epifitiche) in una bottiglia per campione.





F) Superfici artificiali

es: substrati artificiali

I substrati con superfici eterogenee (mattonelle ruvide, corde di plastica “sfilacciate”) sono da preferire ai substrati con superfici lisce (es vetrini).

Essi dovrebbero essere lasciati nel corso d’acqua per un tempo lungo necessario ad assicurare che la comunità sia in equilibrio con l’ambiente (circa 4 settimane).

- In particolare è stato anche sperimentato l'uso dei supporti artificiali per i fiumi non guadabili utilizzando piastrelle di cotto non trattato di superficie pari a 100 cm^2



Importante



Registrazione delle informazioni su:

- tipo di substrato campionato
- Presenza di alghe filamentose

ATTIVITA' DI LABORATORIO

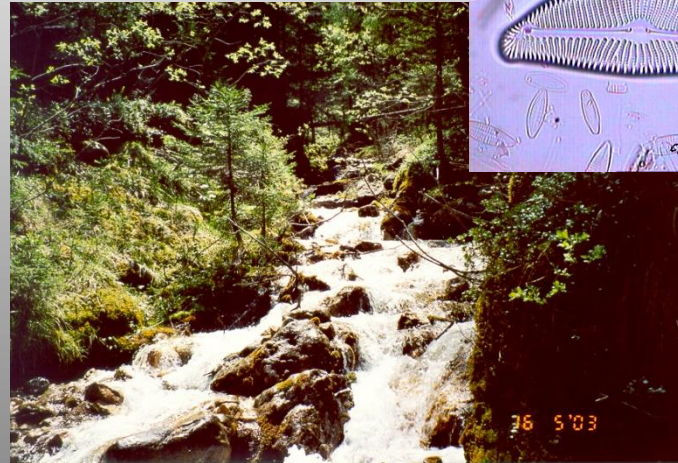
TRATTAMENTO DEI CAMPIONI DI DIATOMEES E PREPARAZIONE DEI VETRINI PERMANENTI

Sulla base di:

- EN 13946:2003 (Water quality – Guidance Standard for the routine sampling and pre-treatment of benthic diatom samples from rivers)

- Dell'Uomo, 2004 "l'Indice Diatomico di eutrofizzazione/polluzione (EPI-D) nel monitoraggio biologico delle acque correnti. Linee guida

- "Protocollo di campionamento delle diatomee bentoniche dei corsi d'acqua" (APAT, 2008).



Pretrattamento dei campioni di Diatomee prima dell'esame al microscopio

1. Conservazione e trattamento preliminare in laboratorio
2. Metodi per pulire le diatomee
3. Preparazione di vetrini permanenti

Conservazione e trattamento preliminare in laboratorio

Giunti in laboratorio si procede a:

- **eliminazione dei substrati di grandi dimensioni** o materiale vegetale grossolano (anche con l'ausilio di un setaccio da cucina);
- **analisi preliminare del campione al microscopio**: annotare qualsiasi particolare insolito (es. numero elevato di frustuli vuoti);
- **Preparazione del campione o stoccaggio in un luogo freddo e buio fino a 24 ore prima della preparazione o aggiunta di conservante.** Dopo 24 ore il materiale in sospensione è sedimentato sul fondo del contenitore ed il surnatante limpido può essere tolto con cautela. In alternativa, il campione può essere centrifugato.
- **Conservazione di una parte del campione tal quale.**

Conservanti: interrompono la divisione cellulare e la decomposizione della s.o.

1. Soluzione di formaldeide tamponata a pH 7 (per prevenire la dissoluzione dei frustuli) al 4% v/v (HCHO) (conservazione a lungo termine)

- Concentrazione finale del campione: 1% a 4% (vol/vol).

2. Lugol soluzione diluita di iodio-potossio ioduro) (conservazione a breve termine)

- 1 a 5 gocce di Lugol per 100 ml campione (colore finale paglierino)

- quantità maggiore per campioni ricchi di sostanza organica

- non aggiungere al Lugol acido acetico o glutaraldeide in quanto possono dissolvere la silice.

3. Etanolo al 70% (C₂H₅OH) (conservazione a lungo termine)

- Aggiungere pari vol di alcool puro al campione (esperienza pers.)

4. Congelamento

Metodi per pulire le Diatomee

- **Per la pulizia** delle diatomee sono stati descritti in bibliografia **molti metodi**, tutti utilizzabili (perossido di idrogeno: di uso comune).
- **Le quantità di reagenti e soluzioni, nonché del campione di partenza possono essere comunque variate** (mantenendo le proporzioni), allo scopo di adattarle alle condizioni specifiche del campione.
- **Attenzione alla pulizia**, per ridurre al minimo il rischio di contaminazione fra campioni (bacchette, becker singole per ogni campione, pipette Pasteur....)
- **Per l'identificazione è necessario avere una sospensione di frustuli vuoti e montare le diatomee utilizzando un montante con alto indice di rifrazione.**

Metodo con perossido di idrogeno a caldo

Attrezzature

- cappa chimica o sistema equivalente
- piastra riscandante, bagno a sabbia (sand bath) o sistema bagnomaria;
- beakers o provettoni resistenti alle alte temperature e alle sost. ossidanti e acide;
- vetreria per la misura di 20 ml di agenti ossidanti;
- pipette Pasteur pulite;
- centrifuga (opzionale);
- tubi da centrifuga (opzionale)



NOTA Se manca la centrifuga: sedimentazione del campione per una notte, poi si elimina il surnatante con cautela.

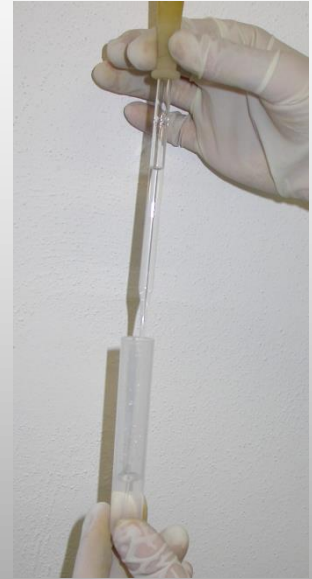
Reagenti

- perossido di idrogeno a 110-130 volumi;
- acido cloridrico diluito (HCl) 1M.

Preparazione di vetrini permanenti



1. Omogeneizzare la sospensione di frustuli in una opportuna quantità di acqua distillata. La densità delle valve può essere controllata velocemente facendo evaporare una goccia di sospensione su un coprioggetto ed esaminandolo con un obiettivo medio (400X).



2. Prelevare con pipetta Pasteur un po' di sospensione e depositarla sul vetrino coprioggetto. Lasciarla asciugare in un ambiente caldo senza polvere (es: essiccatore), o scaldando dolcemente su una piastra. Il risultato dovrebbe essere una patina grigia su circa i 2/3 del coprioggetto.



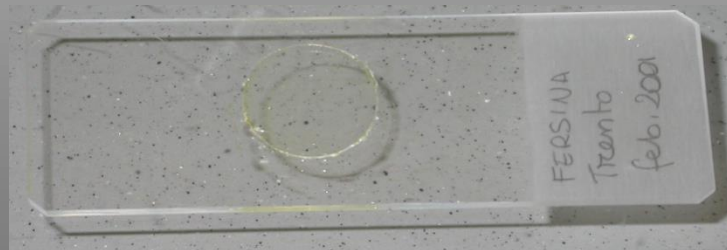
Preparazione di vetrini permanenti

3. porre la goccia di resina sul vetrino portaoggetto;
4. capovolgere la lamella coprioggetto sulla goccia di resina (ovviamente con la patina di diatomee rivolta verso la resina);
5. porre il vetrino su una piastra riscaldante fino a completa eliminazione del solvente: si sviluppano bolle d'aria che vanno completamente eliminate. Questa fase può durare fino a 10-15 minuti;
6. togliere il vetrino dalla fonte di calore e porlo su una superficie piana per il raffreddamento; fare una delicata pressione sul vetrino coprioggetto per ottenere un preparato il più sottile possibile; lasciar raffreddare;



Preparazione di vetrini permanenti

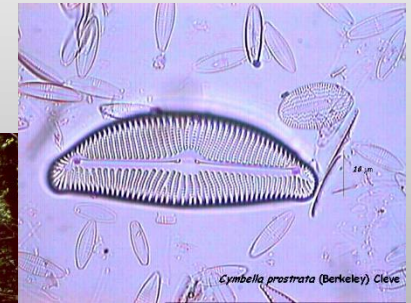
6. **eliminare delicatamente con una lama l'eccesso di resina** che fuoriesce dal bordo circolare del coprioggetto;
7. disporre con un pennellino dello smalto per unghie attorno alla lamella coprioggetto per proteggere la resina dall'attacco dell'olio;
8. **controllare al microscopio** la bontà del vetrino. Idealmente il preparato dovrebbe avere da **10 a 15 valve per campo** ad un ingrandimento di 1000 x. Se il vetrino ha troppe valve per campo, ripetere la procedura con campione più diluito di diatomee pulite;
9. **etichettare il vetrino**, riportando almeno le informazioni sulla stazione e la data di campionamento, oltre ad ogni codice necessario ad identificare il vetrino per altre informazioni.



