



UN PERCORSO PER L'ASSICURAZIONE DI QUALITA' DEI DATI BIOLOGICI :

ESERCIZI DI INTERCALIBRAZIONE SUL FITOBENTHOS

Catia Monauni (ARPA TN)
Raffaella Zorza (ARPA FVG)



Giornate di Studio
PIANI DI MONITORAGGIO
AMBIENTALE
Strategie, Indicatori, Criticità
Bologna 10-11 Dicembre 2014



in collaborazione con
Mariacritina Torrisi – Univ. Di Camerino
Valentina Della Bella – ARPA Umbria
Maurizio Siligardi, APPA Trento



L'efficienza delle diatomee bentoniche come bioindicatori dipende molto dalla loro **esatta identificazione** a livello specifico e dalla **corretta applicazione dell'indice diatomico** utilizzato.

Nel novembre 2012 e marzo 2014 l'APPA Trento ha organizzato seminari pratici sulla tassonomia delle diatomee, durante il quale sono stati anche proposti esercizi di intercalibrazione.

Scopi principali dei ring-test erano:

- rilevare quali sono le **specie più problematiche** sia dal punto di vista morfologico che ecologico;
- contribuire **all'armonizzazione della nomenclatura** utilizzata a livello nazionale;
- testare se **differenze nel protocollo di conteggio** dei taxa influiscono sul risultato finale dell'indice diatomico **Intercalibration Common Metric Index (ICMi)**



Lezioni frontali durante il workshop sulle diatomee bentoniche organizzato dall'APPA

Ring-test su identificazione e protocollo di conteggio di diatomee bentoniche (APPA TN) Novembre 2012

Hanno partecipato **23 diatomisti** con differente livello di esperienza.

Lettura di **1 vetrino** dallo stesso campione di diatomee epilitiche, raccolto (norma EN 13946) e preparato da una **unica persona** al fine di porre maggiore attenzione ad altri fattori, quali:

- **corretta identificazione**
- **protocollo di conteggio** (esperienza dell'operatore, capacità di associare le viste connettivali alle viste valvari possono influire sulla variabilità dell'indice ICMi).



STAZIONE INTERCALIBRAZIONE



La stazione (le cui coordinate in UTM sono EST 035800, NORD 4752746) in cui è stato prelevato il campione utilizzato per l'esercizio di intercalibrazione si trova nel tratto superiore del **fiume Tenna** (Regione Marche, Italia) a 1096 m s.l.m. Il sito in esame appartiene **all'area geografica Mediterranea** e presenta **tipologia fluviale M4** secondo le definizioni riportate nel D.M. 260/2010.

RACCOLTA CAMPIONE ED IDENTIFICAZIONE

- Il campione è stato raccolto nell'ottobre 2012 (CEN, 2003; APAT, 2007).
- Per l'osservazione dei vetrini e il conteggio delle diatomee ai fini della valutazione della qualità biologica dell'acqua è stata seguita la Normativa Europea EN 14407 (CEN, 2004; APAT, 2007).
- Per l'identificazione dei taxa sono stati usati principalmente:
 - KRAMMER e LANGE-BERTALOT (1986-1991b),
 - KRAMMER (1997), HOFMANN *et al.* (2011)
 - vari volume di Iconographia Diatomologica (LANGE-BERTALOT, 1995-2004)
 - Diatoms of Europe (LANGE-BERTALOT, 2001; KRAMMER, 2002).
- La nomenclatura è in accordo con il catalogo presente nel sito curato dall'Institute for Biodiversity Science and Sustainability della California Academy of Sciences (<http://researcharchive.calacademy.org/research/diatoms/names/index.asp>) e con quello proposti dal software Omnidia (LECOINTE *et al.*, 1999, 2003 e successivi aggiornamenti).

MATERIALI E METODI

- Sono state effettuate 23 letture una per ciascun operatore che sono state inserite nel programma **Omnidia V. 5.3** (LECOINTE *et al.*, 2003 e successivi aggiornamenti) per il calcolo degli indici diatOMICI IPS e TI, necessari per determinare l'ICMi.
- Ad ogni lista è stata assegnata una lettera dell'alfabeto per mantenere l'anonimato degli operatori. Le liste sono state poi confrontate con una di riferimento (rappresentata con la lettera X) elaborata a partire dai conteggi dei quattro istruttori del seminario e coordinatori di questo ring-test.
- I conteggi effettuati da tutti i partecipanti sono stati confrontati attraverso la tecnica **Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS)**, eseguita su una matrice di similarità intermedia basata sull'indice di Bray-Curtis (BRAY e CURTIS, 1957).
- Sui valori ottenuti dal calcolo dell'ICMi è stato svolto il test di normalità **Shapiro-Wilk**, necessario e preparatorio per il successivo **test di Grubbs** con il quale è stata individuata l'eventuale presenza di outlier. Infine tramite l'utilizzo dello Z-score (Z) è stata verificata l'accettabilità dei valori dell'ICMi forniti da ciascun partecipante.

RISULTATI

In totale sono stati osservati 69 taxa diatomee di cui il 13 % non ha mai raggiunto l'1% dell'abbondanza relativa nel conteggio a 400 individui. Il numero di specie identificate da ciascun operatore durante il conteggio è variato da un minimo di 10 a un massimo di 27.

Taxa e Autori	Codici nuovi	Somma	Min.	Max.	Media	Taxa morfologicamente simili che possono generare confusione	IPS		TI	
							i	r	i	r
<i>Achnantheidium atomus</i> (Hustedt) O. Monnier, Lange-Bertalot & Ector	ADAT	3	0	3	0,13		5,0	2,0	0,0	0
<i>Achnantheidium lineare</i> W. Smith	ACLI	281	0	31	11,71		5,0	2,0	0,0	0
<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	ADMI	826	12	70	34,42	ADEU, ADSA, ADPY	5,0	1,0	1,2	1
<i>Achnantheidium pyrenaicum</i> (Hustedt) H. Kobayasi	ADPY	1102	0	110	45,92	ADMI, ADSU	5,0	1,0	1,3	1
<i>Achnantheidium pyrenaicum</i> (Hustedt) H. Kobayasi fo. teratogena	ADPT	1	0	1	0,04		1,0	3,0	0,0	0
<i>Achnantheidium straubianum</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	ADSB	0	0	0	0,00		3,0	2,0	0,0	0
<i>Adlafia minuscula</i> (Grunow) Lange-Bertalot	ADMS	1	0	1	0,04		3,0	1,0	1,1	0
<i>Amphora inariensis</i> Krammer	AINA	2	0	2	0,08	APED	5,0	1,0	2,1	1
<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow	APED	32	0	8	1,33	AINA	4,0	1,0	2,8	2
<i>Caloneis bacillum</i> (Grunow) Cleve	CBAC	0	0	0	0,00		4,0	2,0	2,5	1
<i>Cocconeis euglypta</i> Ehrenberg	CEUG	116	0	17	4,83		3,6	1,0	2,3	2
<i>Cocconeis neodiminuta</i> Krammer	CNDI	0	0	0	0,00		5,0	1,0	0,0	0
<i>Cocconeis pediculus</i> Ehrenberg	CPED	1	0	1	0,04		4,0	2,0	2,6	2
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg	CPLA	4	0	3	0,17		4,0	1,0	2,6	2
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i> (Ehrenberg) Van Heurck	CPLI	5	0	5	0,21		4,0	1,0	2,3	2
<i>Cocconeis pseudolineata</i> (Geitler) Lange-Bertalot	COPL	16	0	2	0,67		5,0	1,0	0,0	0

