

**METODICHE DI
CAMPIONAMENTO IN
AMBIENTI LOTICI E LENTICI
DEI PRINCIPALI
BIOINDICATORI**

CAMPIONAMENTI MACROINVERTEBRATI BENTONICI

Scopo del campionamento è quello di ricostruire la composizione e la densità dei popolamenti che colonizzano una determinata sezione del corso d'acqua.

IL CAMPIONE DEVE ESSERE RAPPRESENTATIVO

La distribuzione delle popolazioni è condizionata dal tipo di habitat:

SUBSTRATO: il substrato è uno dei più importanti fattori.

Esso è in relazione alla pendenza del letto fluviale, alla velocità della corrente e alla portata. Inoltre può essere modificato dalle attività umane.

Tab. 1 - *Categorie orientative dei sedimenti per stime sul campo.*

TIPO	DIMENSIONI O CARATTERISTICHE
<p>COMPONENTI INORGANICI</p> <p>Letto roccioso o roccia solida</p> <p>Massi</p> <p>Ciottoli</p> <p>Ghiaia</p> <p>Sabbia</p> <p>Limo</p> <p>Argilla</p>	<p>oltre 265 mm</p> <p>da 64 a 265 mm</p> <p>da 2 a 64 mm</p> <p>da 0,06 a 2 mm; tessitura granulosa quando viene sfregata tra le dita</p> <p>da 0,004 a 0,06 mm</p> <p>inferiore a 0,004 mm; liscia tra le dita</p>
<p>COMPONENTI ORGANICI</p> <p>Detrito</p> <p>Frammenti fibrosi</p> <p>Frammenti polposi</p> <p>Materia organica decomposta</p>	<p>accumuli vegetali, rametti e altro materiale grossolano indecomposto</p> <p>resti di piante parzialmente decomposte; si distinguono facilmente le parti della pianta</p> <p>resti di piante finemente sminuzzate; non si distinguono più le parti della pianta; variano in colore dal verde al bruno; variano grandemente in consistenza; spesso sono semifluidi</p> <p>materia organica scura, finemente suddivisa; completamente decomposta</p>

PROFONDITA' DELL'ACQUA: questo parametro influenza in modo indiretto la distribuzione dei macroinvertebrati acquatici. Essa condiziona la possibilità di utilizzo della luce da parte degli organismi fotosintetici, la temperatura dell'acqua, la stratificazione dei depositi di fondo, la chimica delle acque (O₂).

TURBOLENZA, VELOCITA' DI CORRENTE E PORTATE: Influenza soprattutto le comunità in ambienti lotici. Importante è la valutazione di questo parametro nel periodo del campionamento e nel periodo antecedente.

TEMPERATURA DELL'ACQUA: Ha un effetto complesso nei confronti delle comunità.

L'effetto più semplice è quello di condizionare la distribuzione delle popolazioni delle diverse specie in relazione al loro spettro di tolleranza.

Esercita un effetto sulla solubilità di O₂. Molte specie di macroinvertebrati tollerano scarse concentrazioni di O₂ a temperature basse piuttosto che elevate. Nei fiumi la temperatura subisce variazioni rapide, anche nell'arco della giornata. Per gli organismi riveste un ruolo importante la registrata temperatura massima nel periodo più caldo.

La temperatura agisce poi sulla viscosità dell'acqua e a 23°C l'efficienza di sedimentazione è due volte maggiore che a 0°C.

TORBIDITA', COLORE E SOLIDI SOSPESI: Le normali variazioni del carico solido trasportato dell'acqua nei periodi di piena e di magra non condizionano la distribuzione delle comunità macrobentoniche. Esse sono condizionate dalla presenza di materiale proveniente da attività umane.

Alcuni torrenti ricevono acque ferruginose sotterranee, l'ossidazione dei Sali ferrosi in idrossido ferrico produce un precipitato ocraceo che limita la distribuzione delle popolazioni.

DUREZZA: Questo parametro è in relazione con la concentrazione di calcio e magnesio.

Nelle acque più dure si sviluppa una ricca flora macrofitica e le comunità macrobentoniche sono rappresentate da Crostacei e Molluschi. Nelle acque più dolci si riduce la macroflora e vi sono più ninfe di insetti.

OSSIGENO DISCIOLTO: A causa della bassa solubilità in acqua e della bassa velocità di diffusione è un fattore limitante molto importante.

NUTRIENTI: In condizioni naturali le concentrazioni in Sali tendono ad aumentare da monte a valle. Questo fatto interessa direttamente la produttività primaria e si assiste ad un incremento del grado di trofia.

In ambienti lentici la degradazione dei nutrienti porta alla richiesta di ossigeno e quindi ad un suo calo.

INFORMAZIONI SULLA BIOLOGIA ED ALIMENTAZIONE DEI MACROINVERTEBRATI BENTONICI

Il campionamento volto all'analisi di queste comunità deve venire svolto conoscendo a priori alcune informazioni sulla biologia di questi organismi.

ALIMENTAZIONE: La presenza delle diverse specie è condizionata dalla presenza di cibo idoneo ad esse.

CICLO BIOLOGICO: la cui conoscenza è di particolare interesse per gli Insetti che hanno un'unica generazione per anno essi rinvenengono solo in determinati periodi.

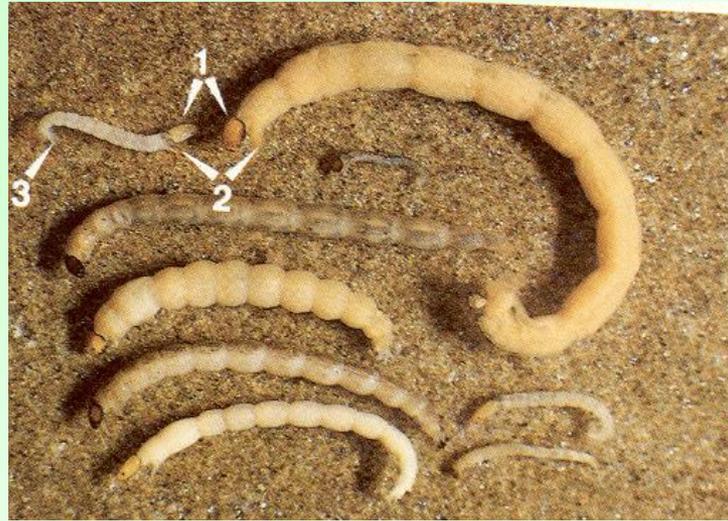
EFEMEROTTERI E PLECOTTERI: non si rinvencono sempre e presentano un solo ciclo annuale.



TRICOTTERI: molte specie sono presenti per lunghi periodi, anche se hanno una sola generazione annua



DITTERI: sono univoltini, ma molte specie di Chironomidi presentano più generazioni per anno.



ALCUNE SPECIE DI IRUDINEI, INSETTI e MOLLUSCHI:
Hanno cicli di durata superiore all'anno.

Nei torrenti di zone temperate è tuttavia possibile considerare questo schema:

AUTUNNO: periodo di schiusa delle uova, per le specie che cresceranno durante l'inverno. Di accrescimento per le specie nate in estate. Si ha un incremento numerico e di biomassa.

INVERNO: accrescimento rallentato e diminuzione nuovi nati.

PRIMAVERA: all'inizio si può avere una riduzione della densità e della biomassa per lo sfarfallamento di alcune specie. Schiusa di uova. Alla fine la densità riprende a salire per la schiusa delle uova di Insetti, Anfipodi ed Isopodi

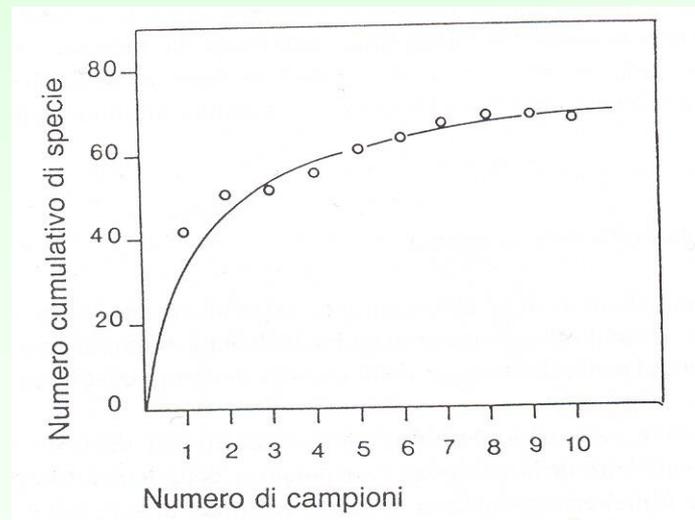
ESTATE: aumento della biomassa per l'accrescimento di specie estive. Mentre le densità sono variabili.

ANALISI

ANALISI QUALITATIVA: questa permette di conoscere la composizione in taxa della comunità (presenza-assenza) senza considerare la densità.

Il numero di campioni richiesto per questo tipo di analisi dipende dalla ricchezza e dispersione della fauna.

Sono necessari più subcampioni raccolti nei vari microhabitat presenti nell'area campionata



ANALISI SEMIQUANTITATIVA: i campioni in questo caso si propongono di fornire, oltre alla ricchezza in specie, anche stime relative dell'abbondanza delle varie specie.

L'abbondanza relative viene espressa come percentuale rispetto al numero totale di organismi raccolti.

Stime di abbondanza relative possono essere ottenute sulla base di campionamenti a tempo definito e comunque a sforzo di campionamento noto.

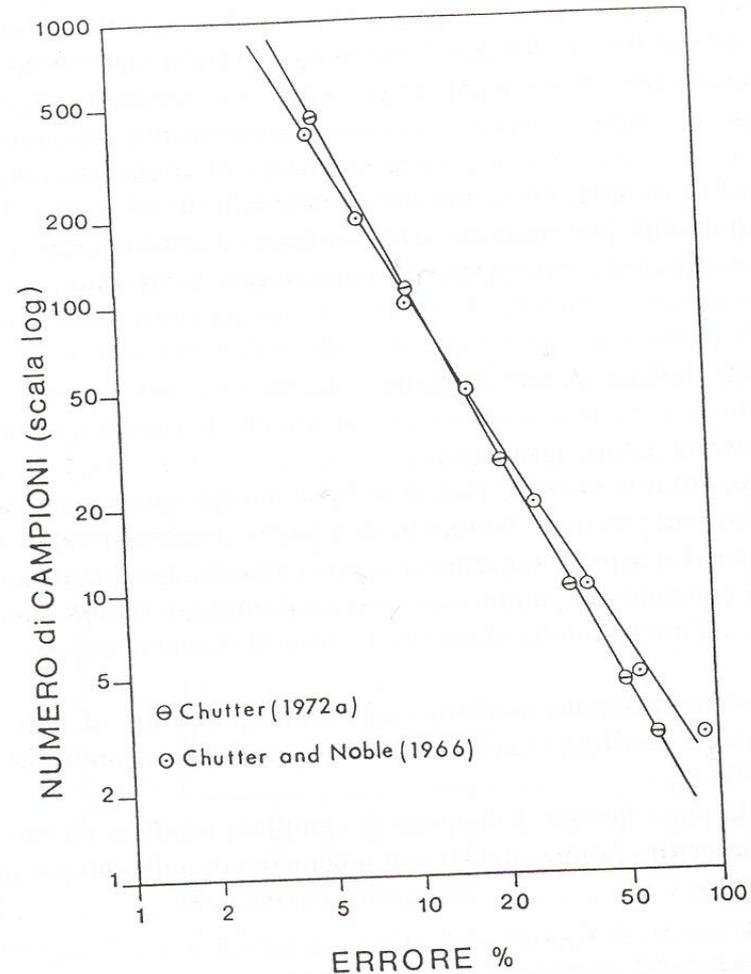
ANALISI QUANTITATIVA: le misure di densità vengono in questo caso rapportate ad una determinata superficie del corso d'acqua o volume d'acqua per gli organismi driftati.

Questo tipo di studio è complesso.

L'affidabilità dipende dalle dimensioni delle popolazioni e dal substrato.

Tanto più piccola è la superficie racchiusa dal campionatore, tanto più grande è il numero di campioni richiesti.

In studi quantitativi occorre definire medie e varianze fra i campioni replicanti per calcolare il numero di repliche necessario. Un punto importante è rappresentato dalla localizzazione delle repliche, che viene fatta scegliendo a random nell'area di studio aree di maggiore omogeneità



Formula per calcolare il numero di campioni replicanti da raccogliere (N) per un determinato errore prefissato (D) con una media di individui per campione (X):

$$N = ((t \times S) / (D \times X))^2$$

t= t di Student per la probabilità richiesta

S= deviazione standard

CAMPIONATORI

Campionatori per substrati molli:

a) Benne = strumenti studiati per penetrare nel substrato in virtù del loro peso e di sistemi di leve che hanno sistemi di chiusura attivati da molle o dalla gravità.

Sono utili per campionare a tutte le profondità in laghi, estuari e fiumi con substrati omogenei che variano tra limo e sabbia. Il numero di specie campionate dipende da:

profondità di penetrazione

angolo di chiusura

perfezione nella chiusura

formazione di un'onda d'urto sul substrato

stabilità di caduta perpendicolare

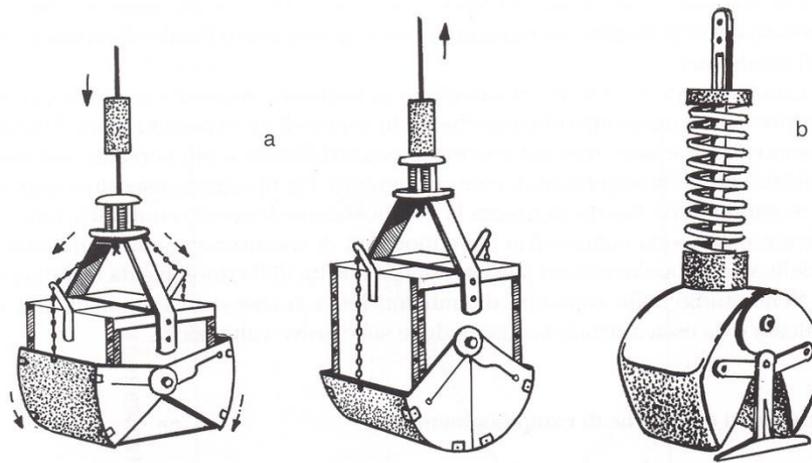


Fig. 23 - Benne con dispositivi di chiusura attivati a molla a) EKMANN in posizione rispettivamente aperta e chiusa per azione di un messaggero calato dall'operatore lungo il cavo dopo che la benna ha raggiunto il fondo. b) MUD SNAPPER (mod. Kahlsico).