ATTIVITA' DI LABORATORIO:

IDENTIFICAZIONE E CONTA DELLE DIATOMEESU VETRINI PERMANENTI

Sulla base di "EN 14407:2002: Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of the benthic diatom samples from running waters"



Materiale ed attrezzatura necessaria

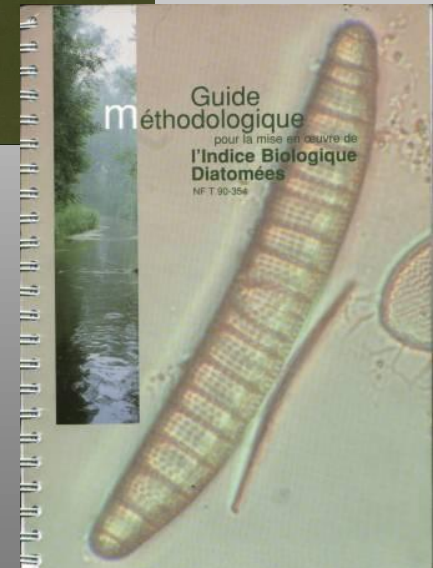
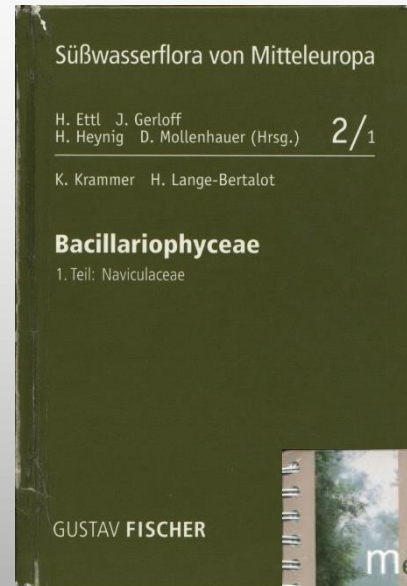
1. microscopio ottico con:

- carrello mobile e lenti ad alto ingrandimento per immersione ad olio (1000 x);
- non necessari, ma utili: **contrasto di fase o contrasto interferenziale (Nomarski)**;
- sistemi per la misura: es. oculare graduato con risoluzione di almeno 1 μm .
- **Attrezzature per la fotomicroscopia o video cattura**



Materiale ed attrezzatura necessaria

2. Guide e iconografie per identificazione
3. Olio ad immersione
4. Carta pulizia lenti
5. Moduli per le liste specie e moduli di conta;
6. Mezzi per identificare i taxa problematici: disegni, microfotografie, immagini video,.....annotare le coordinate



Valutazione delle abbondanze dei taxa nei campioni: CONTA

NUMERO DI UNITA' PER CAMPIONE: 300-500

Esistono diverse modalità di conteggio:

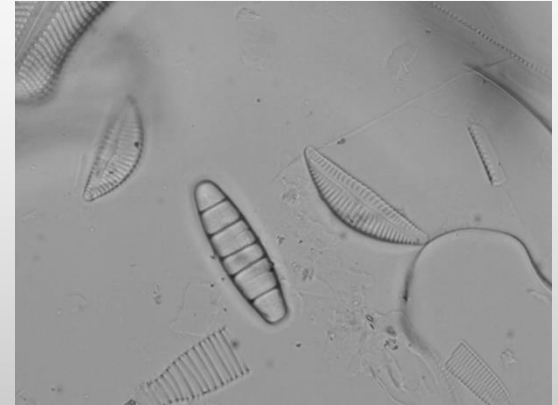
1. Valve
2. Frustuli
3. Valve o frustuli senza distinzione

.....gli esperti credono che le differenze siano piuttosto ridotte.

Dichiarare la modalità all'inizio del lavoro. In alcuni casi (diatomee piccole, es. *Achnanthes* e *Navicula*), è difficile distinguere con certezza tra valva e frustulo

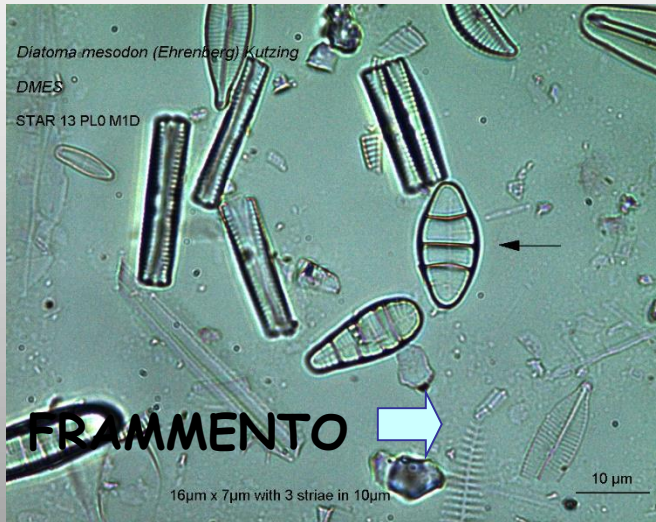
Conteggio delle diatomee

1. Prima di effettuare la conta: **analisi del vetrino e calibrazione** dei sistemi di misura del microscopio
2. Conta di x campi microscopici fino ad arrivare a circa 400 unità. **Tutte le diatomee** visibili in un campo (o nella griglia) vengono identificate e contate o prima di muoversi lungo una direzione verticale od orizzontale in un altro campo oppure selezionando un nuovo campo a caso.
3. Il campo visibile in ogni spostamento non si deve sovrapporre con quello visibile prima dello spostamento
4. Se l'analisi non viene completata in un'unica sessione, è utile registrare la posizione con la **scala di Venier** (microscopi diversi: scala diversa)



Conteggio delle diatomee

UNITA' SUL BORDO



FRAMMENTO

E' necessario definire una procedura prima dell'inizio del lavoro.

DIATOMEES SUL BORDO: contare ad es. solo quelle in alto (e non in basso se ci si sposta orizzontalmente) e a sinistra (e non a dx se ci si sposta verticalmente)

DIATOMEES ROTTE

Si può:

1. comprendere un individuo rotto solo se è presente in un frammento di circa $\frac{3}{4}$
2. Comprendere individui solo se almeno un polo e l'area centrale sono visibili
3. Escludere tutti gli individui rotti.

Presenza di molti frammenti di grandi dimensioni:

1. diatomee morte sono state portate a valle da siti posti a monte
2. ripetere la preparazione utilizzando un trattamento meno aggressivo.

