

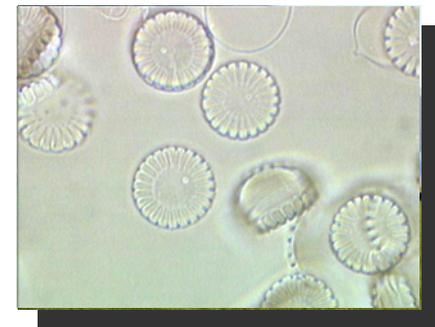


Valutazione dello stato ecologico delle acque correnti mediante le comunità diatomee

dott.ssa Catia Monauni

APPA - Settore Informazione e Monitoraggi

U.O Attività di monitoraggio ambientale





COSA SONO LE DIATOMEE?

- sono alghe microscopiche, con dimensioni che vanno da 5 a 700 μm
- appartengono al Regno Protista (Divisione *Bacillariophyta*, Classe *Bacillariophyceae*), sono eucarioti autotrofi
- rappresentano una grande frazione del FITOPLANCTON e del FITOBENTHOS
- possono vivere come singole unità o in colonie, in tutti gli ambienti ove vi sia un velo d'acqua (acque dolci e salate, ambienti lotici e lentici, acque alcaline o acide)
- colonizzano qualsiasi superficie (substrati duri quali massi o ciottoli, ma anche vegetali e fango)



LE DIATOME E COME BIOINDICATORI

Le diatomee possiedono tutti i requisiti che contraddistinguono un buon indicatore ambientale:

sono presenti tutto l'anno in tutti gli ambienti fluviali

sono molto sensibili a variazioni dei parametri chimico-fisici del mezzo ambiente

sono fisse al substrato e facili da campionare

sono ben conosciute sia sistematicamente sia ecologicamente

hanno un breve tempo di resilienza (2-4 settimane)

Le diatomee bentoniche maggiormente utilizzate per il monitoraggio fluviale sono quelle epilitiche.



PERIODI DI CAMPIONAMENTO E SCELTA DELLE STAZIONI

Generalmente si effettuano due campagne di monitoraggio:

- in morbida (in zona alpina maggio-giugno, dopo le piene primaverili)
- in magra (in zona alpina settembre-ottobre, prima delle piogge autunnali)

La scelta delle stazioni si effettua dopo una ricognizione per l'individuazione delle possibili fonti di inquinamento; si sceglie una stazione a monte ed una a valle delle principali immissioni.

In linea di massima comunque la rete di monitoraggio per le diatomee può coincidere con l'abituale rete di monitoraggio chimico o biologico dell'Agenzia per l'Ambiente.



SCELTA DEI SUBSTRATI IDONEI E TECNICHE DI CAMPIONAMENTO

I substrati sui quali effettuare il prelievo sono le superfici sommerse ed esposte alla luce di massi, pietre e ciottoli. Il campionamento, ove possibile, va effettuato lungo il transetto, (circa 4-5 ciottoli diversi) evitando di raccogliere il materiale in prossimità delle rive o in pozze di ristagno.

In caso di assenza di substrati litici naturali, è possibile campionare supporti artificiali duri quali piloni dei ponti, sponde cementificate, pareti immerse di chiatte galleggianti (presenti in acqua da almeno un mese), evitando di campionare il legno.



SCELTA DEI SUBSTRATI IDONEI E TECNICHE DI CAMPIONAMENTO

Ove non siano presenti substrati litici adatti, si possono mettere in loco e lasciare per almeno un mese dei ciottoli preventivamente puliti, avendo cura di immettere materiali con matrice geologica simile al territorio circostante.

Per ogni stazione il substrato deve essere omogeneo. Si raschia la superficie dei substrati con uno spazzolino unendo in un contenitore il materiale raschiato lungo il transetto.

Il materiale viene addizionato di alcool etilico 96% in proporzione 1:1. In questo modo il campione si conserva per alcuni mesi.



Nelle diatomee i caratteri che permettono il riconoscimento a livello di specie risiedono nel frustulo. Per renderli visibili è necessario eliminare la sostanza organica della cellula.