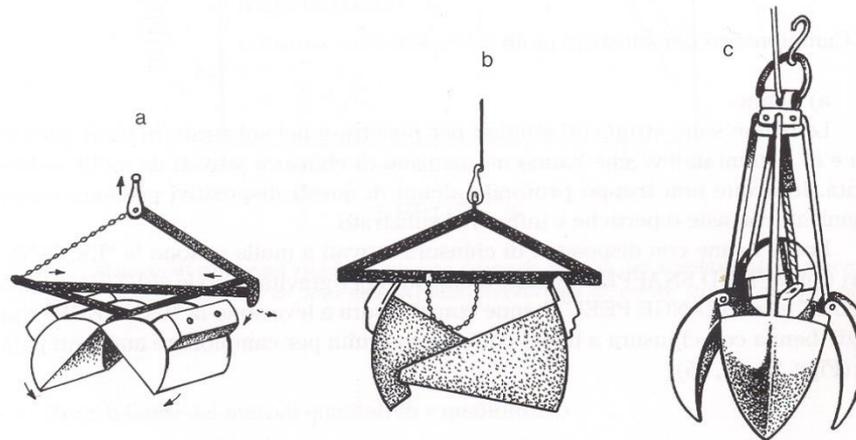


Fig. 24 - Benne a chiusura per gravità: a) PETERSEN con contrappesi sulle ganasce, b) PONAR (mod. R.I.C.), c) ORANGE PEEL (mod. Kahlsico).





b) Carotatori: possono essere utilizzati per campionare a varie profondità, su substrati omogenei e compatti, tali da consentire che la carota sia trattenuta nel cilindro. Sono adatti su sedimenti soffici e omogenei nei laghi. Un difetto è rappresentato dalle ridotte dimensioni del campione e richiedono di più repliche

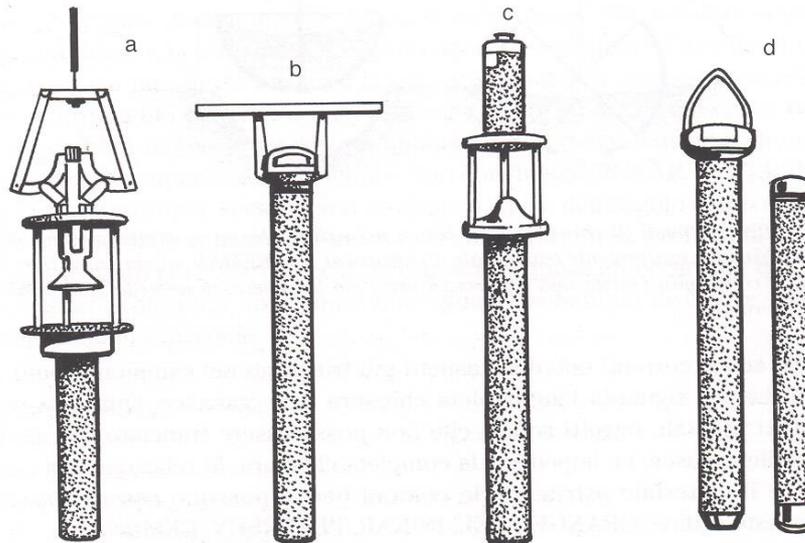


Fig. 27 - Vari tipi di carotatori: a) modello autoregolantesi con tubo acrilico (mod. R.I.C.), b) modello ad uso manuale (per basse profondità), c) modello regolato mediante caduta del messaggero, d) modello a gravità con base rastremata.

Campionatori per substrati duri

a) Dimensioni delle maglie delle reti.

Queste devono essere sufficientemente piccole perché anche gli organismi giovanili di minori dimensioni vengano catturati, ma non troppo fini perché tenderebbero ad ostruirsi causando un rigurgito con perdita di esemplari.

In acque correnti per indagini standard le reti tessute con monofilo di nylon con 21 maglie per centimetro sono le più usate.

B) Campionatori in rete per stime quantitative.

RETE SURBER – dotata di telaio di alluminio che delimita sul davanti una superficie da campionare di 0.1 m². Usata in acque correnti con prof. Non superiore ai 30 cm.

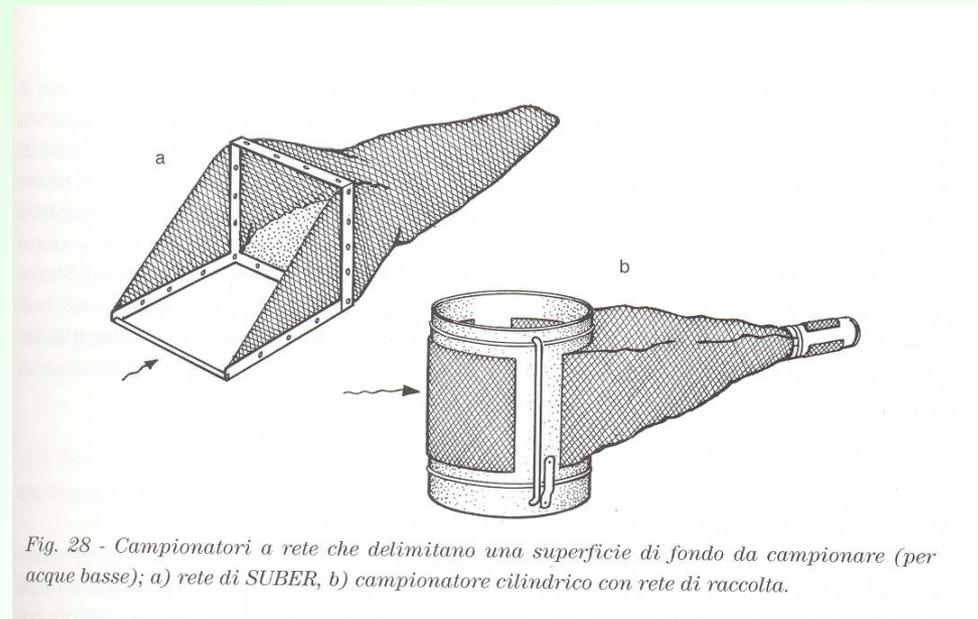


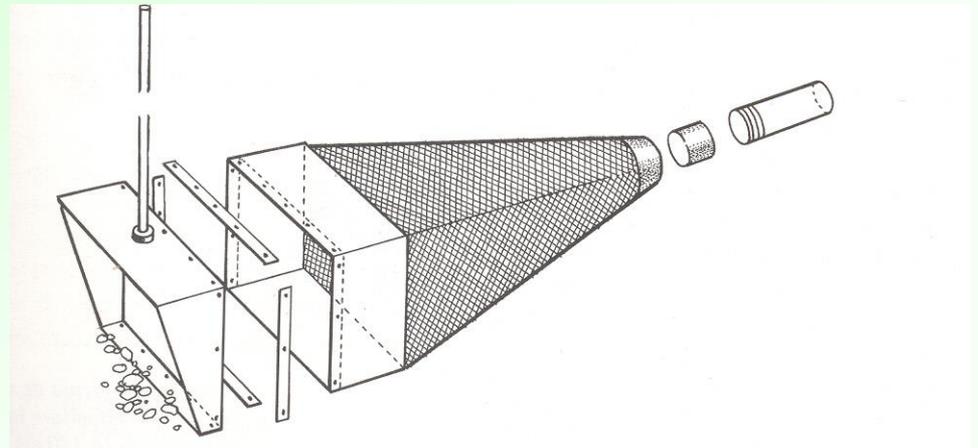
Fig. 28 - Campionatori a rete che delimitano una superficie di fondo da campionare (per acque basse); a) rete di SUBER, b) campionatore cilindrico con rete di raccolta.

Per queste stime la precisione può essere inficiata da:

- 1) Scarsa adesione al substrato
- 2) Riflusso dell'acqua per resistenza della rete alla corrente
- 3) Diligenza nel recuperare gli organismi dal substrato
- 4) Profondità fino a cui il substrato viene rimosso
- 5) Cattura non voluta di organismi driftati

b) Campionatori a rete per stime qualitative.

Il retino immanicato è lo strumento più versatile. C'è un manico collegato ad un telaio su cui è fissata la rete. Il telaio ha forma rettangolare o triangolare: larg. 20-25 cm; alt. 19-22 cm; bordo 5-8 cm



Notiziario dei metodi analitici IRSA CNR, n.1/2007:
“Macroinvertebrati acquatici e Direttiva 2000/60/EC (WFD) - Parte D.
Metodo di campionamento per i fiumi non guadabili”



Fig.10: materiale per i SA: lamelle di faesite grezza, un perno, guarnizioni di stanziatrici di gomma e un golfaro



Fig.11: materiale in via di assemblaggio



Fig.12: assemblaggio substrati con guarnizioni distanziatrici



Fig.13: substrato assemblato

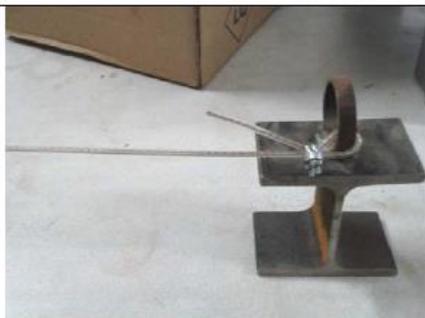




Fig. 16: substrati collegati al cavo ed al relativo contrappeso



Fig. 17: realizzazione di un galleggiante utilizzando due bottiglie da campionamento e un pezzo di bambù



Fig. 18: collegamento dei substrati al galleggiante



Fig. 19: singolo modulo galleggiante finito

SETACCIATURA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

a) setacciatura: Per i campioni raccolti con campionatori a rete questa operazione viene svolta con la rete stessa.

Per campioni raccolti con benne, ecc, si usano dei setacci in quanto il materiale inorganico presente può essere molto cospicuo.

La setacciatura deve essere fatta sul campo.

b) conservazione: i campioni per analisi successive vengono conservati in alcool 70% o formalina 4%.

La formalina tende ad acidificarsi per cui bisogna controllare il pH prima dell'uso e, eventualmente neutralizzarlo con bicarbonato di sodio.

ANALISI DEL MATERIALE RACCOLTO

SEPARAZIONE - SORTING

IDENTIFICAZIONE E CONTEGGI

DETERMINAZIONE DELLA BIOMASSA:

Determinazione del peso fresco – si immergono gli organismi in acqua distillata per 30 minuti, si centrifuga per 1 minuto a 110 giri in coni di rete e si pesa (decimo di mg)

Determinazione peso secco – si essicano gli organismi in stufe a 105 °C fino a peso costante. Per incenerimento completo lo si pone in muffola a 500 °C per 1 ora e si riportano le ceneri a temperatura ambiente in un essicatore. Si pesa e si esprime la biomassa come peso secco meno le ceneri



Condizioni di riferimento

Macroinvertebrati bentonici

Composizione e abbondanza tassonomica che corrispondono totalmente o quasi alle condizioni inalterate.

Rapporto tra taxa sensibili e taxa tolleranti che non presenta variazioni rispetto ai livelli inalterati.

Livello di diversità dei taxa invertebrati che non presenta variazioni rispetto ai livelli inalterati.

Cod HER_Italia	Nome italiano	Totale superficie campionamento (m ²)	Riffle/Pool/ Generico
1	Alpi Occidentali	1	Riffle/G
2	Prealpi_Dolomiti	1	Riffle/G
3	Alpi Centro-Orientali	1	Riffle/G
4	Alpi Meridionali	1	Riffle/G
5	Monferrato	0.5	G
6	Pianura Padana	0.5	G
7	Carso	1	G
8	Appennino Piemontese	1	Pool/G
9	Alpi Mediterranee	1	Riffle/G
10	Appennino Settentrionale	1	Pool/G
11	Toscana	0.5	Pool
12	Costa Adriatica	0.5	Pool/G
13	Appennino Centrale	0.5	Pool/G
14	Roma_Viterbese	0.5	Pool/G
15	Basso Lazio	0.5	Pool
14	Vesuvio	0.5	Pool/G
16	Basilicata_Tavoliere	0.5	Pool
17	Puglia_Gargano	0.5	Pool
18	Appennino Meridionale	0.5	Pool/G
19	Calabria_Nebrodi	0.5	Pool/G
20	Sicilia	0.5	Pool
21	Sardegna	0.5	Pool

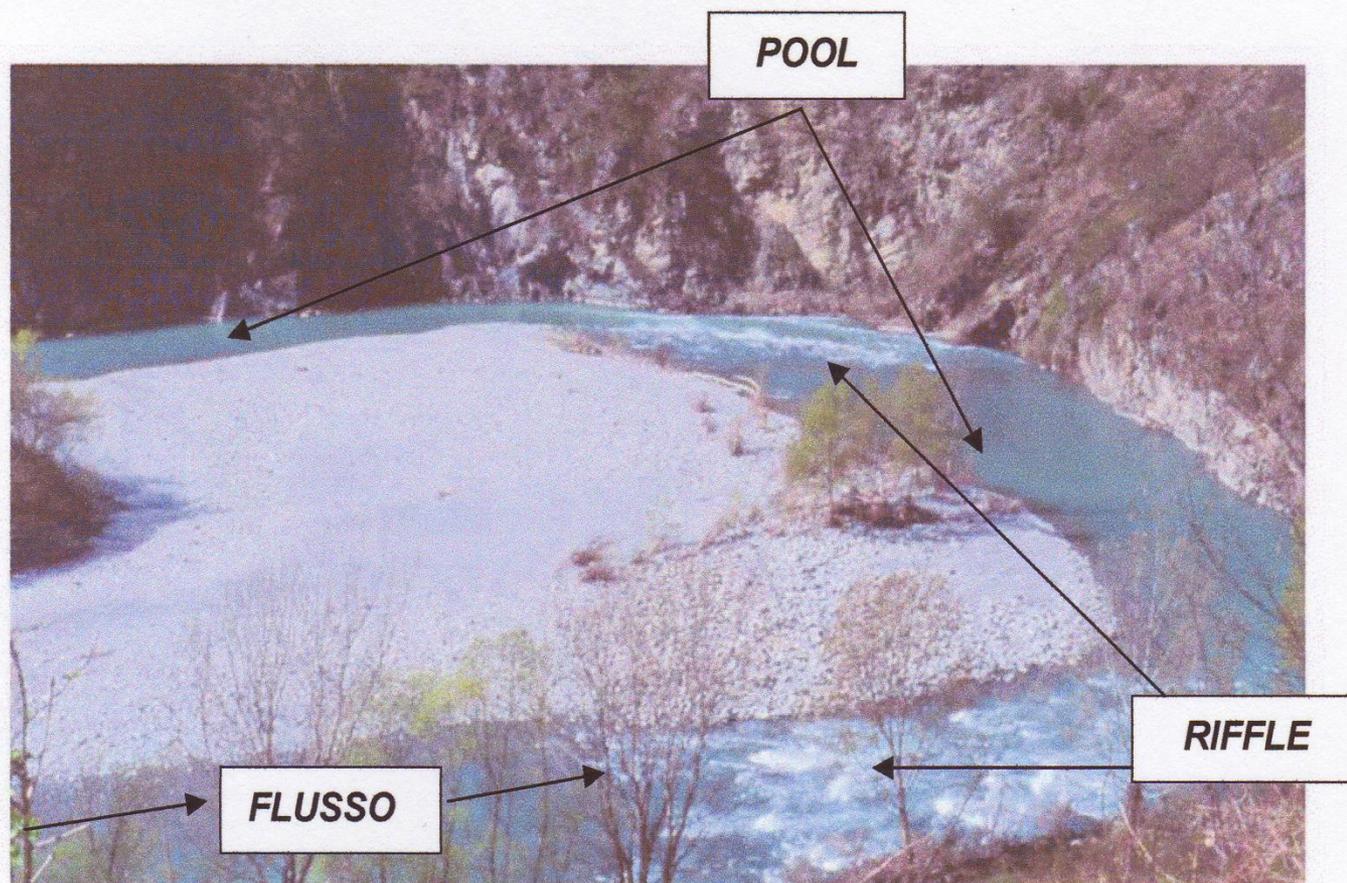
Identificazione dell'idro-ecoregione

A seconda della regione di appartenenza del corpo idrico, varia sia la superficie da esaminare che il tipo di ambiente in cui effettuare i campionamenti