Conteggio delle diatomee non identificabili

Diatomee non identificabili:

1. presenza di **materiale sovrapposto** che impedisce una chiara visione
2. **vista connettivale**
3. l'analista non è in grado di determinarle



Come procedere:

1. Preparare un preparato più diluito
2. Vista connettivale: **alcuni taxa sono determinabili comunque** (es. *Rhoicosphenia* abbreviata), **altri possono comunque essere assegnati** ad una specie; per quelli non determinabili come specie, si assegnerà il **livello più basso** (*Gomphonema* non identificato, pennata connettivale non identificata;...)
3. In generale **non più del 12% della conta totale** deve essere composto da individui non identificati fino al livello di specie

La componente vegetale:

- **Alghe**
- **Briofite**
- **Pteridofite**
- **Idrofite fanerogamiche**
- **Elofite**
- **Igrofite spondali**
- **Vegetazione ripariale**

ALGHE E BIOMONITORAGGIO FLUVIALE

I vantaggi offerti dalle alghe sono evidenti:

- Popolano tutte le acque correnti con una grandissima varietà di forme.**
- Il loro corpo vegetativo, o tallo, è completamente immerso nell'elemento idrico, di cui rispecchiano le proprietà fisiche e la composizione chimica.**
- Sono solidamente ancorate al substrato sul quale rimangono per intere stagioni, se non per anni, superando con varie strategie le condizioni climatiche avverse.**
- Talvolta, come in certi torrenti di montagna con fondo roccioso, rappresentano la sola copertura vegetale.**

Le ALGHE che popolano il corso d'acqua

I nostri fiumi sono popolati da alghe macro- e microscopiche che appartengono soprattutto alle seguenti classi:

- ✓ *Cyanophyceae* (o cianobatteri)
- ✓ *Chrysophyceae* (alghe giallo-oro)
- ✓ *Xanthophyceae* (alghe giallo-verdi)
- ✓ *Bacillariophyceae* (Diatomee)
- ✓ *Phaeophyceae* (alghe brune, rare)
- ✓ *Rhodophyceae* (alghe rosse)
- ✓ *Chlorophyceae* (alghe verdi)
- ✓ *Charophyceae* (alghe verdi)
- ✓ *Ulvophyceae* (alghe verdi)

Zonazione di un corso d'acqua

- In un corso d'acqua si possono riconoscere, seguendo a grandi linee la tipizzazione longitudinale proposta da Illies e Botosaneanu (1963), e con successione da monte a valle, le seguenti zone:
 - il ***crenon***, rappresentato dalle sorgenti e dai ruscelli sorgivi;
 - il ***rhithron***, risultante dapprima dalla confluenza dei ruscelli sorgivi e, successivamente, dal tratto torrentizio; è suddiviso in ***epi-***, ***meta*** ed ***hyporhithron***;
 - il ***potamon*** suddivisibile, a sua volta, in ***epipotamon***, ***metapotamon*** ed ***hypopotamon***; quest'ultimo tratto, “contaminato” dal reflusso delle acque salate, non è più un ambiente d'acqua tipicamente dolce e andrà pertanto escluso dal campionamento.
- Tutte queste zone ospitano tipiche comunità di alghe appartenenti alle classi precedentemente elencate.

- **Non sembrano presentare controindicazioni invece le Diatomee, alghe microscopiche che:**
 - **con relativa facilità possono essere campionate ovunque, sia pure con varie tecniche ed accorgimenti,**
 - **sono reperibili tutto l'anno in tutti i corsi d'acqua e in tutti gli ambienti fluviali, con generi e specie differenti,**
 - **hanno un breve tempo di resilienza,**
 - **sono meglio conosciute, rispetto alle alghe macroscopiche, sia dal punto di vista sistematico che ecologico,**
 - **sono molto sensibili all'inquinamento organico, al grado di mineralizzazione del corpo idrico, in particolare ai cloruri, ed alla concentrazione in nutrienti,**
 - **permettono pertanto una diagnosi più accurata ed affidabile della qualità biologica del sito in esame.**

Le Diatomee che popolano un corso d'acqua possono essere suddivise, in base al substrato sul quale si sviluppano, in tre differenti categorie:

- **Diatomee epilitiche**, in forma di sottili rivestimenti brunastri sulle pietre e sui ciottoli.
- **Diatomee epifitiche**, attaccate alle macrofite acquatiche (alghe macroscopiche, muschi, idrofite fanerogamiche).
- **Diatomee epipeliche**, adagiate sul limo di fondo dell'alveo fluviale, nei tratti in cui le acque fluiscono lentamente.

Tra tutte, quelle che si lasciano decisamente preferire sono le **Diatomee epilitiche**, che vengono prelevate nel vivo della corrente con un raschietto o con uno spazzolino a setole rigide.

Segue una breve descrizione dei parametri che maggiormente influenzano la distribuzione delle Diatomee, con particolare riferimento alle forme reofile.

La velocità di corrente

E' questo un fattore che condiziona molteplici aspetti del metabolismo delle Diatomee, come la respirazione o l'assorbimento delle sostanze disciolte. Di norma le acque rapide sono anche molto bene ossigenate. Si possono distinguere in proposito:

- Diatomee **reobionti**: colonizzano esclusivamente le acque correnti, in particolare i torrenti di alta e media montagna; possiedono appositi adattamenti per l'adesione al substrato;
- Diatomee **reofile**: hanno una netta predilezione per le acque correnti, ma si incontrano anche in quelle stagnanti;
- Diatomee **limnofile**: prediligono le acque stagnanti (laghi) o lentamente fluenti, come sono tipicamente quelle del tratto terminale dei fiumi;
- Diatomee **limnobionti**: vivono esclusivamente nelle acque tranquille (laghi, paludi, ecc.);
- Diatomee **indifferenti alla corrente**: sono ugualmente rappresentate nelle acque correnti (ambienti lotici) ed in quelle stagnanti (ambienti lentic).

Il pH

E' questo un altro fattore di notevole importanza nel determinare la distribuzione delle Diatomee. Le acque a reazione acida, alcalina o neutra danno insediamento a differenti comunità di Diatomee. La suddivisione che tiene conto della loro sensibilità al pH, le distingue nelle seguenti classi:

- Diatomee **alcalibionti**: esigono ambienti a reazione alcalina;
- Diatomee **alcalifile**: prediligono un pH superiore a 7; insieme alle precedenti, popolano corsi d'acqua che solcano terreni di natura calcarea;
- Diatomee **neutrofile**: hanno uno sviluppo ottimale a valori di pH prossimi a 7; possono essere qui incluse le forme che da alcuni autori vengono chiamate indifferenti al pH;
- Diatomee **acidofile**: prediligono un pH inferiore a 7; si trovano più frequentemente in corsi d'acqua che scorrono su substrati silicei;
- Diatomee **acidobionti**: si sviluppano sempre a pH inferiore a 7, hanno pH ottimale attorno a 5, prediligono le acque decisamente acide delle torbiere a sfagni; non sono molte le forme che si incontrano negli ambienti lotici.

La temperatura

E' uno dei parametri più problematici da mettere in relazione diretta con le Diatomee perché le sue variazioni influenzano tutta una serie di fattori chimici e biologici, come la solubilità e la diffusione dei composti chimici, l'ossigenazione e la viscosità dell'acqua, la solubilità dell'anidride carbonica, il metabolismo e la riproduzione delle Diatomee. Queste alghe, tuttavia, mostrano una decisa predilezione per le acque fresche primaverili ed autunnali e sembrano non tollerare, se non per breve tempo, temperature superiori a 40° C.

Prendendo in considerazione la loro tolleranza alle variazioni di temperatura, le Diatomee possono essere distinte in:

- **stenoterme**, se tollerano solo piccole oscillazioni di temperatura, dell'ordine di 10°C ;
- ed **euriterme**, quando sopportano oscillazioni di temperatura di maggiore ampiezza.

Se invece si prendono in considerazione i valori assoluti della temperatura, le Diatomee possono essere suddivise in:

- **oligoterme**, quando si incontrano solo a basse temperature, inferiori a 15° C;
- **mesoterme**, se vivono a temperature comprese tra 15 e 30°C;
- **euterme** o **politerme**, quando esigono acque calde, con temperature superiori a 30°C.

