



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

Protocolli per il campionamento e la determinazione degli
elementi di qualità biologica e fisico-chimica nell'ambito dei
programmi di monitoraggio ex 2000/60/CE delle acque di
transizione

Dicembre 2008

EI-Pr-TW-Protocolli Monitoraggio-03.05

Protocolli per il campionamento e la determinazione degli elementi di qualità biologica e fisico-chimica nell'ambito dei programmi di monitoraggio ex 2000/60/CE delle acque di transizione

- SOMMARIO -

PREMESSA E SCOPO DEL DOCUMENTO	1
1. Il percorso logico per la progettazione del monitoraggio nei corpi idrici di transizione	4
2. L'analisi delle pressioni per la selezione degli elementi di qualità biologica da includere nel monitoraggio operativo	8
3. Elementi di qualità biologica	11
3.1. Fitoplancton	11
3.1.1. Individuazione degli habitat presenti	11
3.1.2. Habitat da monitorare	11
3.1.3. Definizione dello sforzo di campionamento	11
3.1.4. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento	12
3.1.5. Identificazione della griglia temporale di campionamento	12
3.1.6. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni	12
3.1.7. Parametri da determinare	13
3.1.8. Metodi di analisi.....	13
3.2. Macrofite (macroalghe ed angiosperme)	14
3.2.1. Individuazione degli habitat presenti	14
3.2.2. Habitat da monitorare	14
3.2.3. <i>Macroalghe</i>	14
3.2.3.1. Definizione dello sforzo di campionamento	14
3.2.3.2. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento	15
3.2.3.3. Identificazione della griglia temporale di campionamento	15
3.2.3.4. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni	15
3.2.3.5. Parametri da determinare	16
3.2.3.6. Metodi di analisi.....	17
3.2.4. <i>Angiosperme</i>	17
3.2.4.1. Definizione dello sforzo di campionamento	17
3.2.4.2. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento	17
3.2.4.3. Identificazione della griglia spaziale di campionamento.....	17
3.2.4.4. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni	17
3.2.4.5. Parametri da determinare	18
3.2.4.6. Metodi di analisi.....	19
3.3. Macroinvertebrati bentonici.....	20
3.3.1. Individuazione degli habitat presenti	20

3.3.2.	Habitat da monitorare	20
3.3.3.	Definizione dello sforzo di campionamento	20
3.3.4.	Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento	21
3.3.5.	Identificazione della griglia temporale di campionamento	21
3.3.6.	Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni	21
3.3.7.	Parametri da determinare	21
3.3.8.	Metodi di analisi.....	21
3.4.	Fauna ittica	23
3.4.1.	Il ruolo della pesca professionale nel monitoraggio ambientale	23
3.4.2.	Individuazione degli habitat presenti	24
3.4.3.	Habitat da monitorare	25
3.4.4.	Definizione dello sforzo di campionamento	25
3.4.5.	Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento	25
3.4.6.	Identificazione della griglia temporale di campionamento	25
3.4.7.	Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni	26
3.4.8.	Parametri da determinare	27
4.	Elementi di qualità fisico-chimica e idromorfologica	28
4.1.	Individuazione degli habitat presenti e selezione degli habitat da monitorare	28
4.2.	Definizione dello sforzo di campionamento	28
4.3.	Metodiche di campionamento e trattamento del campione	28
4.4.	Parametri da determinare	29
4.5.	Metodi di analisi.....	31
BIBLIOGRAFIA		33

PREMESSA E SCOPO DEL DOCUMENTO

Il presente documento contiene i protocolli da adottare nella progettazione ed attuazione dei programmi di monitoraggio per le acque di transizione, in conformità a quanto dettato dalla Direttiva 2000/60/CE (Direttiva Europea Quadro sulle Acque).