RISULTATI

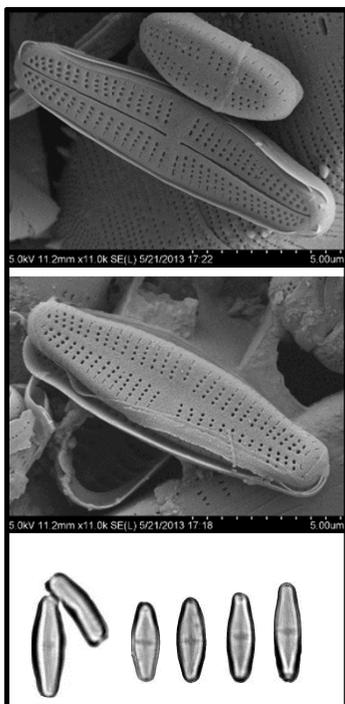
Dato che è stata lasciata libertà ai partecipanti di utilizzare la nuova o la vecchia nomenclatura, per non creare fraintendimenti, la nomenclatura è stata uniformata con quella più recente (California Academy of Sciences).

ALCUNI ESEMPI:

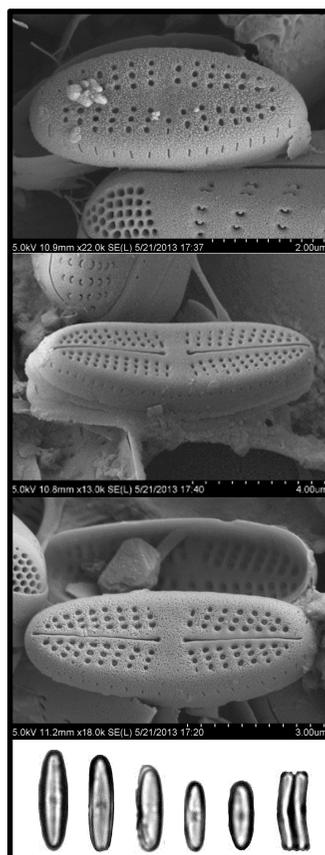
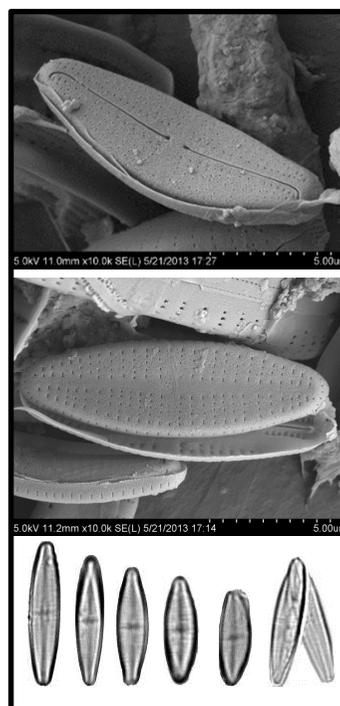
Vecchia nomenclatura	Nuova nomenclatura
<i>Achnanthes biasoletiana</i> Grunow	<i>Achnantheidium pyrenaicum</i> (Hustedt) H. Kobayasi
<i>Achnanthes linearis</i> (W. Smith) Grunow	<i>Achnantheidium lineare</i> W. Smith
<i>Cymbella tumidula</i> Grunow sensu Krammer & Lange-Bertalot (1986, Tavola 126: 8-19)	<i>Cymbella affinis</i> Kützing
<i>Cymbella affinis</i> Kützing sensu Krammer & Lange-Bertalot (1986, Tavola 125: 5-7, 15-17)	<i>Cymbella excisa</i> Kützing
<i>Cymbella affinis</i> Kützing sensu Krammer & Lange-Bertalot (1986, Tavola 125: 8, 11-12)	<i>Cymbella parva</i> (W. Smith) Kirchner
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i> (Ehrenberg) Grunow	<i>Cocconeis euglypta</i> Ehrenberg
<i>Gomphonema pumilum</i> var. <i>elegans</i> E. Reichardt & Lange-Bertalot (1997)	<i>Gomphonema elegantissimum</i> E. Reichardt & Lange-Bertalot