L'ossigeno disciolto

Rispetto alle loro esigenze nei confronti dell'ossigeno disciolto, Van Dam (1994) suddivide le Diatomee in cinque classi:

- specie che esigono una ossigenazione del corpo idrico molto elevata (100% di saturazione);
- specie che necessitano comunque di una forte quantità di ossigeno (saturazione > 75%);
- specie che si sviluppano in presenza di una moderata ossigenazione (saturazione > 50%);
- specie per le quali è sufficiente una bassa quantità di ossigeno (saturazione > 30%);
- specie che riescono a vivere in ambienti con una quantità di ossigeno molto bassa (circa 10% di saturazione); sono molto poche, tra queste *Navicula accomoda* e *Nitzschia umbonata*.

La silice

Le Diatomee hanno bisogno di silice per la costruzione della loro parete cellulare (frustulo); pertanto il loro sviluppo è condizionato dal tenore in silice del corpo idrico. Ogni specie possiede un proprio optimum per quanto riguarda la concentrazione della silice, che viene assunta in forma solubile, come $\text{Si}(\text{OH})_4$. Le necessità variano inoltre nel corso del ciclo vitale dell'alga e con le condizioni chimico-fisiche del mezzo ambiente.

LA SOSTANZA ORGANICA - IL SISTEMA SAPROBICO

Il **sistema saprobico**, o **degli organismi saprobi**, pone in relazione organismi viventi e sostanza organica. La sua origine si deve a Kolkwitz e Marsson (1902, 1908, 1909). Tra gli altri che se ne sono occupati successivamente: Liebmann (1962), Fjerdingsstad (1964, 1965), e infine Sládecek (1973, 1986), la cui rielaborazione viene qui seguita. Le Diatomee, che sono ben integrate nel sistema saprobico, possono essere suddivise nei seguenti cinque livelli, o gradi, che manifestano un'affinità o tolleranza crescente per la sostanza organica

- **Diatomee xenosaprobie**: non tollerano la sostanza organica (BOD_5 fino a 2 mg/l);
- **Diatomee oligosaprobie**: tollerano solo piccole quantità di sostanza organica (BOD_5 : 2-4 mg/l);
- **Diatomee β -mesosaprobie**: si sviluppano bene in presenza di una moderata quantità di sostanza organica, che viene completamente degradata (BOD_5 : 4-6 mg/l);
- **Diatomee α -mesosaprobie**: si trovano in ambienti con elevate quantità di sostanza organica, la cui demolizione è solo parziale, si arresta quando l'ossigeno disponibile risulta tutto consumato (BOD_5 : 6-10 mg/l);
- **Diatomee polisaprobie**: sopportano una polluzione organica molto forte, in ambienti dove i processi riduttivi dominano su quelli ossidativi, con formazione di composti tossici ($BOD_5 > 10$ mg/l).

LA SALINITÀ. I CLORURI.

Vari autori hanno tentato di elaborare un “**sistema di salinità**” o “**sistema alobico**” con esplicito riferimento alle Diatomee; tra questi: Kolbe (1927), Hustedt (1956), Van Dam *et al.* (1994).

Si propone qui una classificazione in cinque livelli delle Diatomee che popolano i corsi d'acqua, rielaborata rispetto agli autori citati:

- **Diatomee alofobe:** forme di acqua dolce che non tollerano i cloruri, se non in concentrazione inferiore a 20 mg.l^{-1} .
- **Diatomee oligoalobie esigenti:** tollerano solo una piccola quantità di cloruri ($20\text{-}50 \text{ mg.l}^{-1}$).
- **Diatomee oligoalobie tolleranti:** hanno uno sviluppo ottimale a valori di salinità compresi tra 50 e 200 mg.l^{-1} .
- **Diatomee alofile:** forme per le quali un moderato contenuto in sali (cloruri) risulta stimolante; salinità compresa tra 200 e 500 mg.l^{-1} .
- **Diatomee β -mesoalobie:** forme d'acqua oligosalmastra, con salinità che oscilla tra $0,5$ e 5 g.l^{-1} .

Sono queste le Diatomee che si possono incontrare nei fiumi. Estendendo questa classificazione alle acque salmastre e salate troviamo:

- Diatomee α -mesoalobie: forme di acqua salmastra con salinità compresa tra 5 e 20 (~ 30) g.l^{-1} ;
- Diatomee eualobie; forme tipicamente marine, salinità compresa tra 30 e 40 g.l^{-1} ;
- Diatomee polialobie (o iperalobie): tollerano valori di salinità superiori a 40 g.l^{-1} .

I SALI NUTRITIVI

Alla definizione del **sistema trofico**, che mette in relazione organismi viventi e contenuto in nutrienti (soprattutto fosfati e nitrati), hanno contribuito numerosi autori. Tra gli ultimi che si sono occupati dei rapporti tra Diatomee e sali nutritivi Hofmann (1994) e Van Dam (1994). Semplificando le varie proposte, possiamo qui suddividere le Diatomee che popolano i corsi d'acqua in:

- specie di **ambienti ipotrofici (o ultraoligotrofi)**;
- specie caratteristiche di **ambienti oligotrofi**;
- specie caratteristiche di **ambienti mesotrofici**;
- specie caratteristiche di **ambienti eutrofi**;
- specie caratteristiche di **ambienti ipertrofici**.

Si è soliti definire questi cinque livelli sulla base della concentrazione in fosforo totale, assumendo per il primo livello un valore fino a $4\text{--}5\ \mu\text{g.l}^{-1}$; tale valore aumenta progressivamente nei livelli successivi fino a superare i $100\ \mu\text{g.l}^{-1}$. Sarebbe tuttavia più opportuno, per quanto concerne le Diatomee, definire questi livelli sulla base del contenuto in ortofosfati.

N.B.: I sistemi saprobico, alobico e trofico costituiscono parte integrante dell'indice EPI-D che ha per oggetto la valutazione della qualità biologica dei corsi d'acqua.

Valutazione dello stato ecologico

**MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA TUTELA
DEL TERRITORIO E DEL MARE propone:**

Indice ICMi

ICMi (Intercalibration Common Metric) è un indice multiparametrico composto da due indici:

dall'Indice di Sensibilità agli Inquinanti (**IPS**: Coste, CEMAGREF, 1982) e l'Indice Trofico (**TI**: Rott et al., 1999).

RQE_IPS= (IPS_osservato/IPS_riferimento)

RQE_TI= (4-TI_osservato)/(4-TI_riferimento)