Ove possibile si deve identificare la sequenza Riffle/Pool,

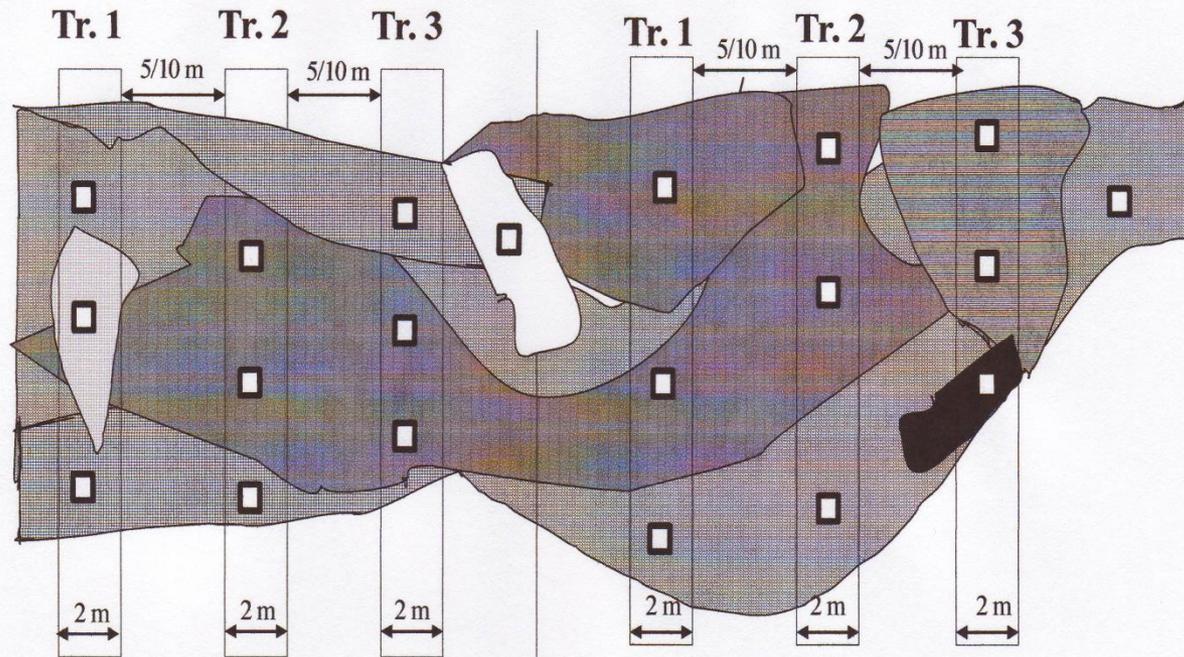
In taluni casi o se la sequenza non è identificabile si parla di tratto Generico

In area alpina – Una singola unità di campionamento prevede l'analisi di 0.1 m². Bisogna tuttavia fare 10 repliche “10 campioni”. Questi campioni vengono raccolti in aree individuate dall'analisi nel tratto da investigare di Riffle se non riconoscibili in Generico.



Tab. 2. Lista e descrizione dei principali microhabitat rinvenibili nei fiumi italiani.

Microhabitat	Codice	Descrizione
MICROHABITAT MINERALI	Limo/Argilla < 6 μ	ARG Substrati limosi, anche con importante componente organica, e/o substrati argillosi composti da materiale di granulometria molto fine che rende le particelle che lo compongono adesive, compattando il sedimento che arriva talvolta a formare una superficie solida.
	Sabbia 6 μ -2 mm	SAB Sabbia fine e grossolana
	Ghiaia 0.2-2 cm	GHI Ghiaia e sabbia grossolana (con predominanza di ghiaia)
	Microlithal* 2-6 cm	MIC Pietre piccole
	Mesolithal* 6-20 cm	MES Pietre di medie dimensioni
	Macrolithal* 20-40 cm	MAC Pietre grossolane della dimensione massima di un pallone da rugby
	Megalithal* > 40 cm	MGL Pietre di grosse dimensioni, massi, substrati rocciosi di cui viene campionata solo la superficie
	Artificiale (e.g. cemento)	ART Cemento e tutti i substrati immessi artificialmente nel fiume
Igropetrico	IGR Sottile strato d'acqua su substrato solido generalmente ricoperto di muschi	
¹ (le dimensioni indicate si riferiscono all'asse intermedio)		
MICROHABITAT BIOTICI	Alghe	AL Principalmente alghe filamentose; anche Diatomee o altre alghe in grado di formare spessi feltri perifitici
	Macrofite sommerse	SO Macrofite acquatiche sommerse. Sono da includere nella categoria anche muschi, Characeae, etc.
	Macrofite emergenti	EM Macrofite emergenti radicate in alveo (e.g. <i>Thypha</i> , <i>Carex</i> , <i>Phragmites</i>)
	Parti vive di piante terrestri (TP)	TP Radici fluitanti di vegetazione riparia (e.g. radici di ontani)
	Xylal (legno)	XY Materiale legnoso grossolano e.g. rami, legno morto, radici (diametro almeno pari a 10 cm)
	CPOM	CP Deposito di materiale organico particellato grossolano (foglie, rametti)
	FPOM	FP Deposito di materiale organico particellato fine
Film batterici	BA Funghi e sapropel (e.g. <i>Sphaerotilus</i> , <i>Leptomitus</i>), solfobatteri (e.g. <i>Beggiatoa</i> , <i>Thiothrix</i>)	



Area di 'Pool'

Area di 'Riffle'



Psammal



Mesolithal



Macrolithal



Megalithal



Parti vive di piante terrestri



CPOM



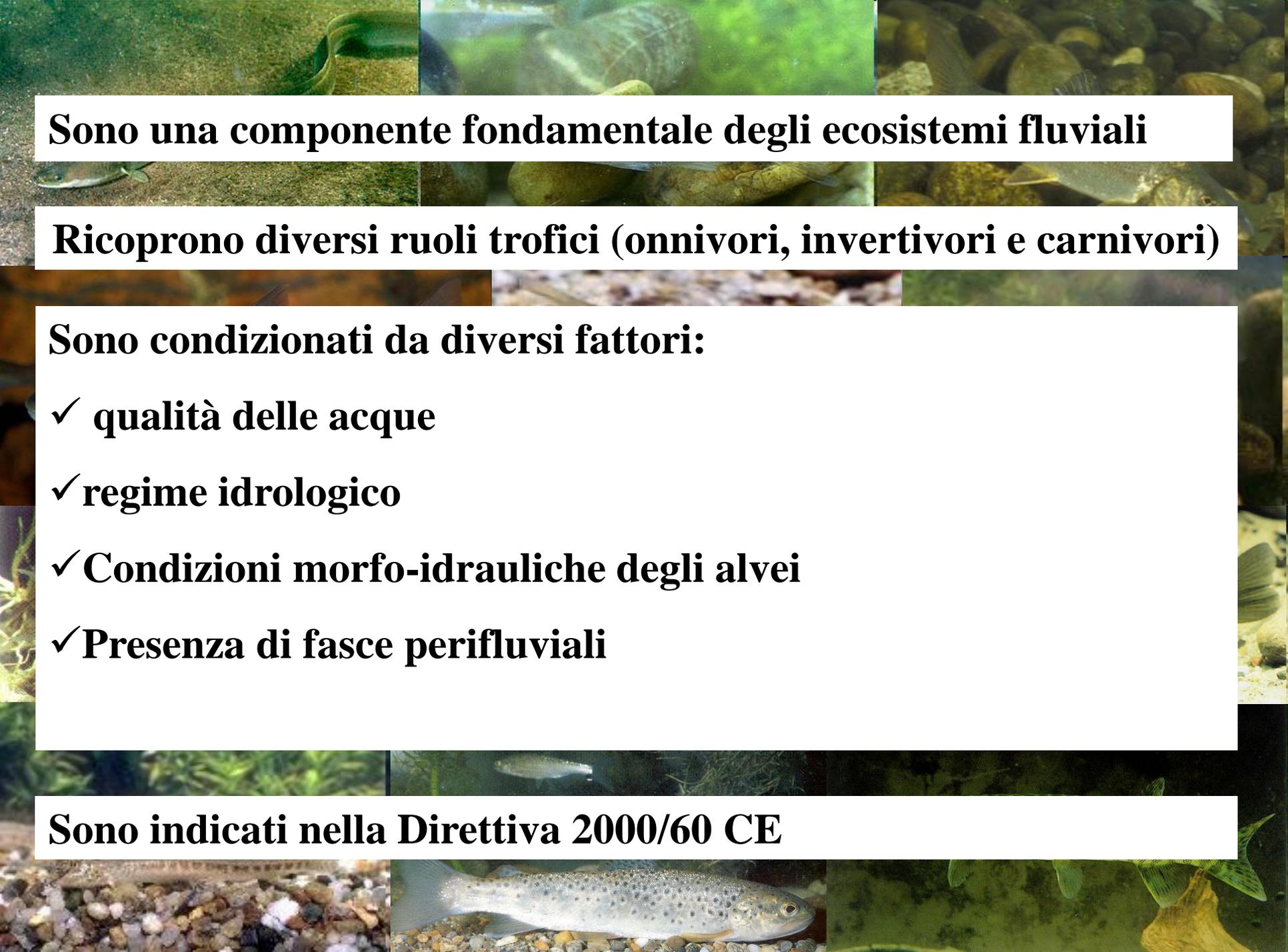
Xylal



replica

CAMPIONAMENTO PESCI





Sono una componente fondamentale degli ecosistemi fluviali

Ricoprono diversi ruoli trofici (onnivori, invertivori e carnivori)

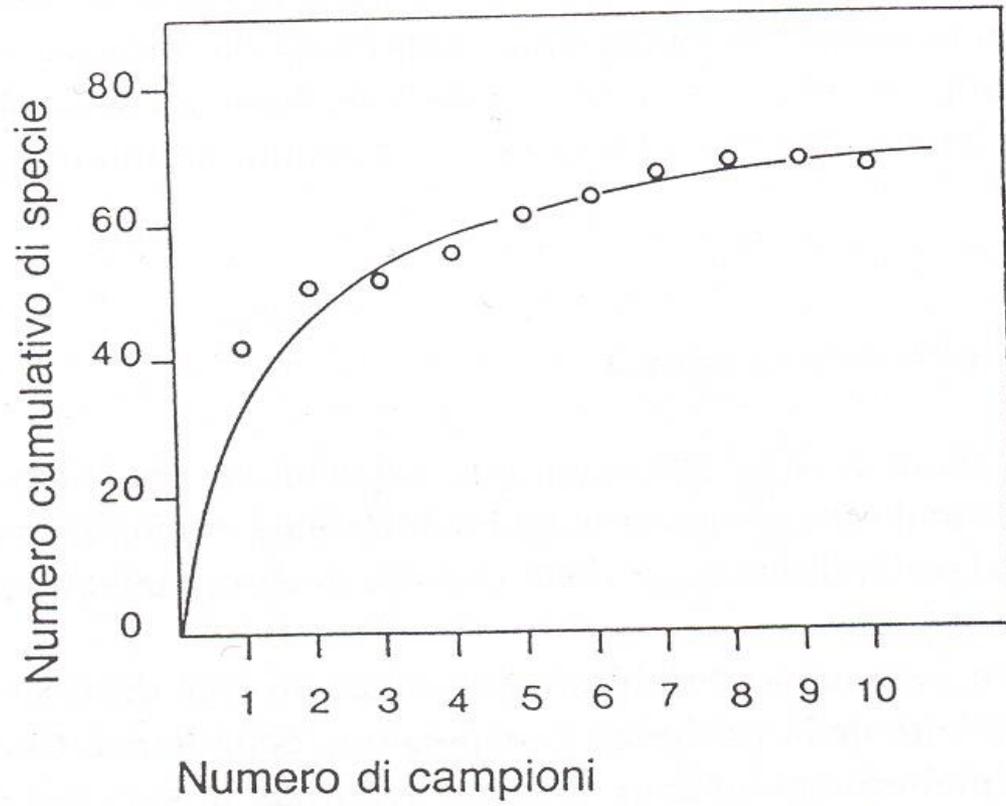
Sono condizionati da diversi fattori:

- ✓ qualità delle acque
- ✓ regime idrologico
- ✓ Condizioni morfo-idrauliche degli alvei
- ✓ Presenza di fasce perifluviali

Sono indicati nella Direttiva 2000/60 CE

Metodo per stime QUALITATIVE

- 1) Viene scelta la stazione di campionamento la quale deve essere rappresentativa del tratto di corso d'acqua analizzato
- 2) Viene chiuso un tratto, della lunghezza approssimativa di 100 m mediante reti situate a monte ed a valle.
- 3) All'interno del tratto vengono condotte le catture, mediante elettrostorditore, fino ad un punto in cui non vengono catturate nuove specie



4) Viene condotta sugli esemplari catturati la determinazione sistematica ed eventualmente stimata la frequenza relativa di ogni singola specie, ovvero la frequenza numerica di esemplari di questa specie sul totale delle catture

Metodo per stime QUANTITATIVE

Uno dei metodi più comunemente usati per stimare il volume di una popolazione animale è quello noto con il nome di “METODO DI MARCATURA E RICATTURA” o “METODO DI PETERSEN”

Un campione adeguato della popolazione viene catturato e opportunamente marcato

La marcatura può essere effettuato mediante sistemi diversi, in relazione alle caratteristiche della specie, al periodo di analisi, all'ambiente.