RISULTATI

Achnanthydium minutissimum



Achnanthydium pyrenaicum

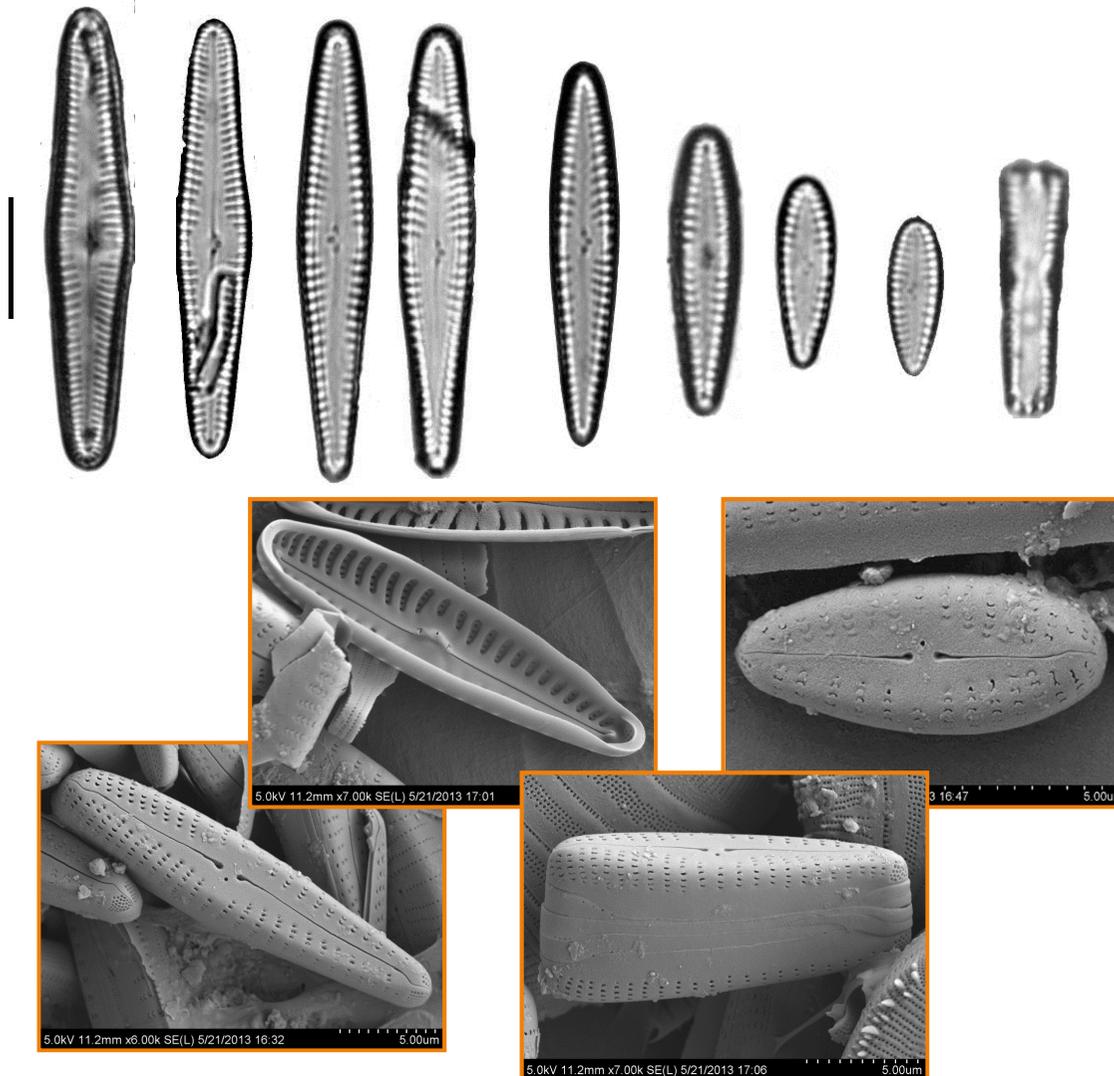


Achnanthydium lineare

- Nei conteggi svolti non sempre c'è stata corrispondenza fra le abbondanze assegnate ad ***Achnanthydium minutissimum*** e ***A. pyrenaicum***, questo errore di determinazione non va però a pesare particolarmente sulla variabilità dei risultati dell'ICMi in quanto le due specie hanno un'ecologia molto simile fra loro.
- Alcuni operatori hanno avuto difficoltà nel distinguere le forme di ***A. minutissimum*** da ***A. eutrophilum***, ***A. saprophilum*** e ***A. subatomoides***.



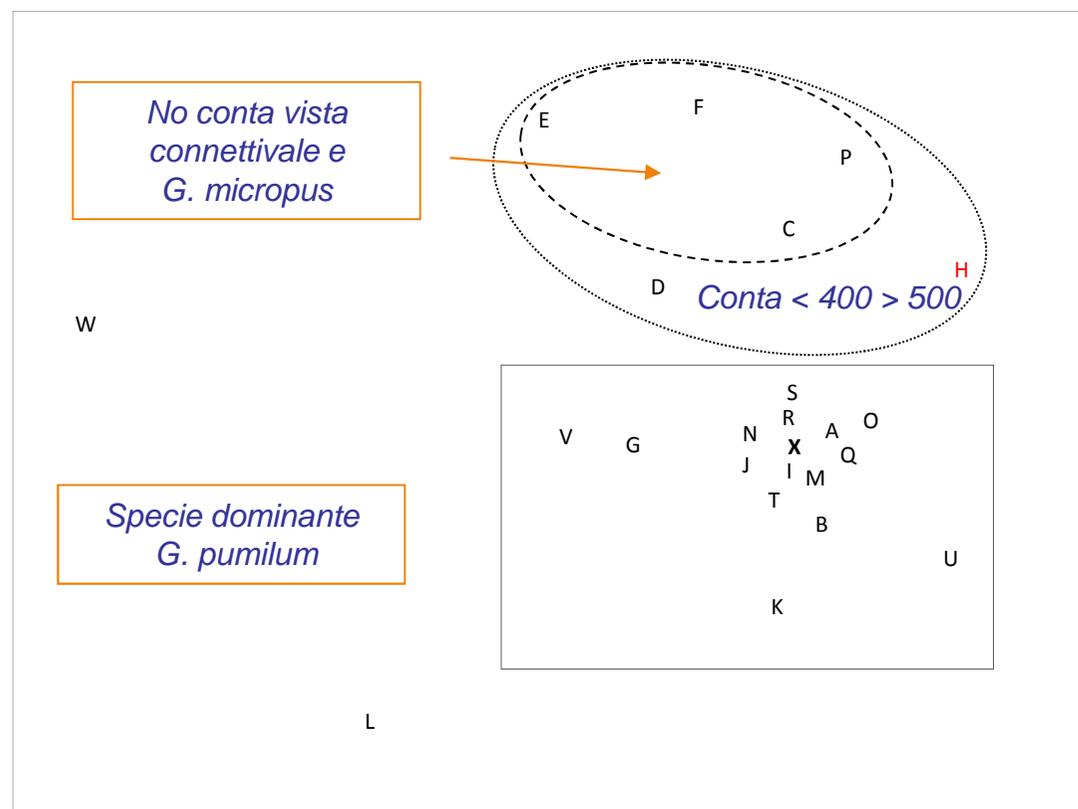
RISULTATI



Nel campione è presente una popolazione ampia e ben strutturata di ***Gomphonema elegantissimum***, le cui valve iniziali sono state spesso confuse con ***G. procerum***, ***G. montanum*** e ***G. vibrio*** non presenti invece nel campione. Inoltre Le valve di piccole dimensioni, tra l'altro molto numerose, sono state confuse dalla quasi totalità dei partecipanti con ***G. pumilum var. rigidum*** anche questo in realtà assente nel campione.