ICMi= (RQE_IPS + RQE_TI)/2

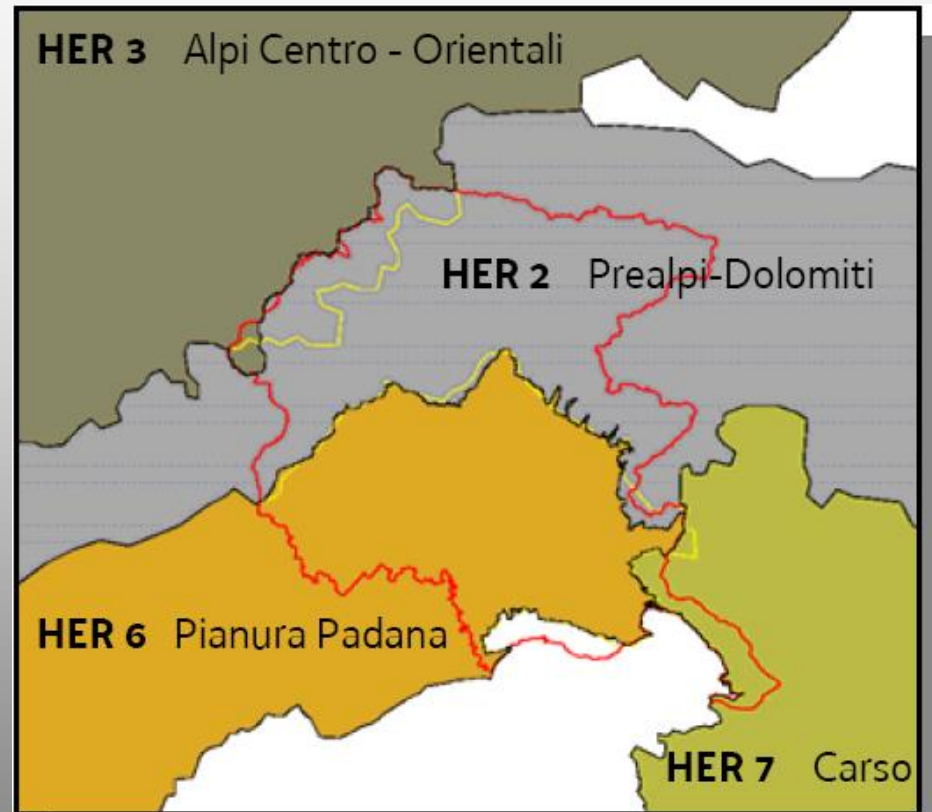
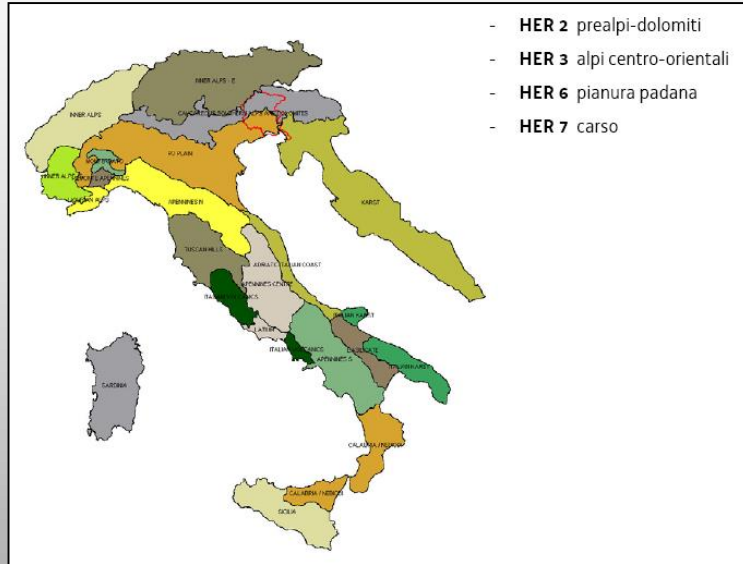
AREA GEOGRAFICA	MACROTIPI FLUVIALI (Descrizione)	HER
Alpino	A1 (Piccolo, medio elevate altitudini e calcareo) A2 (Piccolo, medio elevate altitudini e siliceo)	1, 2, 3, 4
Centrale	C (Tutte le tipologie fluviali presenti nelle Idrocoregioni dell'area geografica centrale)	1, 2, 3, 4, 5, 7 (Pianura), 6 (Nord del Po)

	Codizioni di riferimento	
Macrotipi	IPS	TI
A1	18,4	1,7
A2	19,6	1,2
C	16,7	2,4

Macrotipi	E/B	B/S	S/S	S/C
A1	0,87	0,70	0,60	0,30
A2	0,85	0,64	0,54	0,27
C	0,84	0,65	0,55	0,26

Mancini L, Sollazzo C. (Ed.). *Metodo per la valutazione dello stato ecologico delle acque correnti: comunità diatomiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/19).

Idroecoregioni (HER)



MACROTIPO A1

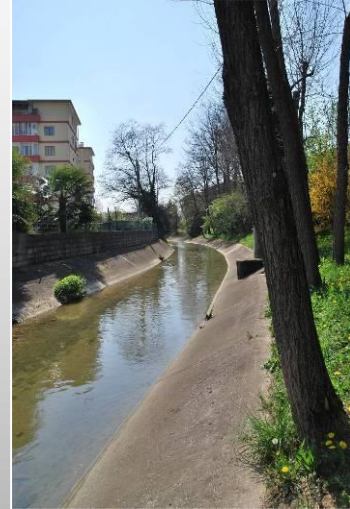
CODE	CI	TIPOLOGIA	Fiume	RETE	IPS	TI	IPSi	Ti	ICMi	GIUDIZIO
UD02	02SS2T5	02SS2T	Fiume Tagliamento (Forni di Sotto)	SORVEGLIANZA	18,3	1,3	18,4	1,7	1,08	ELEVATO

IPS	SLA	DESCY	IDAP	GENRE	CEE	SHE	WAT		QUALITY NOTES / 20		
18.3	14.1	15.7	19.1	16.3	17.2	16.9	19.2				
TDI	IBD	DI-CH	EPI-D	IDP	LOBO	SID	TID	IDSE/5			
38.8	20.0	15.3	16.9	15.1	16.7	15.1	14.7	4.33			
Number of species 18 Population 384				Diversity 2.15 Evenness 0.52				Genera number 10			
Number	o/oo	Code	ou	Designation				* : taxon IBD IPS S IPS V			
204	531.25	ADMI	-	Achnantheidium minutissimum (Kützing) Czarnecki				*	5	1	
100	260.42	GPUM	-	Gomphonema pumilum (Grunow) Reichardt & Lange-Bertalot				*	4.5	1	
18	46.88	DVUL	-	Diatoma vulgaris Bory				*	4	1	
12	31.25	ENVE	-	Encyonema ventricosum (Agardh) Grunow				*	4.8	1	
12	31.25	GTER	-	Gomphonema tergestinum Fricke				*	4	3	
11	28.65	ENMI	-	Encyonema minutum (Hilse in Rabh.) D.G. Mann				*	4	2	
6	15.63	CPAR	-	Cymbella parva(W.Sm.)Kirchner in Cohn				*	5	3	
4	10.42	CPED	-	Cocconeis pediculus Ehrenberg				*	4	2	
4	10.42	RSIN	-	Reimeria sinuata (Gregory) Kociolek & Stoermer				*	4.8	1	
3	7.81	DMON	-	Diatoma moniliformis Kützing				*	4	2	
3	7.81	CPLE	CEUG	Cocconeis placentula Ehrenberg var.euglypta (Ehr.) Grunow				*	3.6	1	
2	5.21	ADBI	-	Achnantheidium biasolettianum (Grunow in Cl. & Grun.) Lange-Bertalot				*	5	2	
1	2.60	FARC	-	Fragilaria arcus (Ehrenberg) Cleve var. arcus				*	5	2	
1	2.60	GOLI	-	Gomphonema olivaceum (Hornemann) Brébisson var. olivaceum				*	4.6	1	
1	2.60	DEHR	-	Diatoma ehrenbergii Kützing				*	4	3	
1	2.60	NTPT	-	Navicula tripunctata (O.F.Müller) Bory				*	4.4	2	
1	2.60	NSUA	-	Nitzschia subacicularis Hustedt in A.Schmidt et al.				*	3	3	
0		ENSL	-	Encyonema silesiacum (Bleisch in Rabh.) D.G. Mann var.lata Krammer					5	2	
IDSE/5 4.33											
degradation non-existent											
organic pollution non-existent											
anthropogenic eutrophication non-existent											



Problematiche nel campionamento

- Superfici artificiali in situ (manufatti) (es. Torrente Grava) 
- Assenza di acqua a causa di derivazioni idroelettriche
- Acqua torbida a causa di lavori prolungati in alveo



MACROTIPO A2

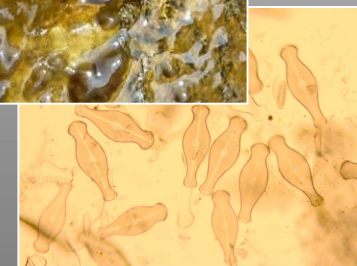
CODE	CI	TIPOLOGIA	Fiume	RETE	IPS	TI	IPSi	Ti	ICMi	GIUDIZIO
UD14	02SS1T17	02SS1T	Torrente Degano (Monte Pierabech)	SORVEGLIANZA	18,7	1,15	19,6	1,2	0,99	ELEVATO

IPS	SLA	DESCY	IDAP	GENRE	CEE	SHE	WAT		QUALITY NOTES / 20
18.7	12.8	17.0	15.3	17.2	18.7	13.6	15.4		
TDI	IBD	DI-CH	EPI-D	IDP	LOBO	SID	TID	IDSE/5	
45.1	20.0	17.4	17.2	11.9	10.8	18.5	15.5	4.23	

Number of species 14		Diversity 3.09		Genera number 8
Population 411		Evenness 0.81		