Per alcune metodiche si fa uso di coloranti, per altri di targhette che vengono applicate o a livello epidermico o sulle pinne

E' necessario per una corretta stima del volume N di una popolazione che vengano soddisfatte alcune assunzioni a priori:

- a) Che N non cambi durante lo studio (popolazione chiusa)
- b) Che la popolazione sia campionata casualmente, sia per quanto riguarda le classi di età, sia per quanto riguarda i sessi, lo stato di salute.

c) Gli animali lasciati liberi dopo la marcatura possano mescolarsi completamente entro la popolazione di origine

d) Gli animali marcati non siano disturbati dalla marcatura stessa e che questa rimanga sufficientemente a lungo, almeno fino a quando è stata prevista la ricattura.

N_1 = numero di animali catturati e marcati

N_2 = numero di animali ricatturati

M = numero di animali marcati negli N_2 ricatturati

$$M : N_2 = N_1 : N \quad \longrightarrow \quad N = (N_1 \times N_2) / M$$

Un' altro metodo usato per stime QUANTITATIVE è il
“REMOVAL TRAPPING”

Se N =numero di organismi in un dato ambiente
e
 p =probabilità di cattura di ciascuno di essi

Il numero di esemplari catturati nella prima prova è:

$$C_1 = pN$$

Nella seconda prova essendo $(1-p)N$ gli animali rimasti, il
numero dei catturati sarà:

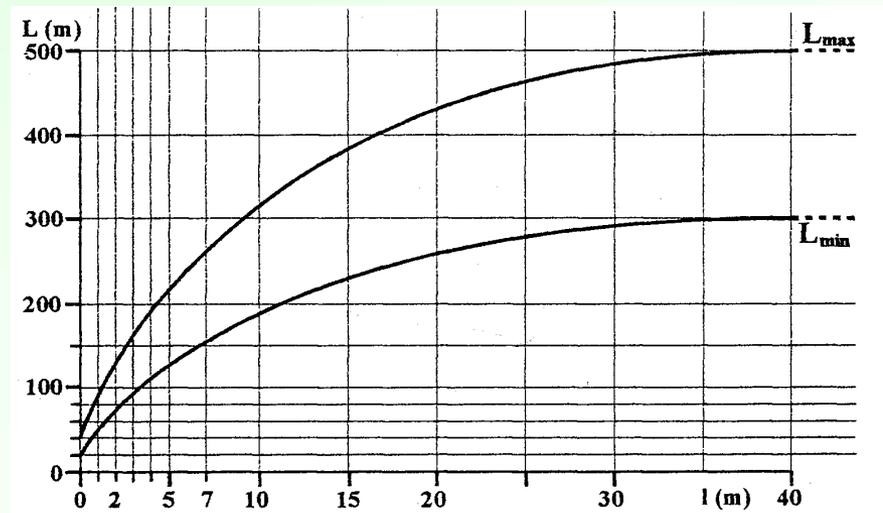
$$C_2 = p(1 - p)N$$

Risolvendo il sistema di equazioni si ottiene infine:

$$p = (C1 - C2) / C1$$

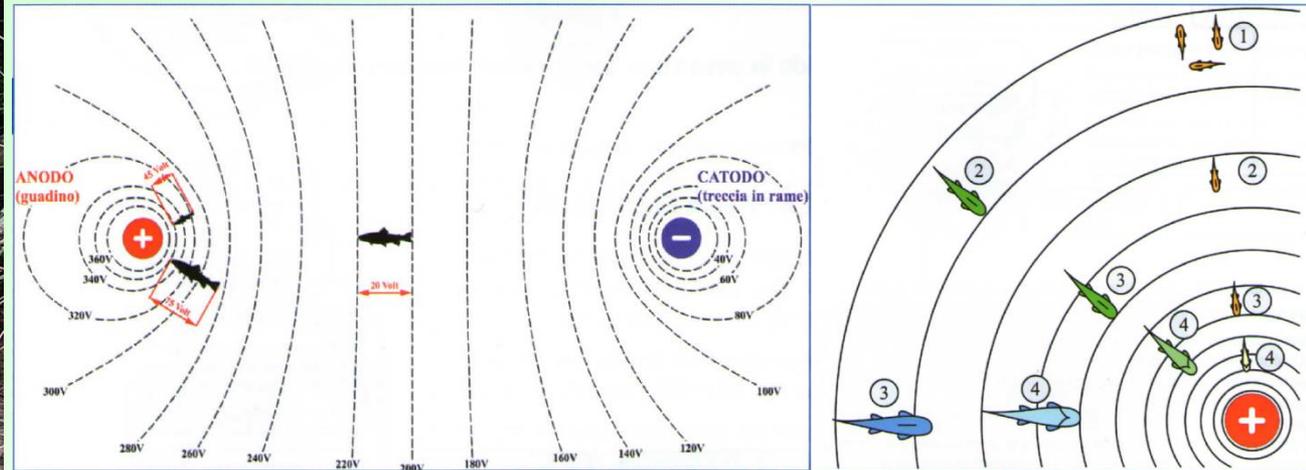
$$n = C1^2 / C1 - C2$$

Ove n è una stima di N



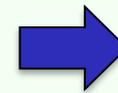
Monitoraggio della fauna ittica

Campionamento mediante elettropesca



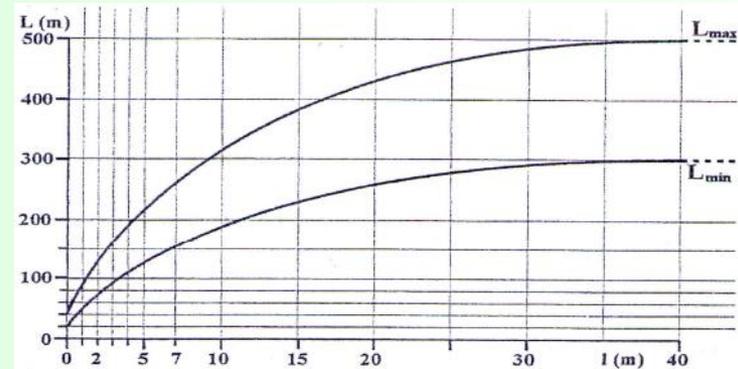
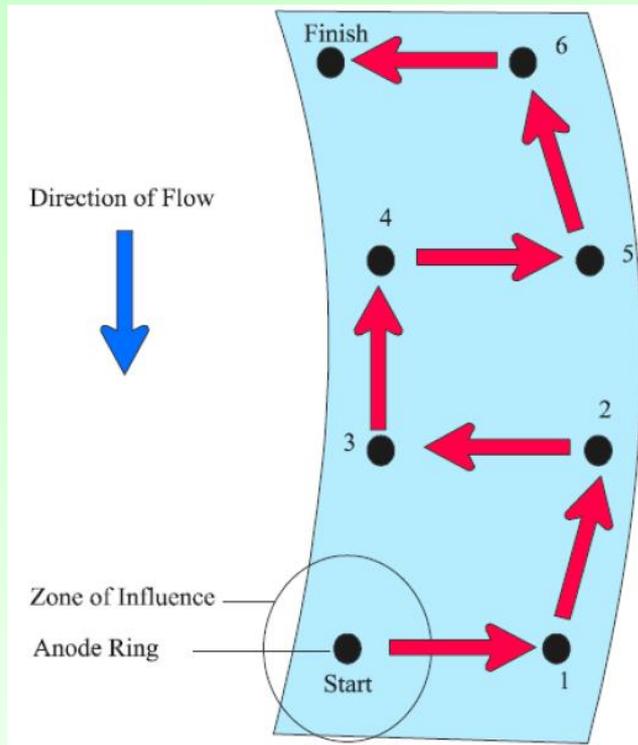
Reazione del pesce alla corrente elettrica

- Fuga
- Attrazione verso l'anodo (galvanotassi)
- Il pesce si paralizza (galvanonarcosi)



CATTURA

Monitoraggio della fauna ittica



- Definizione della lunghezza del tratto in cui si svolgono i campionamenti (tratto quantitativo + tratto qualitativo) in relazione alla larghezza dell'alveo

- Tratto quantitativo suddiviso in incrementi di 25 metri in 25 metri percorso da valle verso monte
- Metodo dei passaggi ripetuti: calcolo della numerosità stimata nel tratto (N)

$$N = \frac{C_1^2}{(C_1 - C_2)}$$

C_1 = numero individui catturati al primo passaggio

C_2 = numero individui catturati al secondo



Monitoraggio della fauna ittica

Prelievo dei dati sugli individui catturati

- Riconoscimento delle specie
- Conteggio degli individui pescati per ciascuna specie
- Misura della lunghezza (cm) e del peso (g) di ciascun individuo
- Prelievo delle scaglie per la determinazione dell'età



Valutazione della struttura di popolazione (sulla base della taglia o delle età), della condizione trofica delle specie (sulla base dei rapporti tra lunghezza e peso) e della presenza di specie alloctone

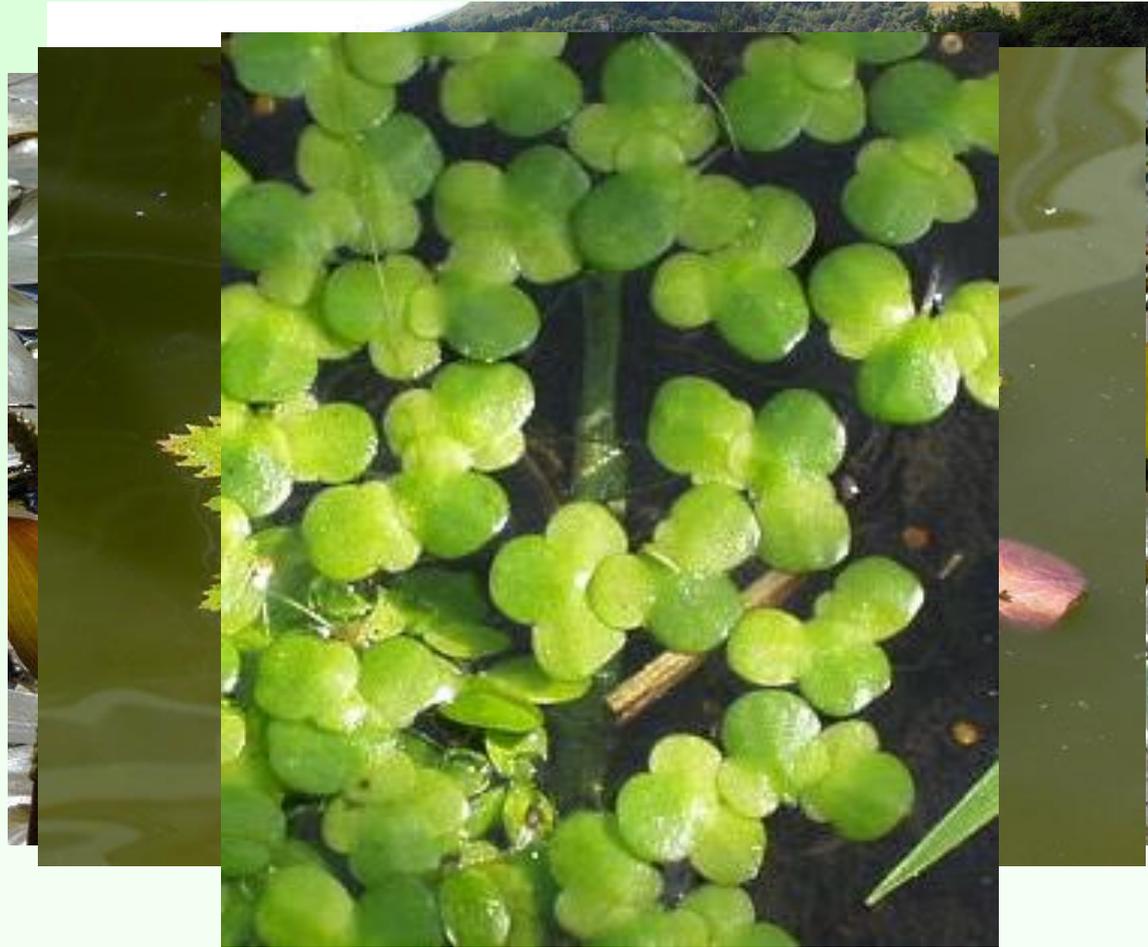


Tra le Idrofite si distingue:

Idrofite
sommerse

Idrofite radicate flottanti

Idrofite non radicate flottanti



ANFIFITE= sono particolari Idrofite che possono colonizzare anche substrati non sempre sommersi . Spesso hanno evidente dimorfismo in relazione alla profondità.



Sparganium spp.

ELOFITE= sono piante che hanno solo la parte basale in acqua, ad esse vengono anche incluse specie che presentano gemme all'interno del fango e geofite ossia erbe perenni con bulbi, tuberi e rizomi.



Iris spp.

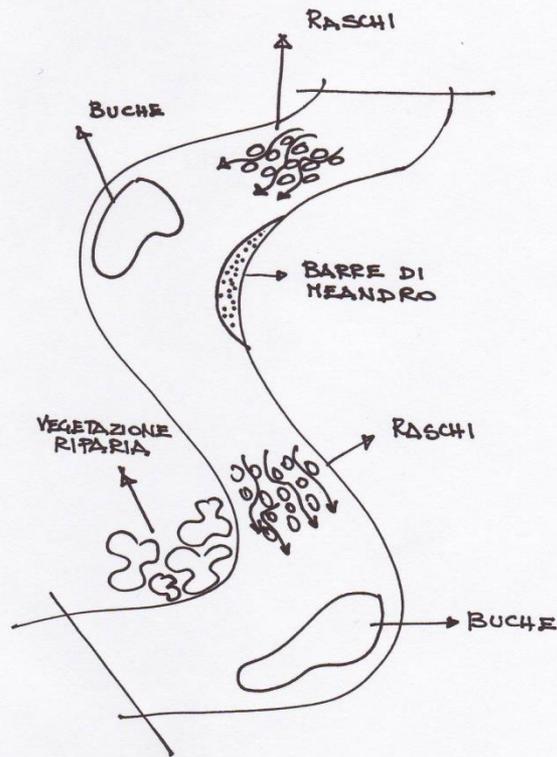
Cyperus spp.

Il campionamento viene eseguito percorrendo un tratto di corso d'acqua della lunghezza di 100 m, percorrendolo in modo da analizzare tutte le diverse tipologie ambientali presenti

Il campionamento condotto per la successiva applicazione di Indici Macrofitici deve essere quali-quantitativo a scala di stazione

COME VIENE SCELTA LA STAZIONE?