Anche le valve di maggiori dimensioni sono state confuse con ***G. rhombicum***, anche esso assente.

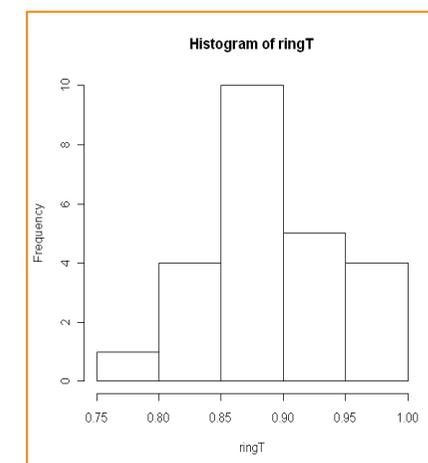
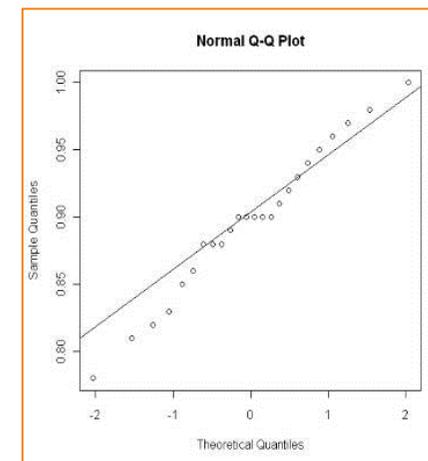
RISULTATI: (ORDINAMENTO NMDS – stress 0,12, P<0,001)



- = campioni che si dispongono nelle vicinanze della lista di riferimento (X)
- - - = campioni che non hanno considerato le viste connettivali
- = campioni che non hanno considerato *Gomphonema micropus*

RISULTATI

Operatore	IPS	TI	ICMi	Valve	Classe	Specie	Vista connettivale
A	18.6	1.30	0.90	400	High	27	SI
B	19.0	1.43	0.95	400	High	23	Si
C	18.2	1.65	1.00	400	High	23	Si
D	19.0	1.52	0.98	458	High	17	-
E	17.2	1.41	0.90	404	High	20	No
F	17.1	1.52	0.93	412	High	21	No
G	18.4	1.22	0.88	407	High	19	Si
H	16.5	1.08	0.78	528	Good	27	Si
I	18.9	1.21	0.89	402	High	19	Si
J	19.4	1.45	0.97	440	High	16	Si
K	19.4	1.20	0.90	400	High	14	Si
L	17.4	1.13	0.82	477	High	10	Si
M	18.8	1.39	0.94	416	High	17	Si
N	18.3	1.18	0.86	420	High	18	Si
O	17.9	1.06	0.81	446	High	23	Si
P	16.8	1.23	0.83	400	High	15	No
Q	18.8	1.34	0.92	400	High	20	Si
R	18.9	1.27	0.90	400	High	19	Si
S	18.2	1.31	0.90	400	High	20	Si
T	18.9	1.09	0.85	425	High	16	Si
U	16.9	1.37	0.88	408	High	25	Si
V	18.8	1.20	0.88	444	High	13	Si
W	17.2	1.52	0.96	400	High	13	Si
X (RIF)	18.9	1.28	0.91	400	High	37	Si



RISULTATI

- Solo per il caso H, individuato come outlier della distribuzione (Test di Grubbs e Z score $2 \leq |Z| \leq 3$) è stato calcolato un valore (0,78) di poco inferiore al limite (0,80) che indica il passaggio alla classe di qualità buona probabilmente per:
 - non aver rispettato il limite del conteggio totale degli individui (in questo caso sono state conteggiate in totale 528 valve);
 - aver considerato tra i dominanti, con grande peso *Gomphonema pumilum* var. *rigidum*. Se si confronta l'abbondanza assegnata da H a questo taxon rispetto a quella assegnata da tutti gli altri casi, si vede che H dà un grandissimo peso a tale *Gomphonema*, che tra l'altro rispetto a *G. elegantissimum* (molto abbondante o dominante in quasi tutte le liste), differisce molto per i parametri dell'indice IPS;
 - aver considerato *Gomphonema productum* invece di *G. micropus*.

Ring-test su identificazione e protocollo di conteggio di diatomee bentoniche (APPA TN) Marzo 2014

E' stato avviato nell'ambito del corso avanzato per operatori inerente l'abilità di riconoscimento tassonomico delle diatomee e il loro significato ecologico, organizzato dall'Agenzia Provinciale per la Protezione dell'Ambiente di Trento, in collaborazione con il CISBA dal 18 al 21 marzo 2014

Il principale intento del corso avanzato era quello di consolidare, confermare ed eventualmente reindirizzare le conoscenze sul riconoscimento tassonomico delle diatomee ai fini del biomonitoraggio di acque correnti e lacustri.

Obiettivi principali del corso e risultati attesi

- Chiarire eventuali dubbi sul riconoscimento di vari taxa di diatomee e fornire anche indicazioni sul loro tipo di ecologia
- Fornire consigli su come facilitare dal punto di vista pratico il riconoscimento delle varie specie di diatomee più difficili da determinare
- Attraverso l'intercalibrazione individuare meglio quali sono le principali cause che possono provocare variabilità/discordanza dei risultati.



**CORSO AVANZATO PER IL CONSOLIDAMENTO DELLE
CONOSCENZE SULLE DIATOMEE BENTHONICHE**



Trento, 18 - 21 marzo 2014

Dopo alcuni anni di attività di formazione di base sul riconoscimento delle diatomee bentoniche e sentita la necessità di momenti di confronto tra operatori sulla solidità delle conoscenze tassonomiche, l'Agenzia provinciale per la protezione dell'ambiente della Provincia autonoma di Trento (APPA Trento) ed il Centro Italiano Studi Biologia Ambientale (CISBA) organizzano un corso avanzato per operatori inerente l'abilità di riconoscimento tassonomico e il loro significato ecologico. Tale attività rientra nelle strategie dell'Istituto superiore per la protezione e la ricerca ambientale (ISPRA) e si prefigge di assicurare la formazione e l'aggiornamento di personale qualificato anche nel campo della biindicazione inerente la gestione degli ambienti acquatici.