Number	o/oo	Code	ou	Designation	* : taxon IBD IPS S IPS V		
94	228.71	ESLE	-	Encyonema silesiacum (Bleisch in Rabh.) D.G. Mann	*	5	2
76	184.91	DGEM	-	Didymosphenia geminata (Lyng.) Schmidt morphotyp geminata Metz&Lange-bertal		5	3
63	153.28	DEHR	-	Diatoma ehrenbergii Kützing	*	4	3
56	136.25	FARC	-	Fragilaria arcus (Ehrenberg) Cleve var. arcus	*	5	2
38	92.46	DHIE	-	Diatoma hyemalis (Roth) Heiberg var. hyemalis	*	5	3
24	58.39	CHEL	-	Cymbella helvetica Kützing	*	5	3
15	36.50	FTEN	-	Fragilaria tenera (W.Smith) Lange-Bertalot	*	4	2
14	34.06	CAEX	-	Cymbella excisa Kützing var. excisa	*	4	2
13	31.63	GPEL	GELG	Gomphonema pumilum var. elegans Reichardt & Lange-Bertalot	*	5	1
7	17.03	ADBI	-	Achnantheidium biasolettianum (Grunow in Cl. & Grun.) Lange-Bertalot	*	5	2
4	9.73	ENMI	-	Encyonema minutum (Hilse in Rabh.) D.G. Mann	*	4	2
3	7.30	GTER	-	Gomphonema tergestinum Fricke	*	4	3
2	4.87	ADMI	-	Achnantheidium minutissimum (Kützing) Czarnecki	*	5	1
2	4.87	UULN	-	Ulnaria ulna (Nitzsch.) Compère	*	3	1

IDSE/5 4.23	
degradation non-existent	
organic pollution non-existent	
anthropogenic eutrophication low	



MACROTIPO A2

CODE	CI	TIPOLOGIA	Fiume	RETE	IPS	TI	IPSi	Ti	ICMi	GIUDIZIO
UD28	02SS2T45	02SS2T	Torrente Chiarsò (Valle Rio Turriea)	SORVEGLIANZA	18,8	1,86	19,6	1,2	0,86	ELEVATO

IPS	SLA	DESCY	IDAP	GENRE	CEE	SHE	WAT		QUALITY NOTES / 20
18.8	14.0	15.7	18.2	16.4	18.1	16.4	19.3		
TDI	IBD	DI-CH	EPI-D	IDP	LOBO	SID	TID	IDSE/5	
37.2	20.0	16.4	17.1	12.1	15.6	16.7	11.8	4.28	

Number of species 16		Diversity 2.37		Genera number 10	
Population 438		Evenness 0.59			

Number	o/oo	Code	ou	Designation	* : taxon IBD IPS S IPS V		
204	465.75	ADBI	-	Achnantheidium biasolettianum (Grunow in Cl. & Grun.) Lange-Bertalot	*	5	2
93	212.33	CPLE	CEUG	Cocconeis placentula Ehrenberg var.euglypta (Ehr.) Grunow	*	3.6	1
72	164.38	ADMI	-	Achnantheidium minutissimum (Kützing) Czarnecki	*	5	1
14	31.96	RSIN	-	Reimeria sinuata (Gregory) Kociolek & Stoermer	*	4.8	1
12	27.40	CPPL	COPL	Cocconeis placentula Ehrenberg var. pseudolineata Geitler	*	5	1
6	13.70	ACLI	-	Achnantheidium lineare W.Smith	*	5	2
6	13.70	ESLE	-	Encyonema silesiacum (Bleisch in Rabh.) D.G. Mann	*	5	2
6	13.70	NTPT	-	Navicula tripunctata (O.F.Müller) Bory	*	4.4	2
5	11.42	MVAR	-	Melosira varians Agardh	*	4	1
5	11.42	PLFR	-	Planorhithidium frequentissimum(Lange-Bertalot)Lange-Bertalot	*	3.4	1
4	9.13	CPLI	-	Cocconeis placentula Ehrenberg var.lineata (Ehr.)Van Heurck	*	4	1
3	6.85	ENVE	-	Encyonema ventricosum (Agardh) Grunow	*	4.8	1
3	6.85	APED	-	Amphora pediculus (Kützing) Grunow	*	4	1
2	4.57	NDIS	-	Nitzschia dissipata(Kützing)Grunow var.dissipata	*	4.5	3
2	4.57	NCTE	-	Navicula cryptotenella Lange-Bertalot	*	4	1
1	2.28	UULN	-	Ulnaria ulna (Nitzsch.) Compère	*	3	1

IDSE/5 4.28

degradation non-existent

organic pollution non-existent

anthropogenic eutrophication non-existent



MACROTIPO C



MACROTIPO C

CODE	CI	TIPOLOGIA	Fiume	RETE	IPS	TI	IPSi	Ti	ICMi	GIUDIZIO
UD56	06AS6T21	06AS6T	Roggia Puroia	OPERATIVO	17	2,21	16,7	2,4	1,07	ELEVATO

Number of species 31		Diversity 3.04		Genera number 15	
Population 443		Evenness 0.61			
Number	o/oo	Code	ou	Designation	* : taxon IBD IPS S IPS V
135	304.74	CPLE	CEUG	Cocconeis placentula Ehrenberg var. euglypta (Ehr.) Grunow	* 3.6 1
120	270.88	CPPL	COPL	Cocconeis placentula Ehrenberg var. pseudolineata Geitler	* 5 1
78	176.07	ADMI	-	Achnanthes minutissimum (Kütz.) Czarnecki	* 5 1
12	27.09	GPUM	-	Gomphonema pumilum (Grunow) Reichardt & Lange-Bertalot	* 4.5 1
12	27.09	APED	-	Amphora pediculus (Kütz.) Grunow	* 4 1
12	27.09	FPIN	SSMU	Fragilaria pinnata Ehrenberg var. pinnata	* 4 1
11	24.83	CYDI	CDTI	Cymbella distinguenda Hustedt	
10	22.57	APED	-	Amphora pediculus (Kütz.) Grunow	* 4 1
5	11.29	NFON	-	Nitzschia fonticola Grunow in Cleve et Möller	* 3.5 1
5	11.29	GMIN	-	Gomphonema minutum (Ag.) Agardh f. minutum	* 4 1
4	9.03	CPLI	-	Cocconeis placentula Ehrenberg var. lineata (Ehr.) Van Heurck	* 4 1
4	9.03	ENCM	-	Encyonopsis microcephala (Grunow) Krammer	* 4 2
3	6.77	NTPT	-	Navicula tripunctata (O.F. Müller) Bory	* 4.4 2
3	6.77	CSIL	-	Caloneis silicula (Ehr.) Cleve	* 5 3
3	6.77	ACOP	-	Amphora copulata (Kütz.) Schoeman & Archibald	* 4 2
3	6.77	CPED	-	Cocconeis pediculus Ehrenberg	* 4 2
3	6.77	UULN	-	Ulnaria ulna (Nitzsch.) Compère	* 3 1
2	4.51	CHEL	-	Cymbella helvetica Kütz.	* 5 3
2	4.51	RUNI	-	Reimeria uniseriata Sala Guerrero & Ferrario	* 5 1
2	4.51	NREC	-	Nitzschia recta Hantzsch in Rabenhorst	* 3 2
2	4.51	ENVE	-	Encyonema ventricosum (Agardh) Grunow	* 4.8 1
2	4.51	CPAR	-	Cymbella parva (W.Sm.) Kirchner in Cohn	* 5 3
2	4.51	NDEN	-	Nitzschia denticula Grunow	* 4 2
1	2.26	NVIR	-	Navicula viridula (Kütz.) Ehrenberg	* 3 3
1	2.26	NRCH	-	Navicula reichardtiana Lange-Bertalot var. reichardtiana	* 3.6 1
1	2.26	NRFA	-	Navicula radiosafallax Lange-Bertalot	* 5 2
1	2.26	DTEN	-	Denticula tenuis Kütz.	* 5 3
1	2.26	ACLI	-	Achnanthes lineare W. Smith	* 5 2
1	2.26	CLAN	-	Cymbella lanceolata (Agardh ?) Agardh var. lanceolata	* 4 2
1	2.26	CCES	ECES	Cymbella cesatii (Rabh.) Grunow	* 5 2
1	2.26	NEDU	-	Neidium dubium (Ehrenberg) Cleve	* 4 2
IDSE/5 4.01					
degradation low					
organic pollution non-existent					
anthropogenic eutrophication non-existent					