La stazione deve essere deve includere un tratto omogeneo che racchiuda tutte le facies idrologiche e biologiche caratteristiche della zona rappresentata da quella stazione.



Raschi= aree rilevate, con flusso divergente a portate elevate, generalmente elevata velocità e turbolenza, substrato grossolano, rischio di prosciugamento a basse portate

Buche= approfondimenti allungati, con sedimenti fini, poste sulla parte esterna delle buche, con flusso convergente alle alte portate

Barre di meandro= zone di sedimentazione adiacenti alle buche

I campionamenti vanno condotti tra l'inizio della primavera e l'autunno 2 volte, generalmente:

Il I° tra Aprile e Giugno

Il II° tra Luglio e Settembre

Il campionamento va condotto se il corso è guadabile percorrendo il fiume e stimando:

1 – la copertura percentuale di macrofite rispetto alla superficie totale della stazione

2 – andando poi a zig zag da sponda a sponda i raccolgono i diversi taxa presenti che se possibile vengono determinati sul campo altrimenti portati in laboratorio. Fanerogame, felci e la gran parte delle briofite può essere tenuta in sacchetti di plastica. Le alghe portate in contenitori in cui vi è acqua di raccolta.

3- stima delle copertura di ogni taxon presente

Copertura totale della comunità a macrofite : 50%



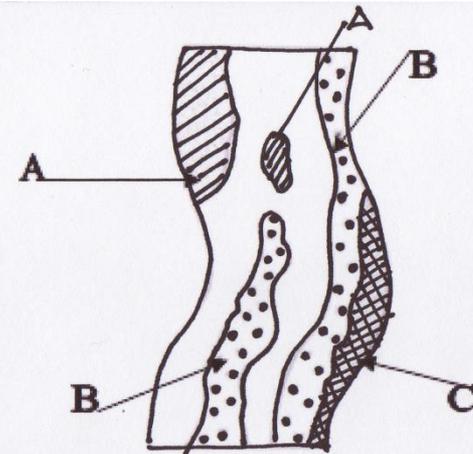
copertura taxa A = 25%



copertura taxa B = 50%



copertura taxa C = 25%



Bisogna a questo punto stabilire i valori di copertura dei singoli Taxa

La copertura macrofitica è a questo punto il 100%

cop. rilevata taxon A : 100 = cop. reale taxon A : cop. totale comunità macrofite

25 : 100 = cop.reale A : 50

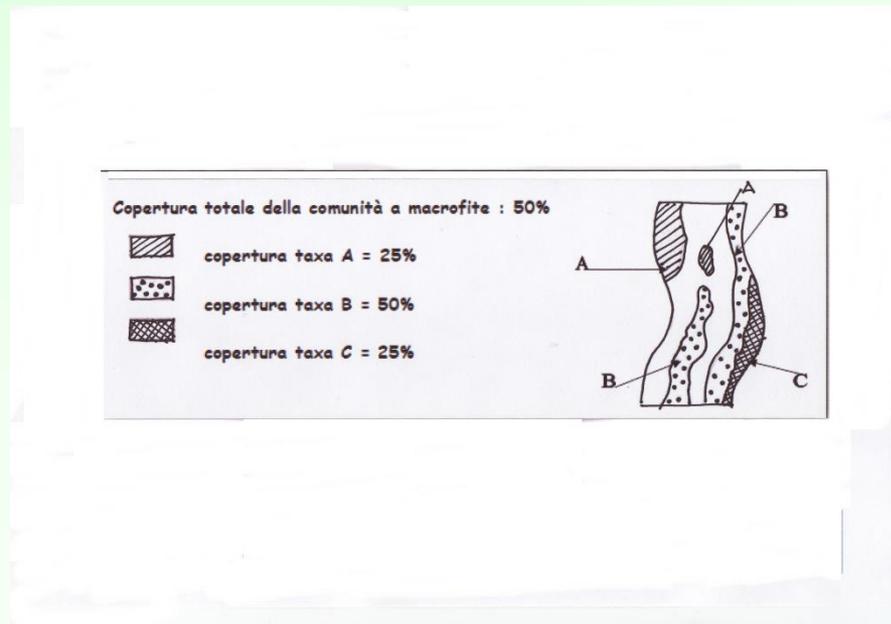
50 : 100 = cop.reale B : 50

25 : 100 = cop.reale C : 50

Cop.reale A= 12.5

Cop.reale B= 25

Cop.reale C= 12,5



CAMPIONAMENTO DELLE MACROFITE ACQUATICHE NEI CORPI IDRICI LACUSTRI (EN 15460:2007; ISPRA, 111/2014)

Campionamento dei **LAGHI NATURALI** interessa differenti categorie di macrofite acquatiche (RADICATE SOMMERSE, RADICATE FLOTTANTI E NON RADICATE FLOTTANTI):

- **FANEROGAME**
- **MUSCHI**
- **FELCI**
- **MACROALGHE SESSILI**

1 CAMPIONAMENTO/ANNO (estivo) - D.M. 260/2010

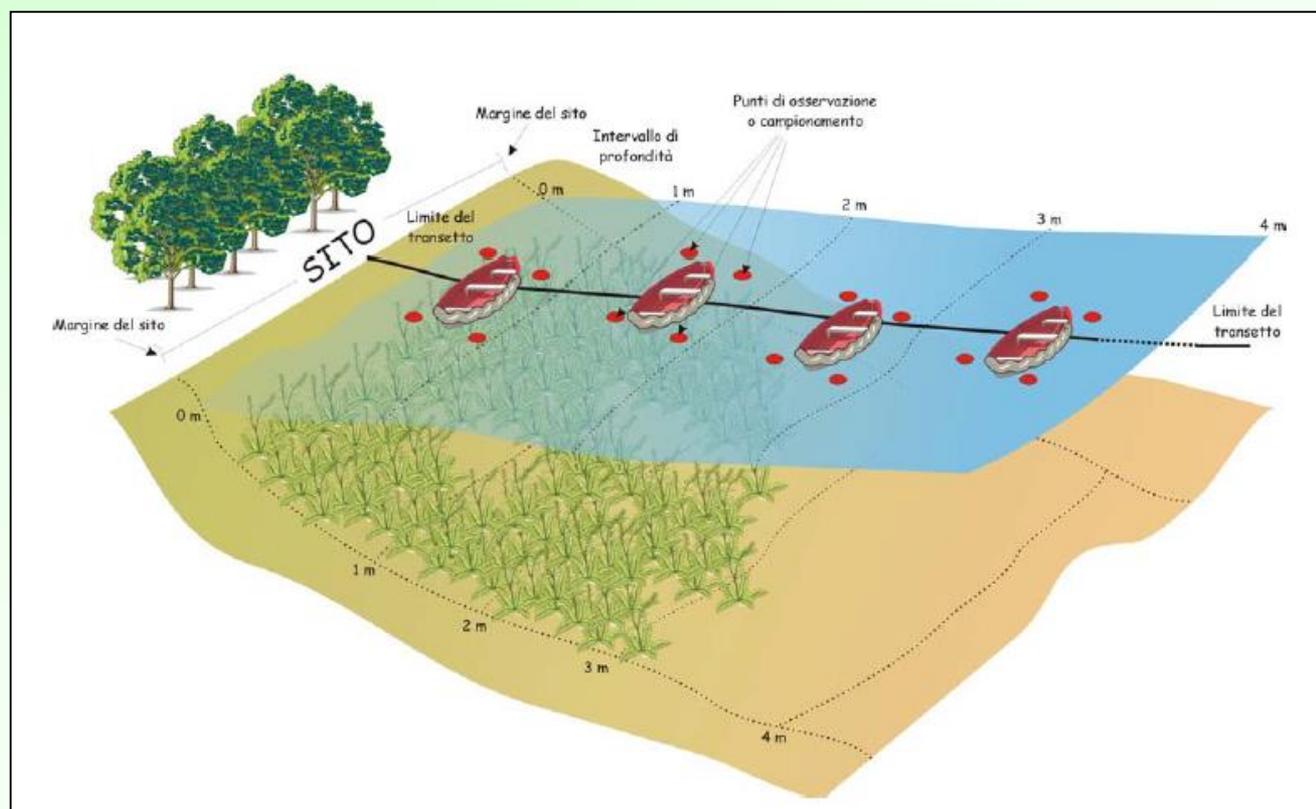
QUATTRO FASI DEL CAMPIONAMENTO:

- I. Indagine presso frequentatori e fruitori del lago/invaso e ricerca bibliografica
- II. Ispezioni per verificare fase I e individuare il **SITO** (margini rilevati con GPS)

Sito: porzione continua di riva, di ampiezza variabile, al cui interno è individuabile una comunità macrofita omogenea in termini di composizione specifica e che si estende fino ad una profondità costante

- III. Descrizione delle caratteristiche del sito (presenza di darsene, moli, porti, uso del suolo, segnalazione dell'asportazione periodica di piante, ...)

IV. In ogni sito va individuato un **TRANSETTO**, in una zona rappresentativa e ortogonale alla riva, e i margini vanno rilevati con GPS



Ispezione del transetto

Intervallo di profondità: porzione di transetto compreso tra la profondità x e la profondità $x+1$ metro entro il quale si effettua l'osservazione e il campionamento. Al suo interno si individuano 4 punti di osservazione o campionamento.

In ogni intervallo di profondità è necessario:

- Misurare la profondità
- Rilevare le coordinate geografiche
- Determinare tipologia del fondale
- Effettuare 4 lanci con un rastrello/rampino (2 a prua e 2 a poppa della barca), segnando i taxa rilevati e la loro abbondanza (scala di Kohler)

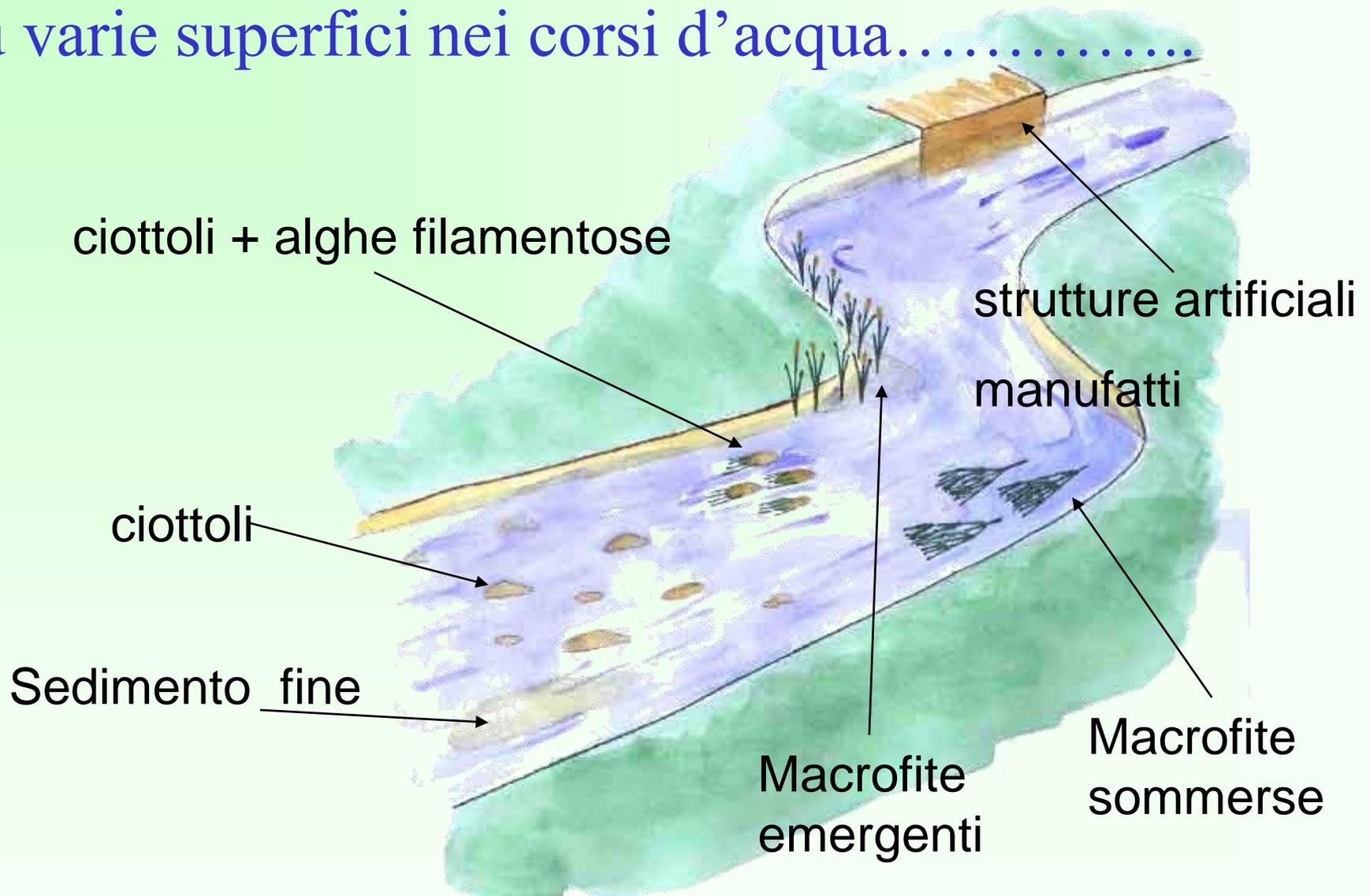
Ispezione viene conclusa quando macrofite non sono più rilevate in due intervalli di profondità consecutivi

IL CAMPIONAMENTO delle DIATOMEE BENTONICHE

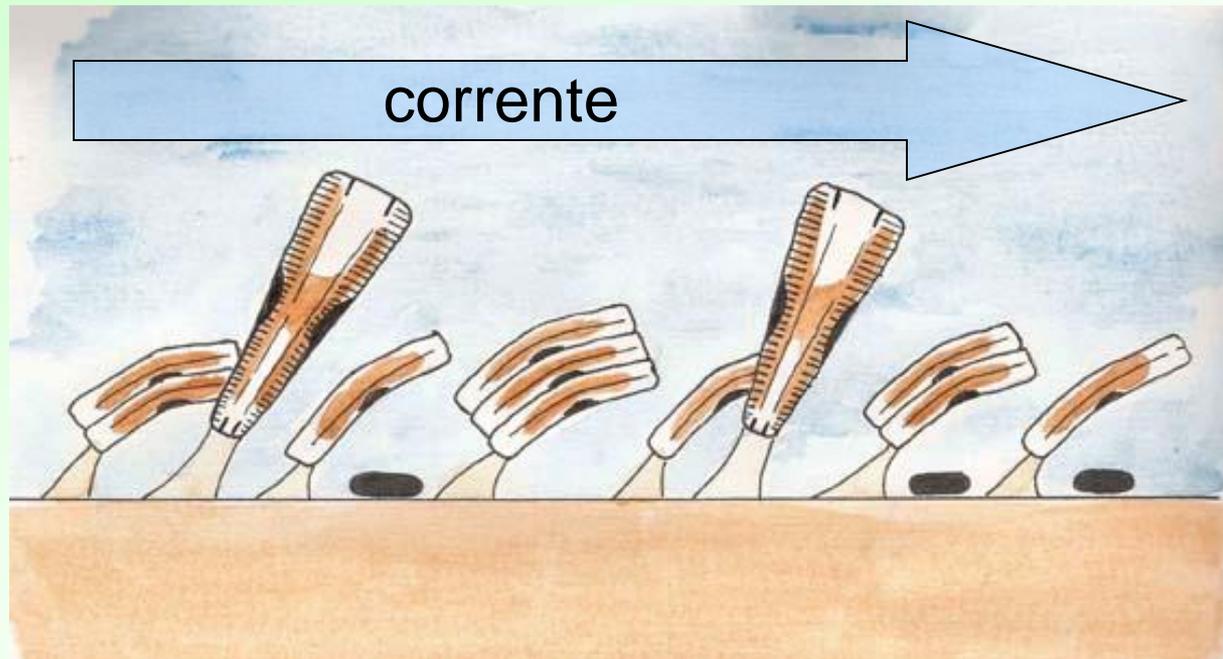
Sulla base di:

- 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).