Per la protezione e la gestione sostenibile delle acque la Direttiva pone l'accento sul controllo dello stato ecologico dei corpi idrici considerati recettori finali di potenziali inquinanti. La classificazione dello stato ecologico avviene attraverso il rapporto (EQR: *Ecological Quality Ratio*) tra gli elementi di qualità misurati nel corpo idrico e le condizioni di riferimento caratteristiche del tipo corrispondente. Gli elementi di qualità sono definiti principalmente attraverso strumenti biologici, espandendo il concetto di bioindicatore al livello di comunità ed ecosistema.

Per le acque di transizione, la Direttiva indica cinque elementi biologici di qualità come strumenti per descrivere lo stato ecologico degli ecosistemi: fitoplancton, macrofitobenthos, angiosperme, macroinvertebrati bentonici e fauna ittica.

Il tema della definizione dello stato chimico (sostanze prioritarie) rappresenta un tema trasversale alle diverse categorie di corpo idrico; come tale pertanto verrà trattato e non è quindi esplicitamente oggetto di trattazione nel presente documento.

L'obiettivo del monitoraggio è quello di stabilire un quadro generale coerente ed esauriente dello stato ecologico delle acque all'interno di ciascun distretto idrografico, di classificare tutti i corpi idrici superficiali "individuati" e fornire una descrizione accurata dello stato delle acque superficiali come base per la gestione dell'ambiente acquatico. Inoltre, lo studio delle variazioni degli equilibri ecologici a lungo termine è indispensabile per distinguere le variazioni dello stato come risultato dei cicli naturali dalle variazioni risultanti dalle pressioni antropiche o dall'attuazione delle misure di recupero.

Si sottolinea pertanto che le attività di monitoraggio di cui ai presenti protocolli, pur mantenendo un rigore prettamente scientifico, hanno uno scopo operativo/gestionale e sono finalizzate agli obiettivi specifici della Direttiva. I documenti di riferimento sono il testo della Direttiva stessa, con particolare riferimento all'Allegato V, e l'insieme delle Linee Guida emesse durante il percorso di implementazione (CIS), con particolare riguardo alla Linea Guida n.7 relativamente specificatamente al monitoraggio.

I protocolli di campionamento e misura descritti nel presente documento costituiscono un riferimento fondamentale ed un indispensabile elemento di armonizzazione per la progettazione dei piani di monitoraggio ex art.8 della Direttiva su tutto il territorio nazionale.

Va sottolineato peraltro come sia indispensabile consentire un sufficiente grado di flessibilità nelle fasi di progettazione dei piani di monitoraggio. Infatti, per sua natura, un buon piano di monitoraggio deve essere sito-specifico, ovvero tenere conto delle caratteristiche dell'ambiente su cui si attua e del livello di conoscenze che di esso si hanno, e deve essere dinamico nel tempo, per adattarsi alle evidenze via via emerse. Ciò anche per consentire un utilizzo sempre mirato delle risorse disponibili.

Per le aree protette (Direttiva Uccelli, Direttiva Habitat, S.I.C.) i programmi di monitoraggio sono integrati per garantire anche il soddisfacimento di requisiti specifici derivanti dalle normative di riferimento.

La Direttiva individua due principali tipi di attività di monitoraggio: il monitoraggio di sorveglianza ed il monitoraggio operativo. Ad essi si aggiunge il monitoraggio di investigazione, che ha lo scopo specifico di investigare specifici processi e/o relazioni causa-effetto.

Il monitoraggio di sorveglianza prevede la misura di tutti gli elementi di qualità biologica, idromorfologica e fisico-chimica. Il monitoraggio di sorveglianza, oltre ad essere finalizzato all'integrazione e convalida dei dati sulla valutazione dell'impatto, definisce una base conoscitiva

dalla quale potranno essere desunti i protocolli per i successivi monitoraggi di sorveglianza ed operativi.

Il monitoraggio di sorveglianza si applica prevalentemente ai corpi idrici "non a rischio" e "probabilmente a rischio" ed è attuato 1 volta ogni 6 anni (ciclo di vita del Piano di Gestione).