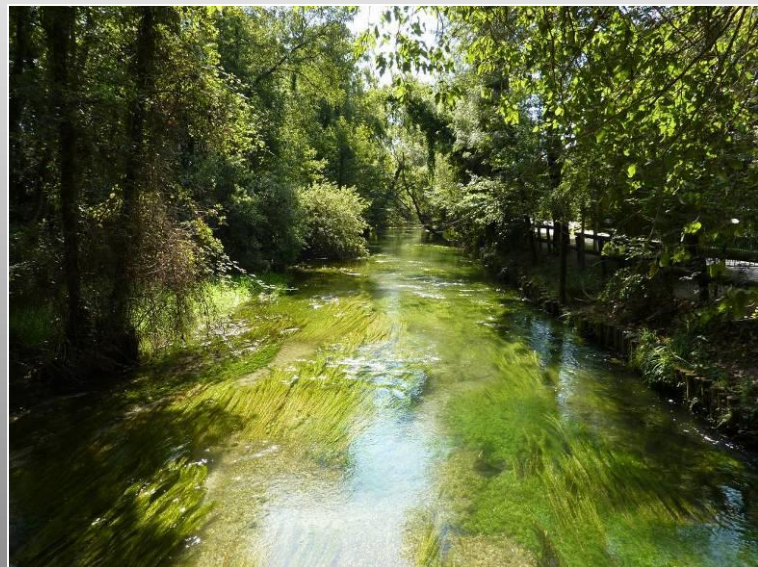


MACROTIPO C

CODE	CI	TIPOLOGIA	Fiume	RETE	IPS	TI	IPSi	Ti	ICMi	GIUDIZIO
UD52	06AS6T44	06AS6T	Roggia Soldan	Operativo	15,8	2,48	16,7	2,4	0,95	ELEVATO

Number of species 29		Diversity 2.78		Genera number 16	
Population 416		Evenness 0.57			
Number	o/oo	Code	ou	Designation	* : taxon IBD IPS S IPS V
201	483.17	FPIN	SSMU	Fragilaria pinnata Ehrenberg var. pinnata	* 4 1
64	153.85	CPED	-	Cocconeis pediculus Ehrenberg	* 4 2
34	81.73	NTPT	-	Navicula tripunctata (O.F.Müller) Bory	* 4.4 2
25	60.10	APED	-	Amphora pediculus (Kützing) Grunow	* 4 1
23	55.29	ADMI	-	Achnanthisidium minutissimum (Kützing) Czarnecki	* 5 1
16	38.46	CPLE	CEUG	Cocconeis placentula Ehrenberg var. euglypta (Ehr.) Grunow	* 3.6 1
6	14.42	ADBI	-	Achnanthisidium biasolettianum (Grunow in Cl. & Grun.) Lange-Bertalot	* 5 2
6	14.42	NRCH	-	Navicula reichardtiana Lange-Bertalot var. reichardtiana	* 3.6 1
6	14.42	PLFR	-	Planorthisidium frequentissimum (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	* 3.4 1
5	12.02	NCRY	-	Navicula cryptocephala Kützing	* 3.5 2
4	9.62	FCVA	-	Fragilaria capucina Desmazieres var. vaucheriae (Kützing) Lange-Bertalot	* 3.4 1
3	7.21	DTEN	-	Denticula tenuis Kützing	* 5 3
2	4.81	ENCM	-	Encyonopsis microcephala (Grunow) Krammer	* 4 2
2	4.81	GPAR	-	Gomphonema parvulum (Kützing) Kützing var. parvulum f. parvulum	* 2 1
2	4.81	NRAD	-	Navicula radiosa Kützing	* 5 2
2	4.81	UULN	-	Ulnaria ulna (Nitzsch.) Compère	* 3 1
2	4.81	RSIN	-	Reimeria sinuata (Gregory) Kociolek & Stoermer	* 4.8 1
2	4.81	NFON	-	Nitzschia fonticola Grunow in Cleve et Möller	* 3.5 1
2	4.81	CPLA	-	Cocconeis placentula Ehrenberg var. placentula	* 4 1
1	2.40	NDEN	-	Nitzschia denticula Grunow	* 4 2
1	2.40	CLAN	-	Cymbella lanceolata (Agardh ?) Agardh var. lanceolata	* 4 2
1	2.40	GBRE	-	Gomphonema brebissonii Kützing	4.5 3
1	2.40	GTER	-	Gomphonema tergestinum Fricke	* 4 3
1	2.40	CPAR	-	Cymbella parva (W.Sm.) Kirchner in Cohn	* 5 3
1	2.40	ENVE	-	Encyonema ventricosum (Agardh) Grunow	* 4.8 1
1	2.40	GPUM	-	Gomphonema pumilum (Grunow) Reichardt & Lange-Bertalot	* 4.5 1
1	2.40	CBAC	-	Caloneis bacillum (Grunow) Cleve	* 4 2
1	2.40	NRAD	-	Navicula radiosa Kützing	* 5 2
0		CPPS	-		
IDSE/5 3.83					
degradation low					
organic pollution non-existent					
anthropogenic eutrophication low					

IPS	SLA	DESCY	IDAP	GENRE	CEE	SHE	WAT	QUALITY NOTES / 20	
15.8	13.1	18.7	15.4	13.1	15.4	14.3	9.4		
TDI	IBD	DI-CH	EPI-D	IDP	LOBO	SID	TID	IDSE/5	
70.2	16.0	12.4	14.4	11.5	15.4	15.6	6.5	3.83	



MACROTIPO C

CODE	CI	TIPOLOGIA	Fiume	RETE	IPS	TI	IPSi	Ti	ICMi	GIUDIZIO
UD64	06AS6T1	06AS6T	Fiume Natissa	Operativo	9.03	3,09	16,7	2,4	0,30	CATTIVO