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

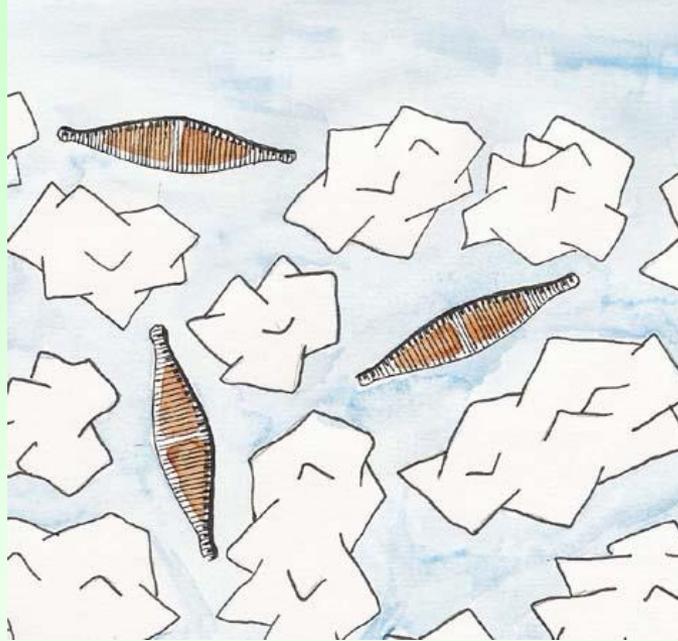


Le differenze nelle modalità di crescita possono portare a comunità diverse a seconda del tipo di substrato

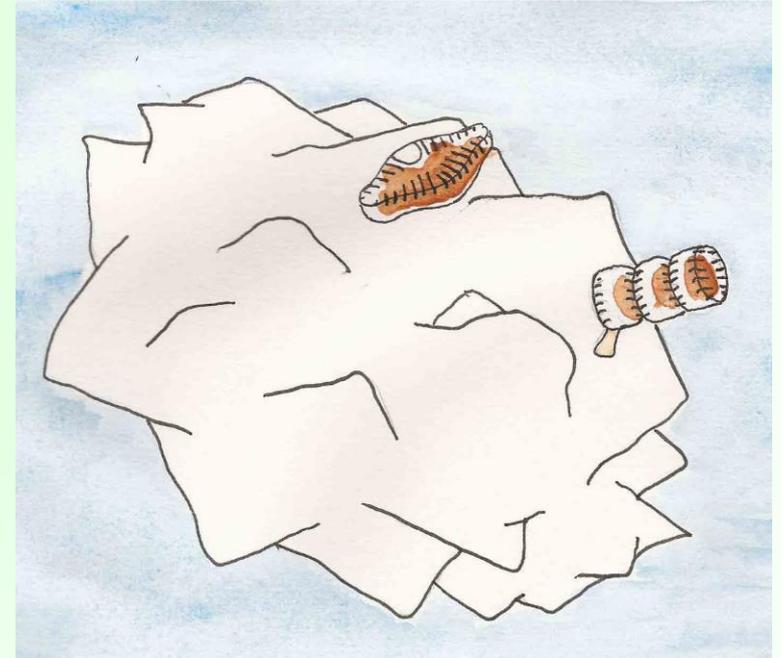


Ad esempio, superfici stabili (ciottoli) favoriscono le specie attaccate come ad es *Achnanthes* e *Gomphonema*

... 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

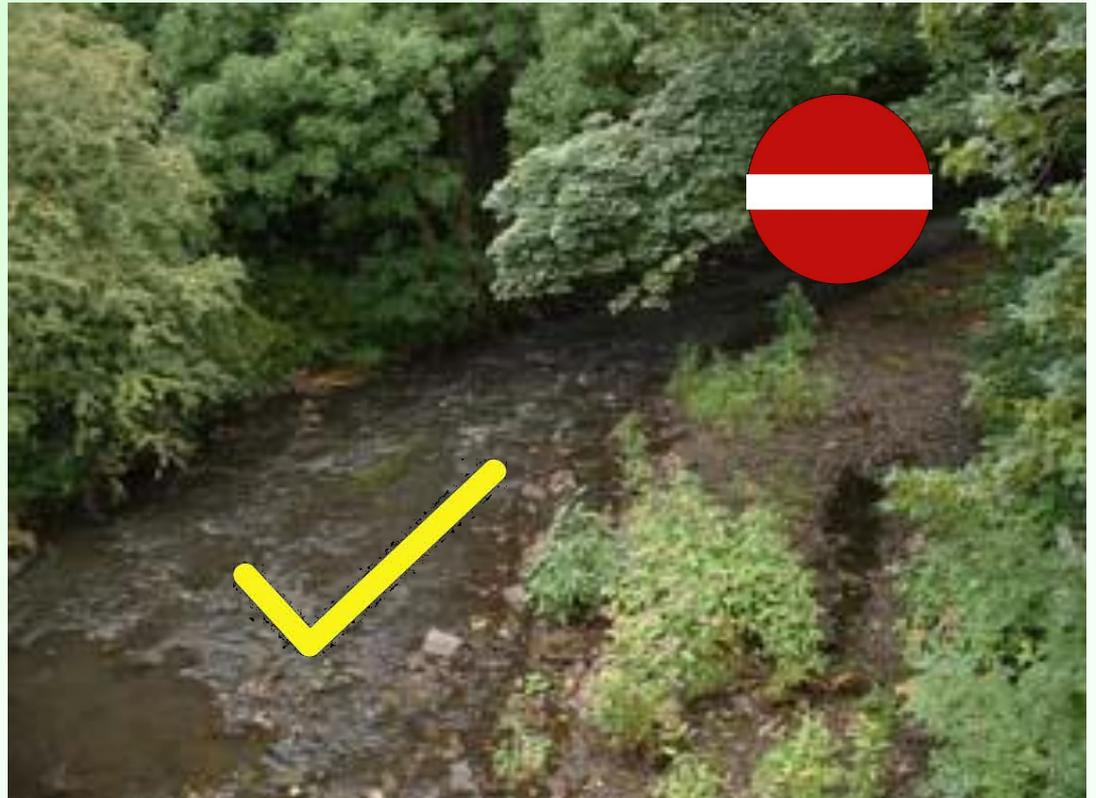
- Campionare nel filone centrale
 - **Non rami laterali o zone di acqua stagnante**
 - Zone con corrente molto lenta (circa < 20 cm/s) dovrebbero essere evitate (detrito)

Profondità

- Campionare nella zona eufotica

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

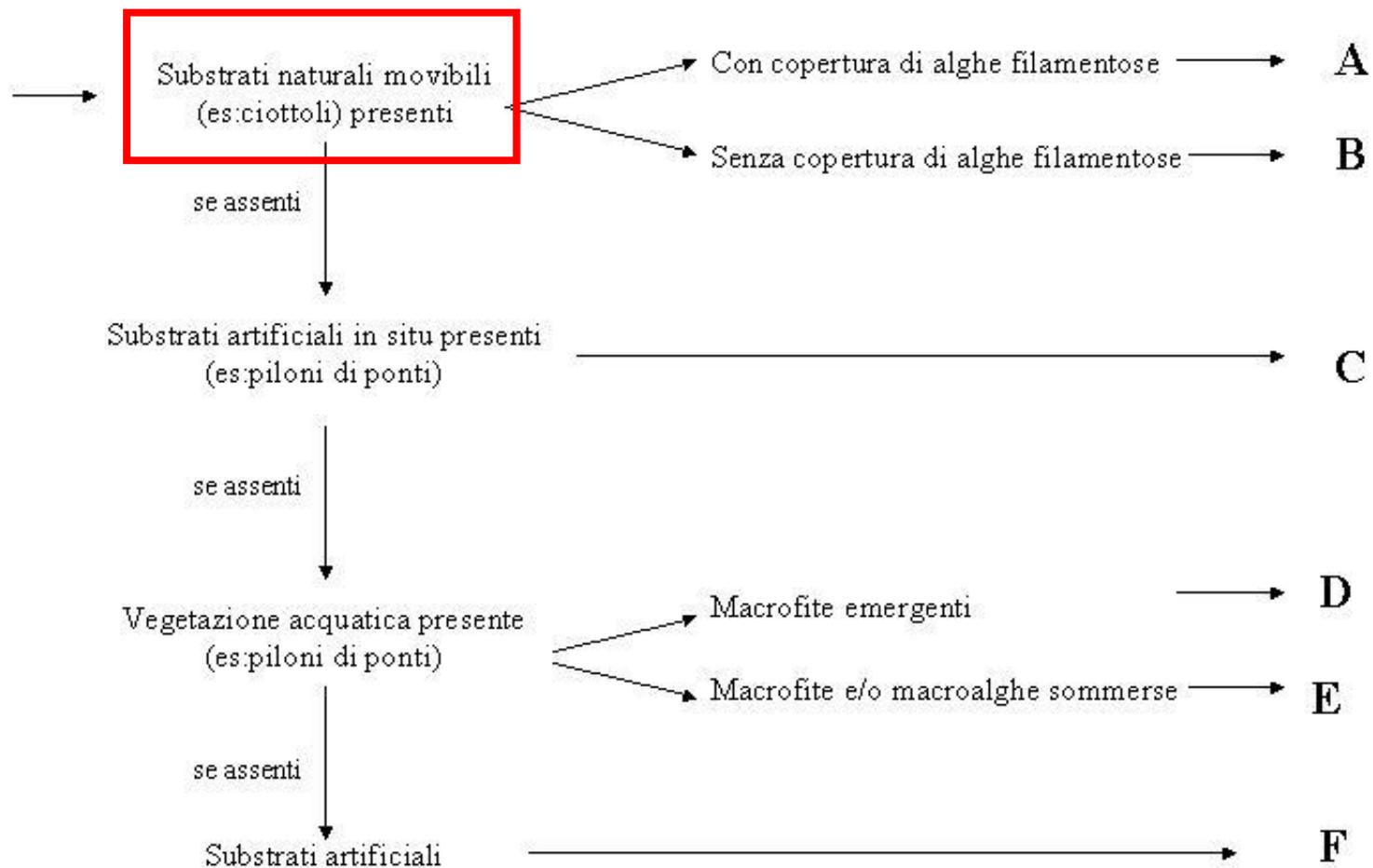


Emerse
o sommerse

...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.

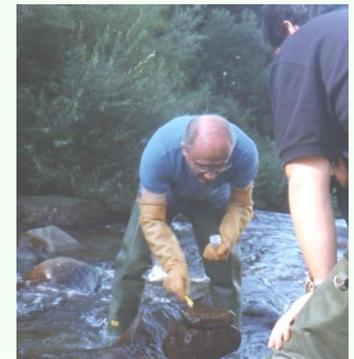


- Sciacquare delicatamente
- Mettere in una vaschetta con circa 50 ml di acqua
- Grattare con spazzolino o coltellino la parte posta in alto dei ciottoli
- Sciacquare nell'acqua della vaschetta
- Mettere il campione in un barattolino