Cymbella sp.



trattamento del campione
e allestimento del vetrino



Cymbella tumida



PREPARAZIONE E FISSAGGIO DEI VETRINI

Dopo aver eliminato il conservante con una pipetta Pasteur, i campioni vengono addizionati con 30-40 ml di perossido di idrogeno a 130 volumi e lasciati ad ossidare a freddo sotto cappa per qualche giorno; in seguito vengono riscaldati su piastra elettrica a 90°C per circa 1-2 ore (tempo dipendente dalla quantità iniziale di campione) per ossidare completamente la sostanza organica

Per accelerare la preparazione è possibile riscaldarli subito su piastra elettrica a 90°C per circa 2-4 ore (tempo dipendente dalla quantità iniziale di campione)

Dopo aver lasciato raffreddare il campione, si aggiunge qualche goccia di HCl 1N per rimuovere il perossido in eccesso e per tamponare gli eventuali carbonati

Si centrifuga per almeno tre volte il campione a 1500 giri/min per 4-5 minuti per lavare i frustuli



PREPARAZIONE E FISSAGGIO DEI VETRINI

L'indice di rifrazione della silice è molto vicino a quello dell'acqua; è necessario quindi montare i frustuli in una resina ad elevato indice di rifrazione. A livello europeo la resina più utilizzata è la Naphrax.

Dopo aver mescolato per omogeneizzare il campione, con una pipetta Pasteur si prelevano alcune gocce di sospensione, che viene depositata su un vetrino coprioggetto. Si lascia asciugare all'aria o su piastra a bassa temperatura.

- Si pone una goccia di resina sul vetrino portaoggetti, e vi si capovolge sopra il vetrino coprioggetto con le diatomee sulla superficie. Si scalda su piastra fino a completa eliminazione del solvente della resina.
- Si elimina con una lametta l'eccesso di resina che fuoriesce dal bordo del coprioggetto. Il vetrino è pronto per l'osservazione al microscopio ottico. Solitamente si preparano due vetrini per ogni campione; questi preparati si conservano per tempi molto lunghi (anni).



IDENTIFICAZIONE DELLE SPECIE

Le diatomee vengono identificate al microscopio ottico a 1000X. Il microscopio deve possedere come corredo minimo una coppia di oculari 10X e tre obiettivi: 10X, 40X e 100X ad immersione, nonché un dispositivo che permetta di misurare i frustuli (micrometro o analizzatore di immagini).

Le specie vengono quindi identificate utilizzando chiavi sistematiche e iconografiche.



KRAMMER, Kurt und H.LANGE-BERTALOT: Süßwasserflora von Mitteleuropa
- Band 02:01: Bacillariophyceae 1: Naviculaceae. Teil A: TEXT. 1997. (Reprint
2009).

KRAMMER, Kurt und H.LANGE-BERTALOT: Süßwasserflora von Mitteleuropa
- Band 02:01: Bacillariophyceae 1: Naviculaceae. Teil B: ICONOGRAPHIA. 1997.
(Reprint 2009).

KRAMMER, Kurt und H.LANGE-BERTALOT: Süßwasserflora von Mitteleuropa
- Bacillariophyceae. Teil 02:02: Bacillariaceae, Epithemiaceae,
Surirellaceae, 1997.

KRAMMER, Kurt und H.LANGE-BERTALOT: Süßwasserflora von Mitteleuropa
- Band 02:03: Bacillariophyceae: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. Rev.
ed. 2004. Reprint 2008

KRAMMER, Kurt und H.LANGE-BERTALOT: Band 02:04: Süßwasserflora von
Mitteleuropa - Bacillariophyceae: Achnanthes, Kritische Ergänzungen zu
Navicula (Lincolata) und Gomphonema. Gesamtliteraturverzeichnis Teil 1-4.



KRAMMER, Kurt und H.LANGE-BERTALOT: Süßwasserflora von Mitteleuropa - Band 02:05: Bacillariophyceae: English and French translation of the keys. Engl. transl. by Nian Bate (keys) and Andrew Podzorski (general part)/ French translation by Jeanne Bukowska, Monika Michel Jean Prygiel (keys). 2000

LANGE-BERTALOT, Horst: Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. Edited by Horst Lange-Bertalot. Volume 2: Navicula sensu stricto, 10 Genera Separated from Navicula sensu stricto, Frustulia. 2001.

KRAMMER, Kurt: Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. Edited by Horst Lange - Bertalot. Volume 3: Cymbella. 2002.

KRAMMER, Kurt: Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. Edited by H. Lange-Bertalot. Volume 4: Cymbopleura, Delicata, Navicymbula, Gomphocymbellopsis, Afrocybella Supplements to cymbelloid taxa. 2003.

REICHARDT, Erwin: Annotated Diatom Micrographs. Edited by Horst Lange - Bertalot. Volume 08: TAXONOMY: Zur Revision der Gattung Gomphonema. Die Arten um *G.affine/insigne*, *G.angustatum/ micropus*, *G.acuminatum* sowie gomphonemoide Diatomeen aus dem Oberoligozän in Böhmen. 1999



VALUTAZIONE DELLE ABBONDANZE DEI TAXA NEI CAMPIONI

Dopo aver realizzato l'elenco delle specie, si procede alla stima della loro abbondanza.