APPA Trento e CISBA hanno già organizzato negli anni scorsi (2004, 2006, 2007, 2008, 2010, 2012) corsi di formazione ai quali hanno partecipato in totale 138 allievi. Di questi, molti hanno da tempo avviato attività di raccolta classificazione delle diatomee. L'obiettivo del corso è quindi quello di consolidare ed eventualmente reindirizzare le conoscenze di coloro che già operano nel campo del biomonitoraggio mediante le diatomee, oltre a dare l'opportunità di confrontarsi sulle problematiche che possono sorgere nel riconoscimento di alcune specie nelle diverse realtà fluviali italiane.

Nell'ambito del corso, anche visto il successo di quello del 2012 e rilevata la forte richiesta in tal senso, sono stati avviati **due diversi processi di intercalibrazione:**

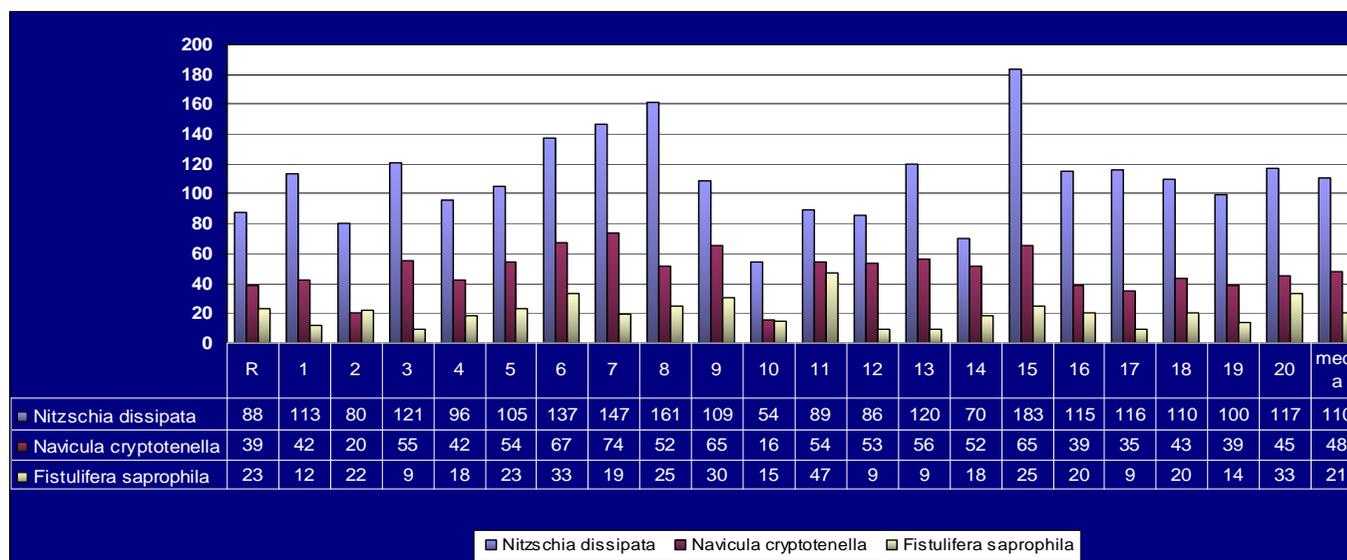
- **nel primo** a ciascun corsista è stato chiesto di effettuare il conteggio di **3 specie target** all'interno di uno **stesso transetto di uno stesso vetrino;**
- **nel secondo** a tutti i corsisti è stato consegnato **un vetrino preparato a partire dallo stesso campione**, per il quale hanno effettuato un conteggio seguendo la norma EN 14407.

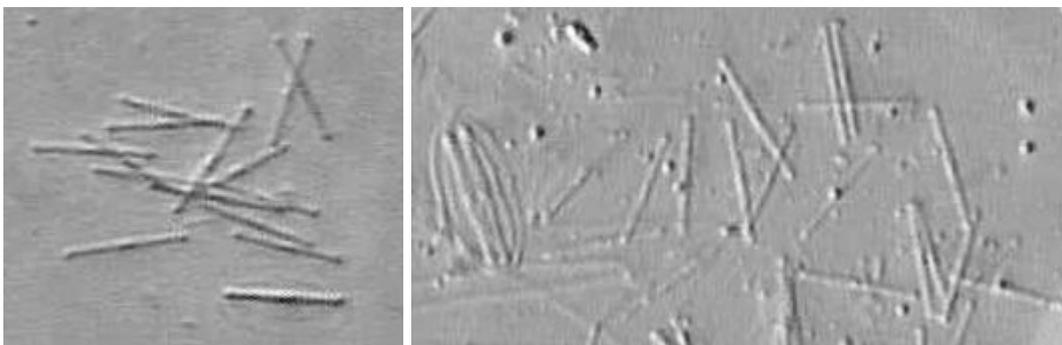
Il dataset risultante da entrambi i processi di intercalibrazione è in fase di elaborazione attraverso analisi statistiche (analisi multivariata) per cercare di individuare le cause principali delle eventuali discordanze dei risultati: vengono di seguito illustrati i primi risultati delle analisi

Al **primo ring test** hanno partecipato i **20 corsisti**: ad ognuno di essi è stato fatto leggere lo stesso transetto di un vetrino.

Il target del test era il conteggio di tre specie: ***Nitzschia dissipata***, ***Navicula cryptotenella*** e ***Fistulifera saprophila***.

Per le prime due specie l'errore percentuale nel conteggio è stato rispettivamente del **27%** e del **29%**. Da letteratura la stima dell'errore di lettura per campioni al microscopio è intorno al 20% per un conteggio di 100 individui (UNI CEN 15204/2005, Lund, 1958). Ulteriori fonti di incertezza ipotizzabili nel caso specifico sono la diversa convenzione utilizzata dagli operatori per il conteggio dei frustuli rotti e/o che entrano parzialmente nel campo. Alla luce dei risultati di questo ring test si sottolinea che sarebbe opportuno specificare meglio questi aspetti nel protocollo di conteggio. Altra fonte di incertezza potrebbe essere la possibile confusione di *N. dissipata* con *N. rectiformis* e di *N. cryptotenella* con *N. antonii*