oppure

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

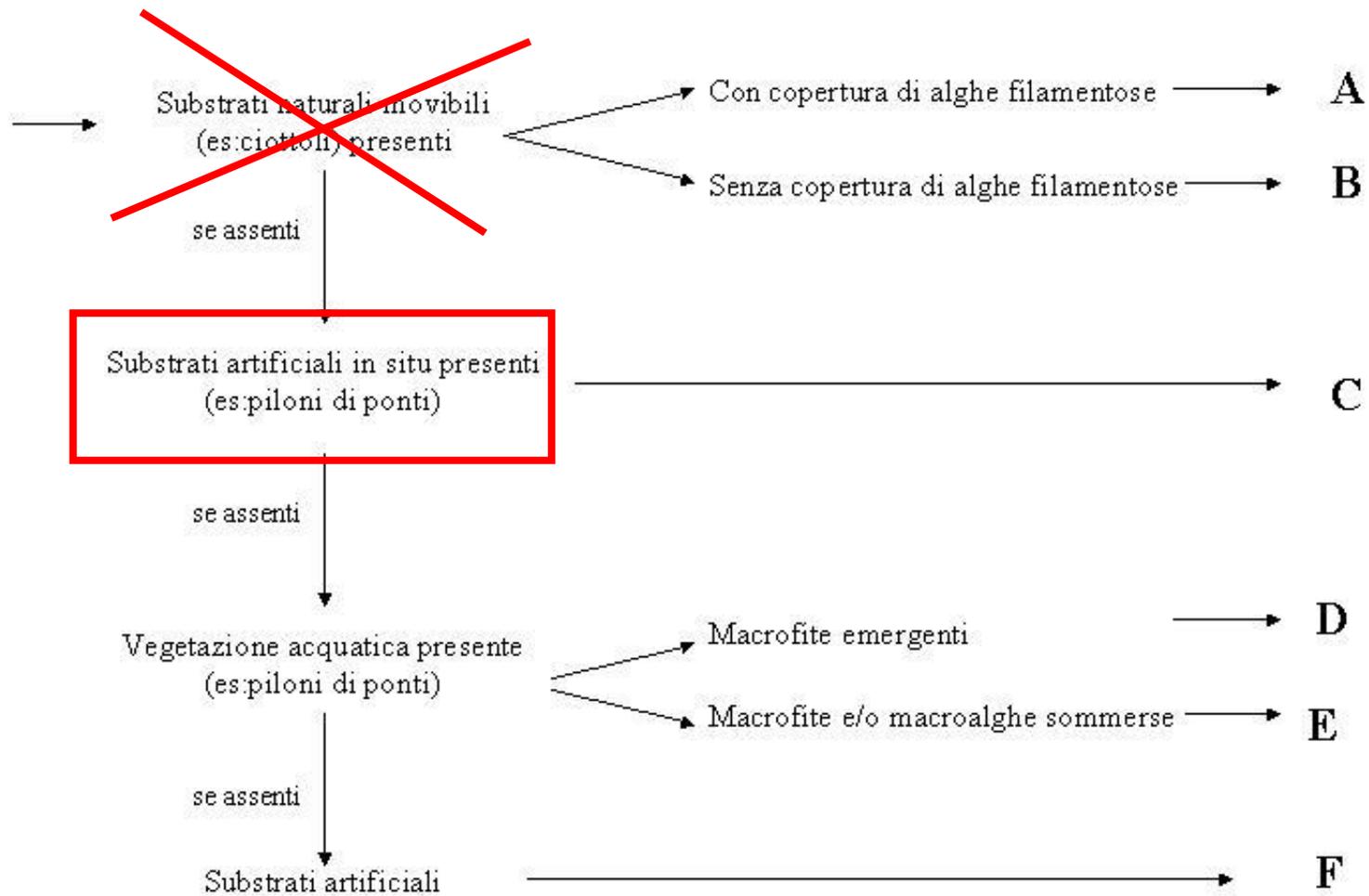


B) Superfici naturali ciottoli con alghe filamentose



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



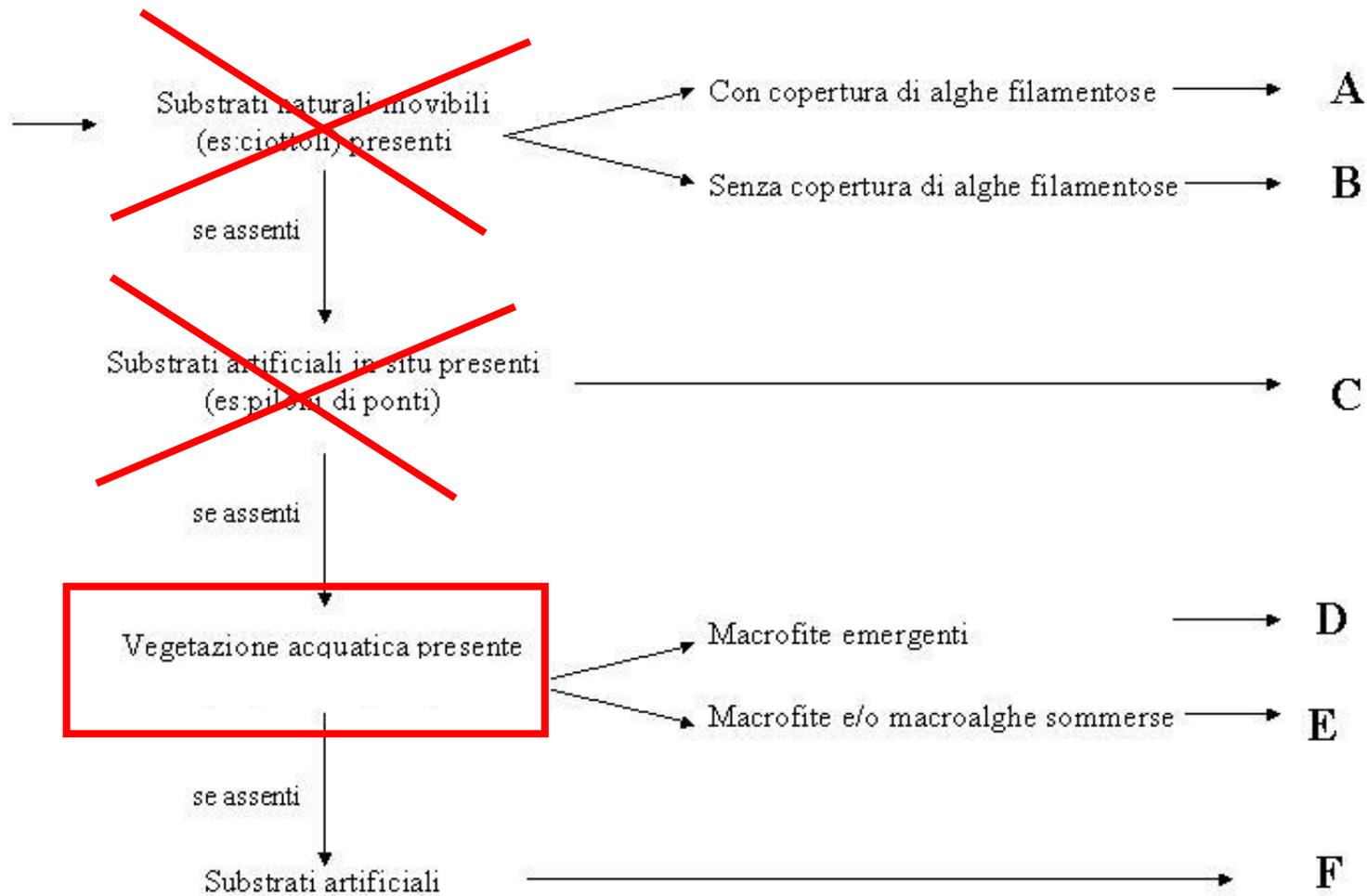


C) Superfici artificiali

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.



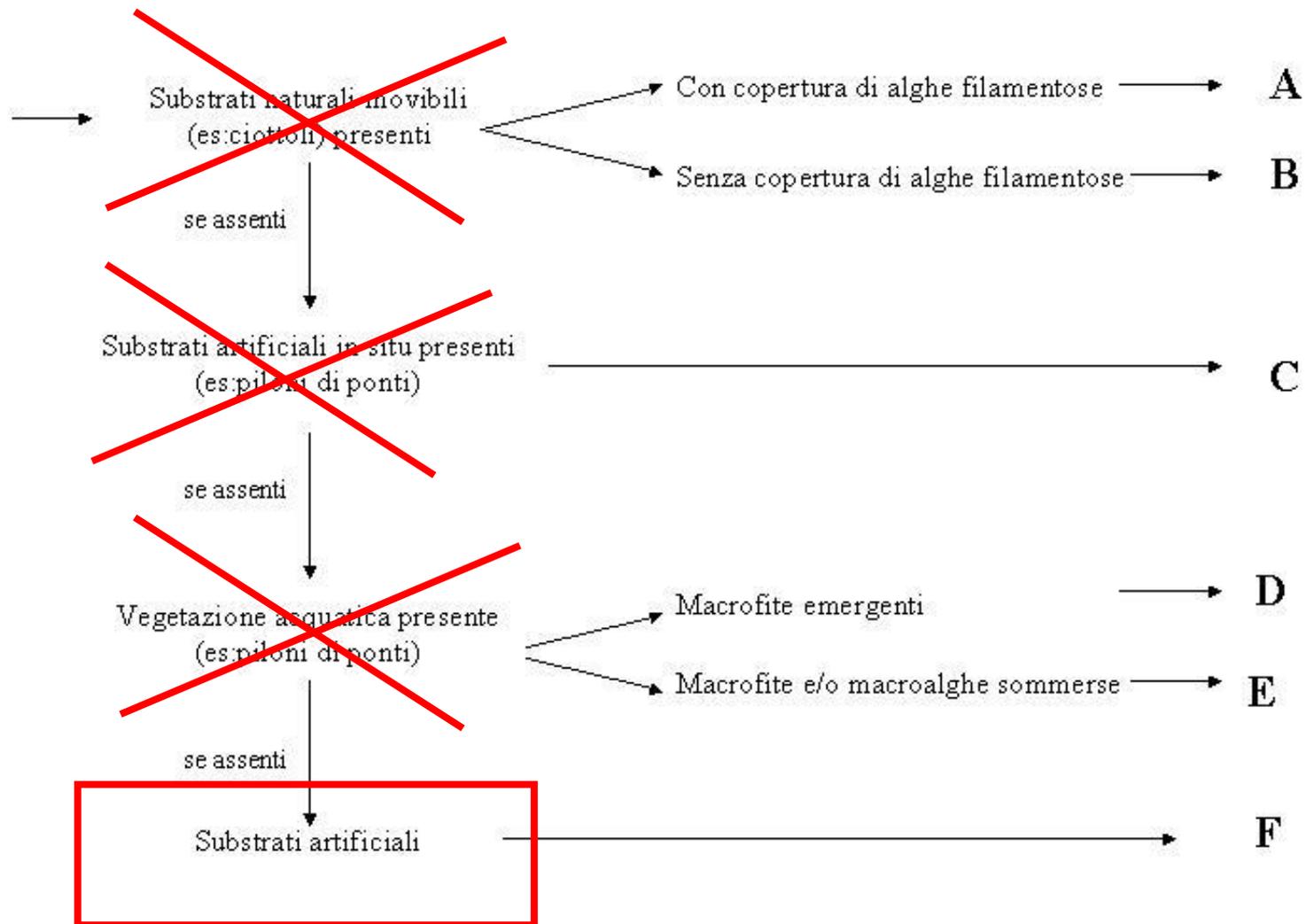
E) Macroalghe e macrofite sommerse

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

CAMPIONAMENTO FITOPLANCTON

PERIODI DI CAMPIONAMENTO

La Direttiva stabilisce che per il monitoraggio siano fissate frequenze che tengano conto della variabilità sia delle condizioni naturali sia antropiche. Vengono suggeriti più campionamenti nel corso dell'anno in maniera tale da studiare la variabilità stagionale per poi confrontarla con i modelli proposti.

Siccome le **ASSOCIAZIONI FITOPLANCTONICHE** variano con una periodicità stagionale abbastanza precisa e ripetibile da un'anno all'altro è possibile ottimizzare lo studio limitando i campionamenti a periodi realmente significativi.

Sulla base dei dati relativi alla successione e disponibili per i laghi italiani, sono consigliati **6** campionamenti nel corso dell'anno

(Protocollo per il campionamento di fitoplancton in ambiente lacustre)

GENNAIO – 15 MARZO



Comunità INVERNALE

APRILE – 15 MAGGIO



Comunità PRIMAVERILE

15 MAGGIO – 15 GIUGNO



Transizione PRIMAVERA-ESTATE

LUGLIO – AGOSTO



Comunità ESTIVA

SETTEMBRE



Transizione ESTATE-AUTUNNO

15 OTTOBRE – NOVEMBRE



Comunità AUTUNNALE

OPERAZIONI PRELIMINARI AL CAMPIONAMENTO

Prima di effettuare la raccolta del campione è necessario effettuare alcune misure delle variabili fisico-chimiche che maggiormente influenzano la struttura della comunità fitoplanctonica.

Il parametro che maggiormente influisce sul campionamento è la profondità della zona eufotica

Penetrazione della PAR (*Photosynthetically Active Radiation* : 400-700 nm)

ZONA EUFOTICA: strato d'acqua con attenuazione della PAR incidente fino all'1%

- misurazione diretta con radiometro (sonda PAR)

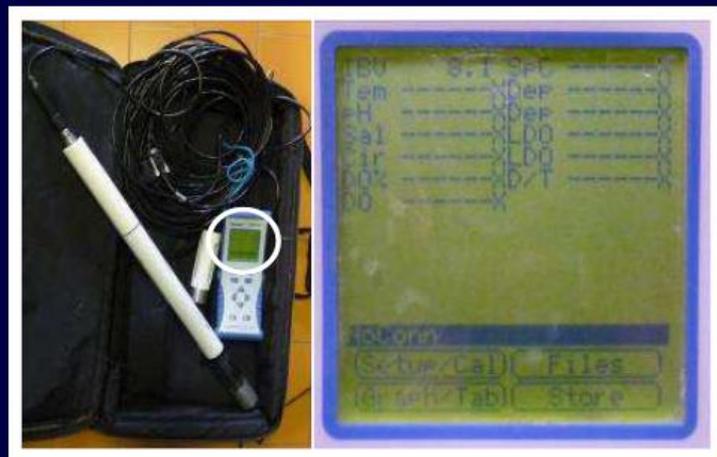
- misurazione indiretta con disco Secchi (disco metallico bianco, diam. 30 cm)

Zona Eufotica: 2.5 x DS

Parametri di contorno:

Con l'utilizzo di una sonda multiparametrica vengono acquisiti contemporaneamente dati di: temperatura, pH, conducibilità, concentrazione e saturazione dell'ossigeno (se disponibile anche chl a e torbidità)

Dalle letture ottenute è possibile definire l'eventuale stratificazione della colonna d'acqua (soprattutto in base alla temperatura)



Il campione deve essere raccolto nel punto di massima profondità e la stazione dovrebbe essere posizionata in centro lago per evitare l'influenza delle aree litorali

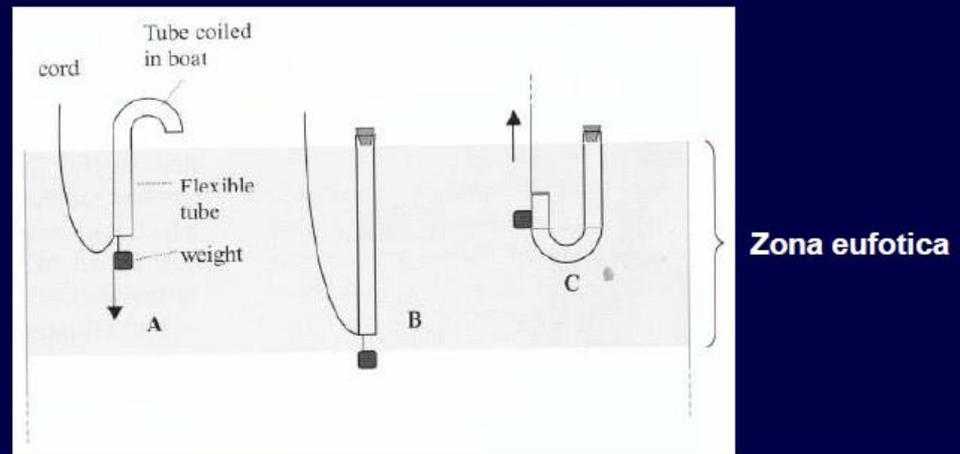


Raccolta del campione

3 OPZIONI

- ✓ Su quote fisse
- ✓ Su quote variabili
- ✓ Campione integrato

Sempre nella zona eufotica!!! (al max fino a 20 m)



Contestualmente alla raccolta del campione del fitoplancton vanno prelevati i campioni per l'analisi di:

Clorofilla a (sullo stesso campione dei fitoplancton)

Alcalinità

Azoto ammoniacale

Azoto nitrico

Azoto totale

Ortofosfati

Fosforo totale

Silice



Inoltre, per ottenere maggiori informazioni sulla comunità fitoplanctonica (soprattutto per una lista floristica più completa) è preferibile raccogliere un campione con un **retino con vuoto di maglia 10-20 μm** lungo tutto la zona eufotica.