Number of species		34	Diversity		3.73	Genera number		18	
Population		438	Evenness		0.73				
Number	α/ω	Code	ou	Designation	* : taxon IBD IPS S IPS V				
91	207.78	CPL	CEUG	Cocconeis placentula Ehrenberg var.euglypta (Ehr.) Grunow	*	3.8	1		
83	143.84	RABB	-	Rhoiosphenia abbreviata (C.Agardh) Lange-Bertalot	*	4	1		
56	127.85	NAMP	-	Nitzschia amphibia Grunow f.amphibia	*	2	2		
53	121.00	NPAL	-	Nitzschia palea (Kützing) W. Smith	*	1	3		
40	91.32	FFAS	TFAS	Fragilaria fasciculata (C.A. Agardh) Lange-Bertalot sensu lato	*	2	3		
18	41.10	APED	-	Amphora pediculus (Kützing) Grunow	*	4	1		
14	31.98	ESLE	-	Encyonema silesiacum (Bleisch in Rabh.) D.G. Mann	*	5	2		
13	29.68	NTPT	-	Navicula tripunctata (O.F.Müller) Bory	*	4.4	2		
13	29.68	GOLI	-	Gomphonema olivaceum (Hornemann) Brébisson var. olivaceum	*	4.8	1		
12	27.40	NANT	-	Navicula antonii Lange-Bertalot	*	4	1		
10	22.83	ADMI	-	Achnanidium minutissimum (Kützing) Czamecki	*	5	1		
9	20.55	NDIS	-	Nitzschia dissipata(Kützing)Grunow var.dissipata	*	4.5	3		
8	13.70	NFON	-	Nitzschia fonticola Grunow in Cleve et Möller	*	3.5	1		
8	13.70	LMUT	-	Luticola mutica (Kützing) D.G. Mann	*	2	2		
5	11.42	CPL	-	Cocconeis placentula Ehrenberg var.lineata (Ehr.)Van Heurck	*	4	1		
4	9.13	CAFF	-	Cymbella affinis Kützing var.affinis	*	4	2		
4	9.13	GPUM	-	Gomphonema pumilum (Grunow) Reichardt & Lange-Bertalot	*	4.5	1		
2	4.57	NLIN	-	Nitzschia linearis(Agardh) W.M.Smith var.linearis	*	3	2		
2	4.57	DTEN	-	Denticula tenuis Kützing	*	5	3		
2	4.57	MVAR	-	Melosira varians Agardh	*	4	1		
2	4.57	FVUL	-	Frustulia vulgaris (Thwaites) De Toni	*	4	3		
2	4.57	GGLI	GPGL	Gomphonema grovei M.Schmidt var.lingulatum (Hustedt) Lange-Bertalot	*	2	3		
2	4.57	LGOE	-	Luticola goeppertiana (Bleisch in Rabenhorst) D.G. Mann	*	2	2		
1	2.28	GNOD	GSCI	Gyrosigma nodiferum (Grunow) Reimer	*	4	3		
1	2.28	FCON	SCON	Fragilaria construens (Ehr.) Grunow f.construens (Staurosira)	*	4	1		
1	2.28	NCPR	-	Navicula capitatoradiata Germain	*	3	2		
1	2.28	NCAP	HCAP	Navicula capitata Ehrenberg (=Hippodonta)	*	4	1		
1	2.28	CCMP	-	Cymbella compacta Ostrup	*	5	3		
1	2.28	CAEX	-	Cymbella excisa Kützing var. excisa	*	4	2		
1	2.28	NRAD	-	Navicula radiosa Kützing	*	5	2		
1	2.28	GPSA	-	Gomphonema pseudoaugur Lange-Bertalot	*	3	1		
1	2.28	ADEL	PTDE	Achnanthes delicatula (Kütz.) Grun. ssp.delicatula Grunow in Cl. & Grun	*	3	3		
0		CMEN	-	Cyclotella meneghiniana Kützing	*	2	1		
0		NLAN	-	Navicula lanceolata (Agardh) Ehrenberg	*	3.8	1		
IDSE/5 3.18									
degradation moderate									
organic pollution moderate									
anthropogenic eutrophication low									

IDSE/5 3.18

degradation moderate

organic pollution moderate

anthropogenic eutrophication low

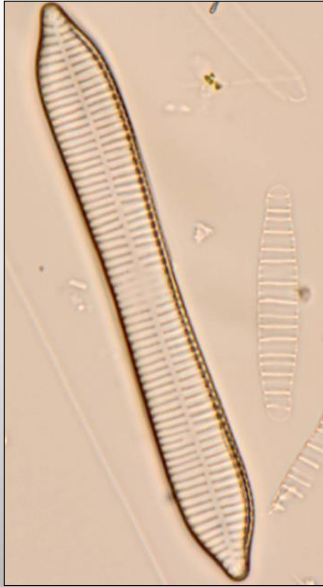
IPS	SLA	DESCY	IDAP	GENRE	CEE	SHE	WAT	
9.3	10.7	11.0	9.4	9.5	10.1	11.8	15.3	
TDI	IBD	DI-CH	EPI-D	IDP	LOBO	SID	TID	IDSE/5
78.9	12.3	8.5	11.2	9.3	13.9	11.0	5.3	3.18

QUALITY NOTES / 20



HER 02 – Specie caratteristiche

Ulnaria ulna

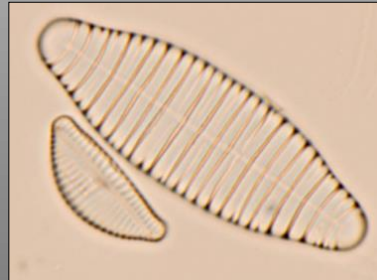


Ulnaria ulna (teratological form)

Diatoma vulgare

+

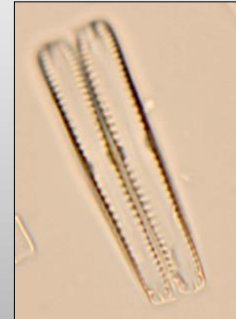
Encyonema ventricosum



Achnanthisdium biasoletianum



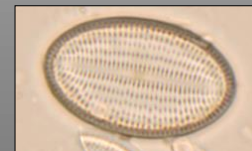
Achnanthisdium minutissimum



Gomphonema pumilum



Diatoma hyemale



Cocconeis placentula var. *euglypta*

10 μ m



Fragilaria arcus

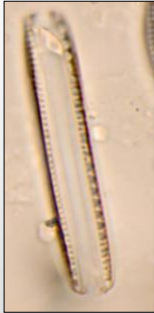
HER 06 – Specie caratteristiche



Denticula tenuis



Amphora pediculus



Nitzschia amphibia



Encyonema silesiacum



Rhoicosphenia abbreviata

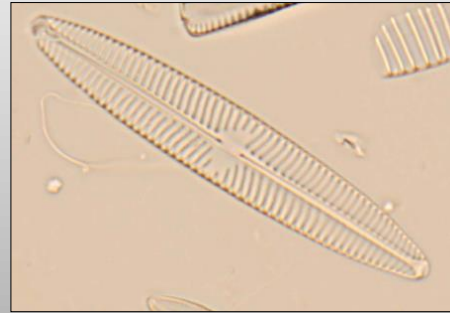


Reimeria uniseriata

10 µm



Gomphonema olivaceum



Navicula tripunctata



Stauroneis smithii



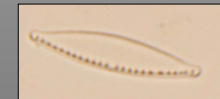
Luticola mutica



Fragilaria pinanta



Navicula capitatoradiata



Nitzschia fonticola



Fragilaria fasciculata

Osservazioni

Le diverse pressioni hanno differenti impatti sulle comunità diatomiche:

se consideriamo l' HER 02 le pressioni a carattere idromorfologico creano difficoltà nel campionamento perchè c'è il rischio di non trovare acqua o di avere troppa torbidità. Se l'acqua è presente in genere la comunità ritrovata è quella tipica dei torrenti montani;

se consideriamo l' HER 06 le pressioni antropiche quali l'agricoltura e l'acquacoltura creano gravi problemi di eutrofizzazione delle acque e questo è evidenziato dalla presenza di specie tolleranti la trofia.

In generale le specie più abbondanti ritrovate sono *Achnanthidium minutissimum* (Kütz.) Czarn., *Achnanthidium biasolettianum* (Grunow in Cleve & Grunow) Lange-Bertalot, *Amphora pediculus* (Kützing) Grunow and *Gomphonema pumilum* (Grunow) Reichardt in Lange-Bertalot. Molto frequenti sono *Encyonema ventricosum* (Agardh) Grunow, *Gomphonema tergestinum* Fricke, *Cocconeis placentula* Ehrenberg var. *euglypta* (Ehr.) Grunow

Problematiche : identificazione

- Differenze biogeografiche (*Achanthidium minutissimum* complex, varietà della specie *Cocconeis palcentula*, *Gomphonema* complex e *Fragilaria capucina*)
- Differenti scuole tassonomiche (nuovi generi e nuove specie)
- Forme teratologiche
- Sinonimi



Problematiche : valori di riferimento

- nell'ambito delle attività di monitoraggio è in corso l'identificazione di siti di riferimento sulla quale basare eventuali proposte di nuovi riferimenti per le macrocategorie dell'ICMi.
- si sono riscontrate difficoltà di interpretazione per le stazioni campionate sui supporti artificiali, in quanto il sistema di campionamento non ha riferimenti storici e quindi si deve capire se le comunità riscontrate ripercchino effettivamente in modo corretto l'ecologia della stazione.

Proposte

- giornate di intercalibrazione regionali, nazionali ed europee (es. ring test, workshop su gruppi tassonomici critici) per effettuare una corretta identificazione delle specie in funzione del calcolo degli indici
- standardizzazione dei metodi di campionamento e miglioramento della qualità del dato per poter definire in modo corretto e definitivo i riferimenti per le macrotipologie fluviali individuate a livello nazionale (preparazione dei campioni, problemi di identificazione, conta delle specie etc.)

Grazie per l'attenzione!!