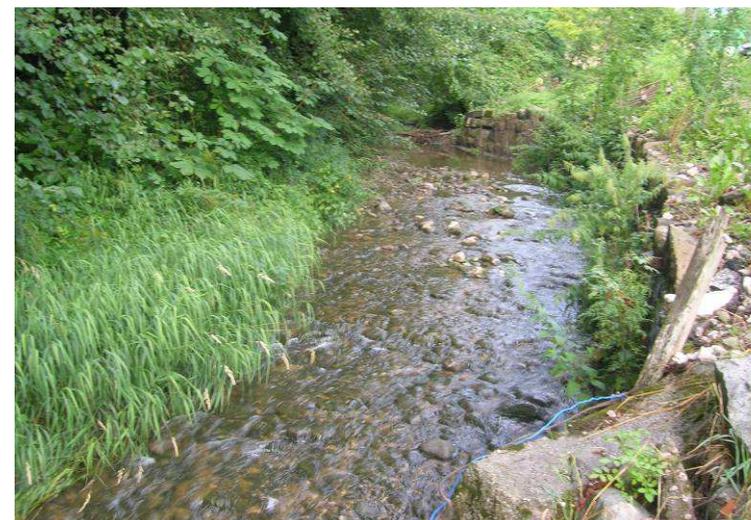
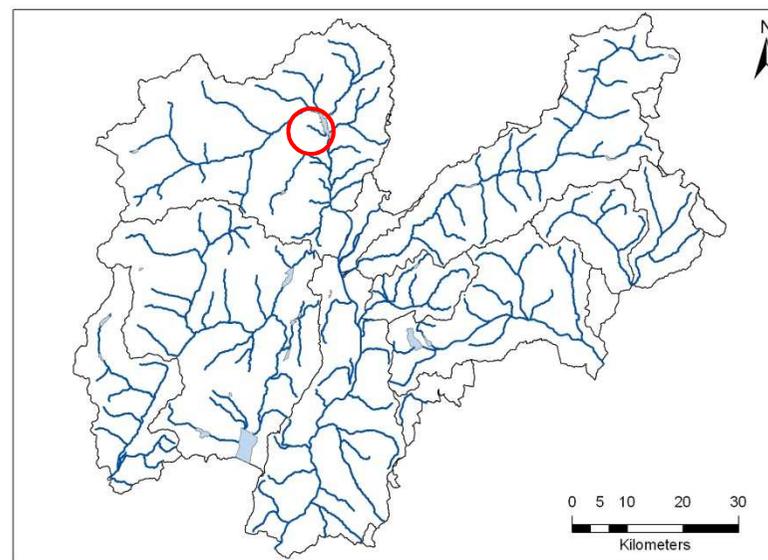
FSAP: rafe non risolvibile al M.O., posizionato in prossimità dello sterno, che rappresenta l'unica struttura ben visibile dell'intero frustulo. Raramente è possibile discernere il margine delle valve, che spesso si dissolve durante il trattamento. Le foto sono state scattate con contrasto di fase

Un discorso a parte si deve fare per *Fistulifera saprophila*: in questo caso l'errore percentuale nel conteggio è stato del **48%**.

Oltre alle fonti di incertezza sopra specificate, in questo caso la variabilità nel conteggio è attribuibile al basso numero di individui contati, che di conseguenza aumenta l'incertezza, nonché alla difficoltà di individuazione dei frustuli di questa specie, che sono piccoli ed estremamente diafani.

Data l'importanza della specie e di quelle simili ad essa dal punto di vista del loro valore indicatore, sarebbe auspicabile introdurre nel protocollo di conteggio la necessità di usare il contrasto di fase e di prestare particolare attenzione a queste specie piccole e difficilmente distinguibili.

Il campione di diatomee da cui sono stati allestiti i vetrini utilizzati per il **secondo ring test** è stato raccolto nel giugno 2013 sul Rio Ribosc, in Val di Non (Trentino) seguendo la metodica proposta nella Normativa Europea EN 13946 (CEN, 2003; APAT, 2007)



Il campione è stato trattato con perossido di idrogeno a caldo e i frustuli ben puliti sono stati montati su vari vetrini permanenti con resina ad elevato indice di rifrazione (Naphrax®).

Per l'osservazione dei vetrini e il conteggio delle diatomee è stata seguita la Normativa Europea EN 14407 (CEN, 2004; APAT, 2007). In particolare si è raccomandato agli operatori di contare mantenendosi intorno ad un valore prossimo a 400 valve.

Ogni operatore ha inserito la lista floristica del conteggio in un file excel fornito dal gestore dell'intercalibrazione, che è stato rinominato mettendo all'inizio il numero presente sul vetrino, il cognome dell'operatore che ha effettuato la lettura e l'ente di provenienza, secondo il seguente esempio:

01_Monauni_APPATN.xls

Al ring-test, oltre ai 20 partecipanti del corso di Trento, hanno aderito **altri 30 operatori**, che hanno ricevuto i vetrini in occasione del Workshop *“Le diatomee nel biomonitoraggio dei corpi idrici fluviali e lacustri: stato dell’arte a tre anni dall’applicazione del DM 260/2010 e prospettive future”*, svoltosi a Trento in coda al corso il giorno 21 marzo 2014, oppure che hanno letto i vetrini che i corsisti hanno portato presso i propri laboratori.

provenienza operatore	n. operatori
ARPA Piemonte	7
APPA Bolzano	1
ARPA Lombardia	6
ARPA Lazio	6
studi privati e/o liberi professionisti	3
ARPA Puglia	1
ARPA Veneto	4
ARPA Marche	1
ARPA Umbria	3
ARPA Sicilia	2
ARPA Emilia Romagna	1
APPA Trento	3
ARPA Toscana	9
ARPA Friuli Venezia Giulia	2
Università di Napoli	1