Principali fissativi

Soluzione Lugol ($I_2 + KI$)

Penetra velocemente nella cellula preservando meglio gli organismi più delicati
Lo iodio aumenta il peso degli organismi aumentando la velocità di sedimentazione
L'individuazione delle cellule è più facile grazie all'aumentato contrasto con il fluido circostante

Talvolta l'eccessiva colorazione può oscurare certe strutture cellulari utili alla determinazione
Occasionalmente certe strutture possono scomparire col passare del tempo
Le colonie di certe specie possono disgregarsi
Viene persa l'autofluorescenza delle chl a
Lo iodio va incontro ad ossidazione perciò i campioni mantenuti per lungo tempo rischiano di venir persi.

Formaldeide tamponata

Preserva bene le alghe con strutture rigide esterne
Mantiene visibili molte strutture cellulari
I campioni si mantengono anche per anni
L'autofluorescenza della chl a, sebbene decada, può mantenersi per alcuni giorni

La formaldeide è un agente cancerogeno per cui va maneggiata con estrema cautela (cappe aspirazione)
Alcune microalghe (e.g. flagellati nudi) possono perdere la loro forma originale
Gli organismi possono restringersi (errori nei calcoli dei biovolumi)

VANTAGGI

SVANTAGGI

Preparazione dei campioni per l'analisi

Analisi standard: **METODO DI UTERMÖHL** (sedimentazione)

- 1-Omogeneizzazione campione: la bottiglia va agitata delicatamente per almeno 100 volte
- 2-Scelta del volume appropriato per la **SEDIMENTAZIONE** (colonna + camera)
- 3-Processo di sedimentazione (tempi scelti in base al volume scelto)
- 4-Rimozione colonna soprastante
- 5-Conteggio per analisi quali-quantitativa



Come si effettua il conteggio per la determinazione delle abbondanze cellulari?

Il metodo della sedimentazione permette l'utilizzo di diversi tipi di conteggio, a seconda:

- della quantità di cellule presenti nel campione (densità della comunità fitoplanctonica)
- del tipo di analisi richiesta

Per l'analisi ingrandimento $200\times - 400\times$

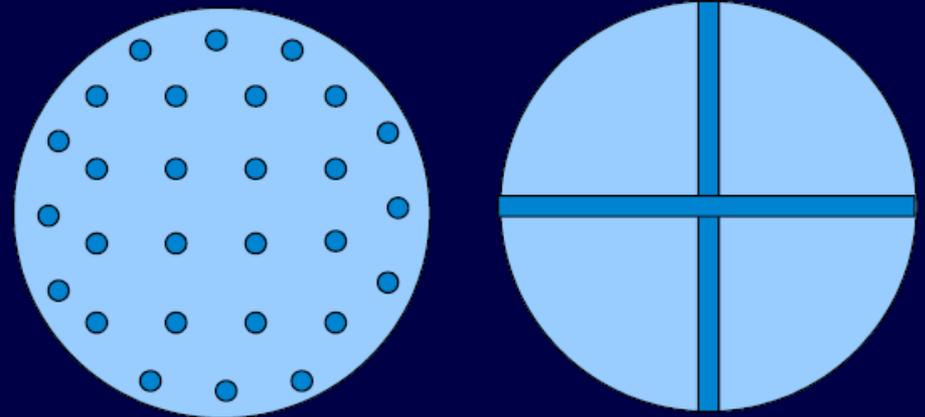
Ingrandimenti superiori risultato essere molto utili ai fini della determinazione fine

Conteggi possibili:

Campi randomizzati: generalmente su frazioni di $1/100$ della superficie totale della camera

Transetti: almeno due transetti

Mezza camera o camera intera



Questo tipo di analisi **quali-quantitativa** permette di ottenere le abbondanze dei singoli taxa microalgali riconosciuti.

A partire da questo dato è possibile ottenere un'ulteriore informazione riguardo alla comunità fitoplanctonica:

La STIMA del BIOVOLUME e della BIOMASSA

Due importanti descrittori ecologici che generalmente ben correlano con la concentrazione di clorofilla a

Come si calcola il **biovolume** ?

Ad ogni taxon viene associata una forma semplice o composta che **approssimi il più possibile** un solido geometrico definito (esistono lavori che standardizzano la scelta del solido di riferimento, Hillebrand *et al*, 1999)

Dalle misure effettuate sulle unità presenti nel campione (siano esse singole cellule, colonie e/o filamenti) è possibile stimarne il volume cellulare (maggiore n° misure, più attendibile è la stima) (**problema della terza dimensione**)

L'abbondanza in questo modo può essere convertita in biovolume e successivamente in biomassa (opzionale)

METODO ATTUALMENTE ADOTTATO

Misure biovolume prese durante tutte le fasi di conteggio.

In particolare per i **taxa rari** vengono prese al momento dell'osservazione in fase di conteggio mentre quelli più abbondanti vengono misurati a 100x alla fine del conteggio. Utilizziamo tale ingrandimento per avere una maggior precisione nelle misure.

In genere vengono misurate 25 unità per i **taxa molto abbondanti**, dalle 20 alle 10 unità per i **taxa frequenti** e 5 per quelle più rare. Nelle specie osservate una volta sola, le misure sono prese sul singolo individuo oppure, se già osservata in altri campioni dello stesso sito, viene utilizzato il biovolume già calcolato.

Metodi di campionamento

La WFD 2000/60/CE (Allegato V, punto 1.3.6) indica che:

“I metodi impiegati per il monitoraggio dei parametri tipo devono essere conformi alle norme internazionali ovvero ad altre norme nazionali o internazionali analoghe che assicurino dati comparabili ed equivalenti sotto il profilo della qualità scientifica”

Per LA FAUNA ITTICA

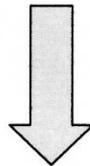
“I campionamenti devono essere pertinenti alle norme CEN/ISO ”

Campionamento fauna ittica nei laghi (1-Principi)

Non esiste un metodo “migliore” di altri.
Ogni metodo ha vantaggi e svantaggi.

E' fondamentale che siano assicurate

- Relativa facilità di esecuzione
- La standardizzazione e ripetibilità per la confrontabilità dei risultati
- La “buona” rappresentazione della comunità

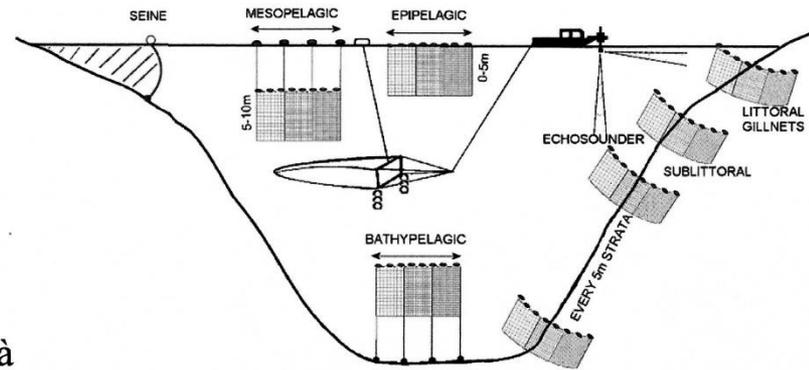


WFD: Composizione, abbondanze e struttura di età

La composizione e la struttura della comunità (specie rappresentative della tipologia lacustre indagata)

La struttura di popolazione (Taglia – Età)

Gli habitat (Litorale, Sublitorale, Profondo, Pelagico)

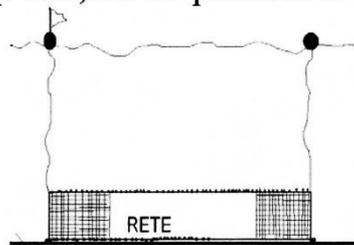


Campionamento fauna ittica nei laghi (2-Metodi)

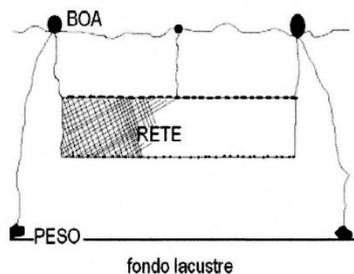
www.apat.gov.it/site/it-IT/APAT/Pubblicazioni/metodi_bio_acque.html

Reti Branchiali Multimaglia (RBM)

Bentiche o “da fondo”
(30x1,5m 12 pannelli 5-55mm)

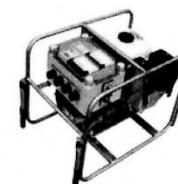


Pelagiche
(27,5x6m 11 pannelli 6.25-55mm)



Elettropesca

- Potenza adeguata
- Imbarcazione
- Standardizzazione metodo
(PASE – Abbondanza per punti)



www.iii.to.cnr.it/rap_I-CH/Report_CNR-ISE_02-2009.pdf

Metodo di cattura con:

Elettropesca: si applica in ambiente litorale a profondità non superiori a 1,5 m, il campionamento viene condotto in punti (circa 120-150) equidistanti tra loro e la pesca non deve protrarsi per più di 15-20 secondi

Reti Branchiali: ogni rete è composta da diversi pannelli di rete con maglie diversa

“da fondo”: 12 pannelli con maglie da 5 a 55 mm

“pelagica”: lunga 27,5 m ed alta 6 metri, con maglia inferiore di dimensioni di 8mm

Campionamento fauna ittica nei laghi (2-Metodi)



CAMPIONAMENTO STRATIFICATO
Standardizzato sul volume

Reti pelagiche (RBMP)

Numero di sforzi di pesca (reti) in relazione alla superficie del lago. Gli strati hanno una altezza di 6 metri.

Superficie del lago (km ²)	n.reti per ogni strato
<5	6
Da 5,1 a 10,0	8
da 10,1 a 50,0	10
>50,1	12

Reti "da fondo" RBMF

Numero di reti bentiche in relazione alla superficie e profondità del lago								
Area del lago	Strato della colonna d'acqua	Profondità massima (m)						
		<6	da 6 a 11,9	da 12 a 19,9	da 20 a 34,9	da 35 a 49,9	da 50 a 75	>75
<0,2 km ²	<3m	4	3	4	4	3		
	da 3 a 5,9	4	3	4	3	3		
	da 6 a 11,9		2	4	3	3		
	da 12 a 19,9			4	3	3		
	da 20 a 34,9				3	2		
	da 35 a 49,9					2		
	TOTALE	8	8	16	16	16		
da 0,21 a 0,5 km ²	<3m	4	5	5	5	5		
	da 3 a 5,9	4	6	5	5	5		
	da 6 a 11,9		5	3	5	6		
	da 12 a 19,9			3	5	6		
	da 20 a 34,9				4	6		
	da 35 a 49,9					4		
	TOTALE	8	16	16	24	32		
da 0,51 a 1,0 km ²	<3m	8	8	7	7	7	7	
	da 3 a 5,9	8	8	7	7	7	7	
	da 6 a 11,9		8	5	9	7	10	
	da 12 a 19,9			5	6	4	4	
	da 20 a 34,9				3	4	4	
	da 35 a 49,9					3	4	
	da 50 a 75						4	
TOTALE	16	24	24	32	32	40		
da 1,1 a 2,5 km ²	<3m	8	8	8	7	7	7	
	da 3 a 5,9	8	8	8	7	7	7	
	da 6 a 11,9		8	8	10	10	6	
	da 12 a 19,9			8	8	6	6	
	da 20 a 34,9				8	6	6	
	da 35 a 49,9					4	4	
	da 50 a 75						4	
TOTALE	16	24	32	40	40	40		
da 2,6 a 10,0 km ²	<3m	12	11	10	10	10	10	10
	da 3 a 5,9	12	11	10	10	10	10	10
	da 6 a 11,9		10	10	10	10	10	10
	da 12 a 19,9			10	10	8	8	10
	da 20 a 34,9				8	6	8	5
	da 35 a 49,9					4	6	5
	da 50 a 75						4	4
>75							4	
TOTALE	24	32	40	48	48	56	56	
da 10,1 a 50,0 km ²	<3m	12	11	10	10	10	10	10
	da 3 a 5,9	12	11	10	10	10	10	10
	da 6 a 11,9		10	10	12	12	10	10
	da 12 a 19,9			10	12	9	10	10
	da 20 a 34,9				12	9	10	10
	da 35 a 49,9					6	10	6
	da 50 a 75						4	4
>75							4	
TOTALE	24	32	40	56	56	64	64	

Campionamento fauna ittica nei laghi (3-Periodo di campionamento)

- **Periodo stagionale**

Reti Multimaglia e Elettropesca

1 Luglio – 15 Ottobre

Si interferisce solo solo mimimamente con la riproduzione della maggior parte delle specie

Si possono catturare gli stadi giovanili

La T° acqua è ok, massima attività, facilitata la cattura nelle reti (strumenti passivi).

- **Orario**

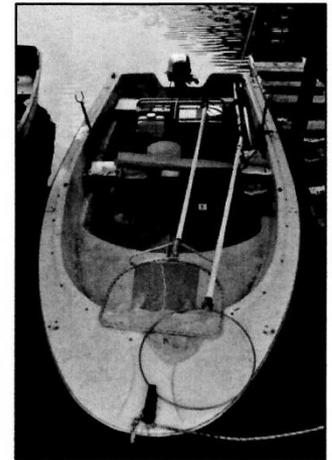
Reti Multimaglia

Tramonto-alba (12 ore circa)

Il tempo di posa può variare in relazione alla tipologia lacustre

Elettropesca

Da effettuarsi possibilmente nelle ore di bassa luminosità (ma attenzione alla sicurezza!)



Raccolta dati di campagna

- Nominativo Lago
- Data
- Tipo strumento (RBMF, RMBP, EP)
- Posizione rete (GPS), Punto EP
- N.rete
- Profondità rete

Raccolta dati campione

- Specie
- Lunghezza totale
- Peso totale
- Sesso
- Età
- N. rete (quindi corrispondenza con strato e zona)

TEMPISTICA CAMPIONAMENTO E PROCESSAMENTO CAMPIONE (DA INIZIO OPERAZIONI A FINE ELABORAZIONE DATI)

Un team ben addestrato e preparato di 4-5 persone processa completamente 24 RBM + relativa elettropesca (con relative analisi e elaborazioni del campione) in 6 giornate lavorative complete.