Vengono contati 400 individui a 1000x ad immersione, effettuando tanti campi quanti ne occorrono per arrivare al numero prefissato.

Si prendono in considerazione anche i frustuli rotti, purchè se ne osservi più della metà e ciò consenta una identificazione certa.



La valutazione dello stato ecologico delle comunità diatomiche: **IL METODO ICM-I** **(Intercalibration Common Metric Index)**

La **Direttiva 2000/60/CE**, recepita in Italia dal **d.lgs.152/06**, prevede la valutazione della qualità ecologica dei corpi idrici mediante l'uso di indici numerici costruiti da parametri biologici, confrontando il valore assunto nel sito in esame con quello di un sito di riferimento, attraverso il calcolo di un **rapporto di qualità ecologica (RQE)**.



In Europa esistono numerosi indici che utilizzano le comunità diatomee allo scopo di valutare gli effetti del carico di nutrienti ed inquinanti sui corpi idrici.

Prevedono un campionamento di substrati duri, raschiando con uno spazzolino; il campione viene opportunamente trattato in laboratorio, quindi le diatomee vengono riconosciute al microscopio.

Generalmente ad ogni specie rinvenuta viene assegnato:

- un valore di abbondanza individuale
- un valore di tolleranza ai nutrienti
- un valore di affidabilità, dipendente dalla sua valenza ecologica

Questi valori vengono quindi inseriti in una formula che varia da indice ad indice ma che comunque alla fine esprime un valore numerico indicante il grado di trofia dell'ambiente in esame.



Nell'ambito del processo di intercalibrazione a livello europeo, per la valutazione delle comunità diatomee sono stati presi in considerazione l'Indice di Sensibilità agli Inquinanti IPS (Cemagref, 1982) e l'Indice Trofico TI (Rott *et al.*, 1999).

L'Italia ha scelto di adottare L'ICM-i come metodo nazionale per la classificazione dei corsi d'acqua mediante la componente biologica delle diatomee (Rapporti ISTISAN, 09/19).

$$IPS_5 = \frac{\sum a_j \cdot I_j \cdot S_j}{\sum a_i \cdot I_i}$$

Dove

a_i = abbondanza della specie j esima

S_j = valore indicatore (tolleranza) della specie j esima

I_j = valore di affidabilità della specie j esima

TW_j = valore indicatore (tolleranza) della specie j esima

G_j = valore di affidabilità della specie j esima

$$TI = \frac{\sum a_j \cdot G_j \cdot TW_j}{\sum a_i \cdot G_i}$$



L' ICMi per la valutazione dello stato ecologico delle comunità diatomiche è dato dalla media aritmetica degli RQE dei due indici IPS e TI:

$$RQE_{IPS} = \frac{\text{valore}_{osservato}}{\text{valore}_{riferimento}}$$

$$RQE_{TI} = \frac{(4 - \text{valore}_{osservato})}{(4 - \text{valore}_{riferimento})}$$



- Il **valore degli indici TI ed IPS** deve essere calcolato sulla base di almeno 2 campionamenti, uno in morbida ed uno in magra, come previsto dal protocollo nazionale ISPRA per il campionamento delle diatomee.
- Una volta ottenuto il valore di ICMi, attraverso i valori di RQE stabiliti per ciascun macrotipo fluviale si attribuisce la **classe di qualità** corrispondente, rispetto ai limiti proposti nel metodo di classificazione.



Decreto 8 novembre 2010, n. 260 del Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare (So n. 31 alla Gu 7 febbraio 2011 n. 30)

Regolamento recante i criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali, 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 medesimo decreto legislativo

Tab. 4.1.1/d - Valori di riferimento degli indici IPS e TI per i macrotipi fluviali.

Macrotipo fluviale	Valori di riferimento	
	IPS	TI
A1	18,4	1,7
A2	19,6	1,2
C	16,7	2,4
M1	17,15	1,2
M2	14,8	2,8
M3	16,8	2,8
M4	17,8	1,7
M5	16,9	2,0



Tab. 4.1.1/c Limiti di classe fra gli stati per i diversi macrotipi fluviali.

Macrotipi	Limiti di classe			
	Elevato/Buono	Buono/Sufficiente	Sufficiente/Scarso	Scarso/Cattivo
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
M1-M2-M3-M4	0,80	0,61	0,51	0,25
M5	0,88	0,65	0,55	0,26

I valori riportati in Tab. 4.1.1/c corrispondono al valore più basso della classe superiore.



GRAZIE PER L'ATTENZIONE!!!

catia.monauni@provincia.tn.it