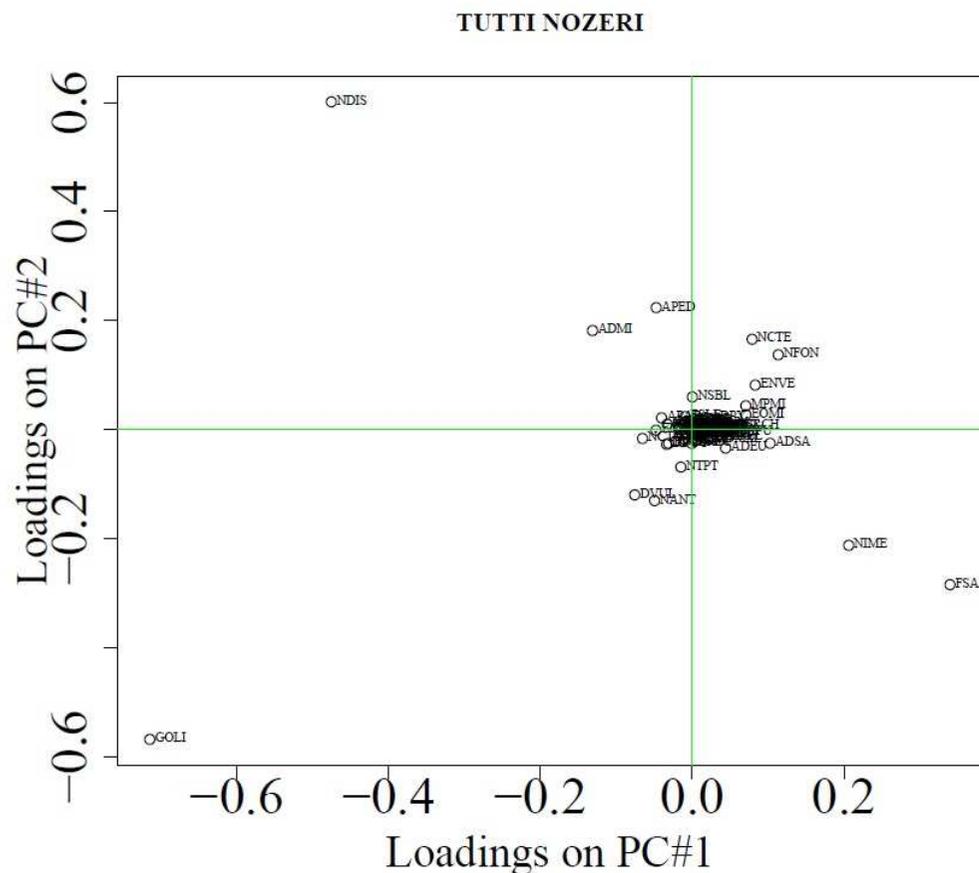
Per alcuni vetrini sono disponibili più conteggi: sarà quindi possibile tentare di discriminare tra:

- variabilità dovuta ai diversi operatori sullo stesso vetrino
- variabilità dovuta alla preparazione delle repliche del vetrino

Per quanto concerne il conteggio delle viste connettivali o l'uso del contrasto di fase, si è lasciata libertà di decidere: nel conteggio ogni operatore ha specificato le scelte fatte.

Ad ogni operatore è stato inoltre richiesto di riportare la modalità che viene seguita nella routine del proprio laboratorio di origine per il calcolo dell'ICMi (Omnidia, file SSI, altro), e di calcolare il valore di ICMi per il campione.

numero vetrino	num. operatori	num. conteggi	provenienza
1	3	5	ARPA Toscana e APPA Trento
2	-		
3	3	3	ARPA Lazio
4	1	1	studi privati e/o liberi professionisti
5	1	1	ARPA Lombardia
6	4	4	ARPA Veneto
7	2	2	ARPA Friuli Venezia Giulia
8	-		
9	-		
10	3	3	ARPA Lazio
11	-		
12	1	1	ARPA Lombardia
13	2	2	studi privati e/o liberi professionisti e UniNa
14	7	12	ARPA Toscana
15	2	2	ARPA Sicilia
16	2	2	ARPA Umbria
17	1	1	ARPA Lombardia
18	1	1	ARPA Lombardia
19	-		
20	1	1	ARPA Marche
21	1	1	ARPA Emilia Romagna
22	-		
23	1	1	APPA Bolzano
24	1	1	ARPA Lombardia
25	1	1	ARPA Puglia
26	1	4	studi privati e/o liberi professionisti
27	7	7	ARPA Piemonte
28	1	1	ARPA Lombardia
29	2	2	APPA Trento
30	1	1	ARPA Umbria
totale	50	60	



Dalle prime prove utilizzando la PCA sembra che la maggior parte dei conteggi e le identificazioni effettuate dagli operatori siano state simili tra loro (la variabilità della PCA è del 24%).

I dati permettono inoltre di individuare alcune specie di diatomee, soprattutto appartenenti al genere *Achnantheidium*, *Nitzschia* e *Cymbella*, che sono problematiche per la loro identificazione e che possono essere confuse tra di loro, ad esempio ADMI e ADSA, NDIS e NIME, ENMI ed ENVE.

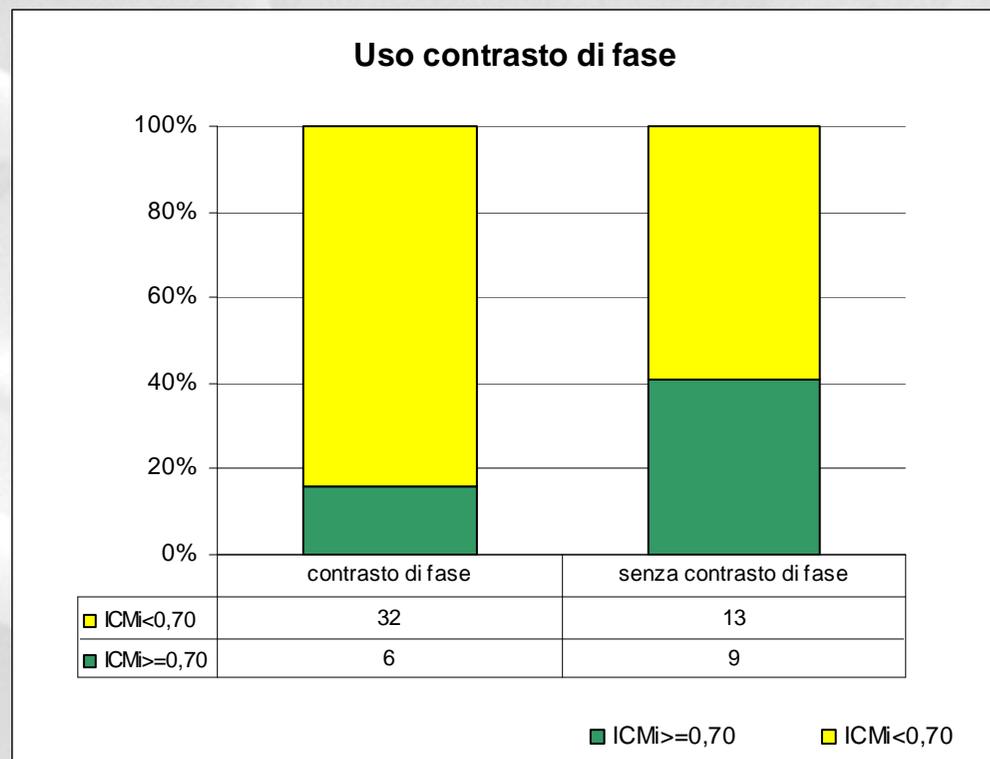
Nelle prossime settimane verranno effettuate nuove analisi statistiche, anche grazie alla collaborazione di una ricercatrice della Fondazione Bruno Kessler di Trento che si è gentilmente resa disponibile a collaborare.