Il monitoraggio operativo viene applicato ai corpi idrici "a rischio" e prevede la limitazione e l'indirizzo dell'indagine ai parametri più sensibili alle specifiche pressioni a cui il corpo idrico è soggetto (cfr. Cap.2). Le misure relative agli elementi di qualità biologica macrofite, macroinvertebrati bentonici e fauna ittica possono essere ripetute, conformemente a quanto richiesto dall'allegato V della Direttiva, ogni 3 anni, a meno che lo stato di qualità del corpo idrico identificato dal primo anno di monitoraggio non suggerisca di mantenere la cadenza annuale fino a raggiungimento di uno stato qualitativo soddisfacente.

I protocolli contenuti nel presente documento si applicano in linea generale sia al monitoraggio di sorveglianza che al monitoraggio operativo. Ove necessario e per i singoli elementi di qualità, viene specificato nel seguito del documento se esistono delle differenze fra i due tipi di monitoraggio, per quanto riguarda, ad esempio, frequenze di misura, densità di stazioni, parametri da misurare.

Il presente documento è organizzato, a parte questo breve capitolo introduttivo, nelle seguenti quattro parti:

- un capitolo che descrive il percorso logico da seguire per la progettazione dei piani di monitoraggio nelle acque di transizione;
- un capitolo che tratta il tema dell'analisi delle pressioni per indirizzare i programmi di monitoraggio operativo;
- un capitolo, articolato in paragrafi, che contiene i protocolli per i cinque elementi di qualità biologica;
- un capitolo che contiene i protocolli per gli elementi di qualità fisico- chimica, ed in parte idromorfologica, da misurare contestualmente agli elementi biologici.

I protocolli di monitoraggio contenuti nel presente documento sono stati predisposti a partire da un documento preliminare predisposto per conto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (MATM) con il coordinamento di ICRAM da un gruppo di lavoro composto dai seguenti docenti e ricercatori:

A. Basset – Università del Salento, S. Calvo – Università di Palermo, G. C. Carrada – Università Federico II - Napoli, A. Castelli – Università di Pisa, A. Cau – Università di Cagliari, E. Cecere – IAMC CNR, A. Franco – Università di Venezia Ca' Foscari, P. Franzoi – Università di Venezia Ca' Foscari, N. Galuppo – Università del Salento, F. Giovanardi _Icram, R. Girardi -Icram, M. Grieco – ISMAR CNR, G. Izzo - Enea, G. Massini – Enea, C. Lardicci _Università di Pisa, G. Marino -Icram, A. Mazzola – Università di Palermo, M. Mistri – Università di Ferrara, C. Munari – Università di Ferrara, G. Fulvio Russo – Università Parthenope _Napoli, L. Sabetta – Università del Salento, E. Saggiomo – Stazione Zoologica Anthon Dohrn - Napoli, N. Sechi – Università di Sassari, A. Sfriso – Università di Venezia Ca' Foscari, A. Signorini - Enea, D. Tagliapietra – ISMAR CNR, P. Torricelli – Università di Venezia Ca' Foscari, G. Trinchera - Icram, P. Viaroli – Università di Parma, S. Vizzini – Università di Palermo.

Il presente documento è stato redatto dal seguente gruppo di lavoro:

Coordinamento e aspetti generali:

Dr. A. Barbanti – Icram

D.ssa M. Penna – Icram

Ing. A. Bonometto – Icram

Fitoplancton:

Prof. G.C. Carrada – Università Federico II° - Napoli
Dr. A. Tornambè - Icram
Dr. F. Oteri - Icram

Macrofitobenthos:

Prof. P. Viaroli – Università di Parma
D.ssa E. Cecere – IAMC CNR
Dr. A. Sfriso – Università di Venezia Ca' Foscari
D.ssa P. Gennaro – Icram
Dott. M. Lenzi - Lab. Ecol. Lagunare e Acquacoltura (LEALab) OPL srl

Macroinvertebrati bentonici:

Prof. A. Basset - Università del Salento
Prof. A. Castelli – Università di Pisa
Prof. M. Mistri – Università di Ferrara
D.ssa C. Munari – Università di Ferrara
Dr. D. Tagliapietra – ISMAR CNR
D.ssa M. Penna – Icram
D.ssa B. Trabucco - Icram
Dr. P. Tomassetti - Icram
D.ssa Luisa Nicoletti - Icram