Per quanto riguarda i risultati dell'applicazione dell'indice ICMi, analizzando il dataset si osserva un valore medio pari a **0.67 ± 0.03**, che corrisponde ad una **classe di qualità sufficiente**. Analizzando i dati più in dettaglio, si possono fare due considerazioni distinte:

In merito **all'uso del contrasto di fase**, si può osservare come tra i 22 operatori che **non** hanno fatto uso del **contrasto**, il **40,9%** ha ottenuto una classificazione del campione in **stato buono**.

Tra i 38 operatori che hanno usato il **contrasto di fase**, questa percentuale si riduce al **16,2%**.

Questa differenza è probabilmente attribuibile al fatto che coloro che utilizzano il contrasto di fase sono in grado di individuare un numero maggiore di valve caratterizzate da dimensioni piccole e struttura diafana, che sono difficilmente distinguibili in chiaro, soprattutto per operatori poco esperti. Come già accennato in precedenza, le specie con queste caratteristiche sono ottimi indicatori di trofia, quindi il loro ritrovamento nel campione fa abbassare il valore dell'ICMi



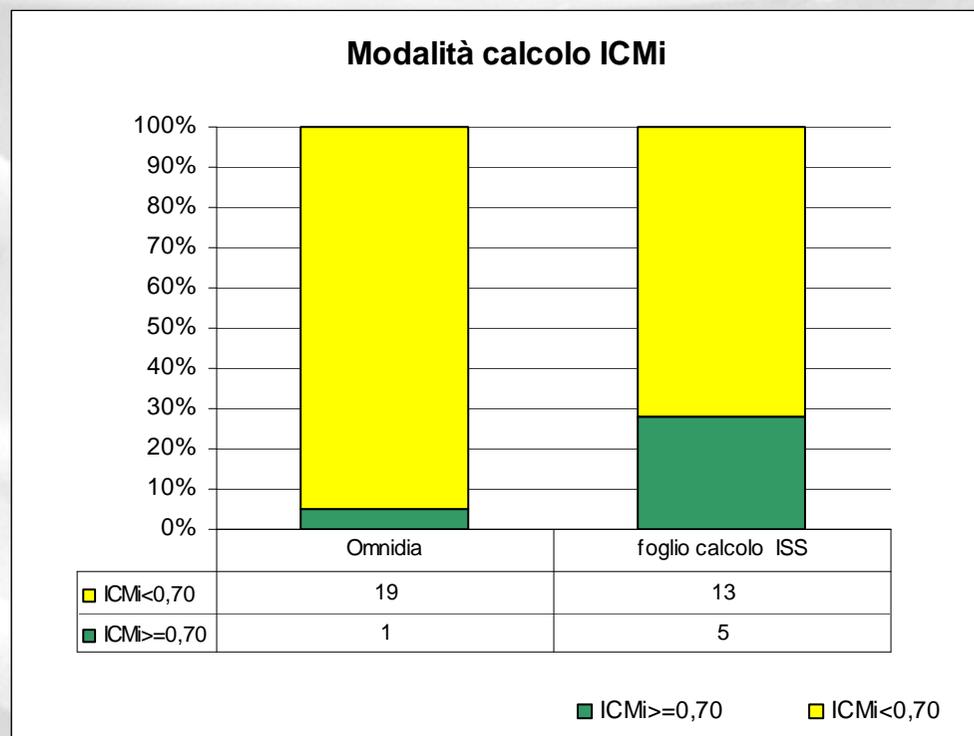


In merito alla **modalità che è stata seguita per il calcolo dell'ICMi**, per escludere la variabilità dovuta all'uso o meno del contrasto di fase, sono stati selezionati solo i 38 operatori che hanno fatto uso del contrasto di fase.

Tra di essi, sono stati distinti coloro che hanno utilizzato il foglio di calcolo fornito dall'ISS e coloro che hanno utilizzato il software OMNIDIA. Si può osservare come tra i 18 operatori che hanno utilizzato il **foglio di calcolo ISS il 28%** ha ottenuto una classificazione del campione in **stato buono**. Tra i 20 operatori che hanno usato il **software OMNIDIA**, questa percentuale si riduce al **5%**.

Questa differenza è probabilmente attribuibile al fatto che il database di OMNIDIA comprende i valori indicatori di un numero maggiore di specie; infatti negli ultimi due-tre anni molte diatomee che venivano attribuite ad una sola specie sono state distinte in più specie nuove, che sono state inserite in OMNIDIA

Solo operatori con contrasto di fase



CONCLUSIONI

- Per molte delle specie identificate (23), soprattutto nel primo esercizio di intercalibrazione, sono ancora sconosciuti i valori dei parametri per il calcolo dell'indice TI e in qualche caso mancano anche quelli dell'IPS, necessari per rendere più corretta la classificazione tramite applicazione dell'ICMi che comunque risulta essere nel suo complesso un indice robusto (Prygiel et al., 2002; Lavoie et al., 2005; Kahlert et al., 2009, 2012).
- Resta comunque evidente che cercare di riconoscere e considerare nel conteggio anche le viste connettivali e **utilizzare il contrasto di fase** rimane un aspetto molto importante. Infatti, anche altre ricerche (Kahlert et al., 2009, 2012) hanno rilevato che ai fini del calcolo dell'indice diatomoico pesa molto di più utilizzare la stessa modalità di conteggio (numero totale di individui conteggiati, considerazione delle viste connettivali, frustuli rotti riconosciuti o meno) piuttosto che seguire le stesse convenzioni di nomenclatura (con riferimento alla sinonimia).
- Per queste ragioni **esercizi di interconfronto e corsi sull'identificazione e tassonomia delle diatomee dovrebbero essere incoraggiati e regolarmente organizzati** in Italia al fine di armonizzare e aggiornare le conoscenze degli operatori che svolgono il biomonitoraggio dei corsi d'acqua. Inoltre sarebbe indispensabile elaborare un maggior numero di atlanti o guide per il riconoscimento delle diatomee più frequenti e caratteristiche **nelle diverse idroecoregioni** del territorio italiano.



GRAZIE PER L'ATTENZIONE



Siamo particolarmente grati ai ricercatori **Luc Ector** e **Carlos E. Wetzel** del **Public Research Centre – Gabriel Lippmann, Department of Environment and Agro-biotechnologies (EVA) of Luxembourg** per la loro attenta e scrupolosa analisi al microscopio elettronico del campione utilizzato per questo ring-test e per tutti i loro consigli e aggiornamenti sulla tassonomia delle diatomee.