Fauna ittica:

Prof. A. Mazzola – Università di Palermo
D.ssa G. Marino - Icram
Prof. S. Cataudella - Università di Roma "Tor Vergata"
Prof. M. Scardi - Università di Roma "Tor Vergata"
Dr. L. Tancioni – Università di Roma "Tor Vergata"
Dr. P. Franzoi – Università di Venezia Ca' Foscari
Prof. A. Cau – Università di Cagliari
Dr. G. La Mesa - Icram
Dr. U. Scacco - Icram

Parametri fisico-chimici e idromorfologici:

Dr. S. Porrello – Icram
Sig.ra E. Persia - Icram
Ing. A. Bonometto – Icram
Dr. M. Lenzi – Lab. Ecol. Lagunare e Acquacoltura (LEALab) OPL srl

I protocolli di monitoraggio illustrati in questo documento saranno soggetti a revisione con cadenza biennale, ovvero quando la progressiva attuazione dei programmi di monitoraggio e la definizione del sistema di classificazione nazionale di stato ecologico lo renderanno necessario.

La presente versione del Protocollo (EI-Pr-TW-Protocolli Monitoraggio-03.05) aggiorna e modifica rispetto alla versione precedente le metodologie di monitoraggio degli elementi di qualità biologica "Macroalghe" e "Fanerogame".

1. Il percorso logico per la progettazione del monitoraggio nei corpi idrici di transizione

Il percorso logico complessivo da seguire per la progettazione del monitoraggio nei corpi idrici di transizione è rappresentato nel diagramma di flusso della figura 1.

Il primo blocco del diagramma di flusso contiene attività di base da svolgersi per l'individuazione dei corpi idrici da sottoporre a monitoraggio. Queste attività, dall'individuazione della categoria alla definizione dei tipi e dei corpi idrici, al raggruppamento di corpi idrici simili ai fini del monitoraggio, sono illustrate in dettaglio in altri documenti e non verranno qui ripresi, se non per una loro breve sintesi nella parte seguente di questo paragrafo.

Il secondo blocco elenca invece le attività da eseguire per la progettazione vera e propria dei piani di monitoraggio, sviluppate nel presente documento.

Il monitoraggio di sorveglianza ed operativo dovrà essere condotto considerando il corpo idrico come unità fisica fondamentale, essendo il fine ultimo e principale del monitoraggio la classificazione del corpo idrico ai sensi della Direttiva.

A sua volta, il corpo idrico appartiene ad uno dei "tipi" definiti dal sistema nazionale di tipizzazione delle acque di transizione, definito in sintonia con gli indirizzi del Gruppo Mediterraneo di Intercalibrazione Geografica (MED-GIG).

Un'area identificata con un'appartenenza ad un tipo diventa automaticamente un corpo idrico a meno che non si riconoscano al suo interno porzioni significative interessate da pressioni antropiche rilevanti, che possono dare luogo ad uno stato chimico e/o ecologico diverso dalle aree circostanti, con particolare riferimento al passaggio dallo stato moderato allo stato buono. In questo caso, più corpi idrici possono essere individuati all'interno del medesimo tipo.

Il limite dimensionale inferiore di un corpo idrico di transizione è posto pari a 0.5 km², pur se è consentito alle Regioni di definire come "corpi idrici" ai sensi della direttiva anche ambienti con dimensioni inferiori, qualora sussistano motivazioni rilevanti ai fini della conservazione di habitat prioritari, eventualmente già tradotte in idonei strumenti di tutela, in applicazione di direttive Europee o disposizioni nazionali o regionali, o qualora sussistano altri motivi rilevanti che giustificano questa scelta. Fra essi possono essere citati:

- l'appartenenza totale o parziale ad aree protette;
- la specifica valenza ecologica;
- la presenza di aree considerabili come siti di riferimento;
- la rilevanza socio-economica;
- l'esistenza di elementi di pressione specifici e distinti;
- l'elevata influenza sui corpi idrici circostanti.

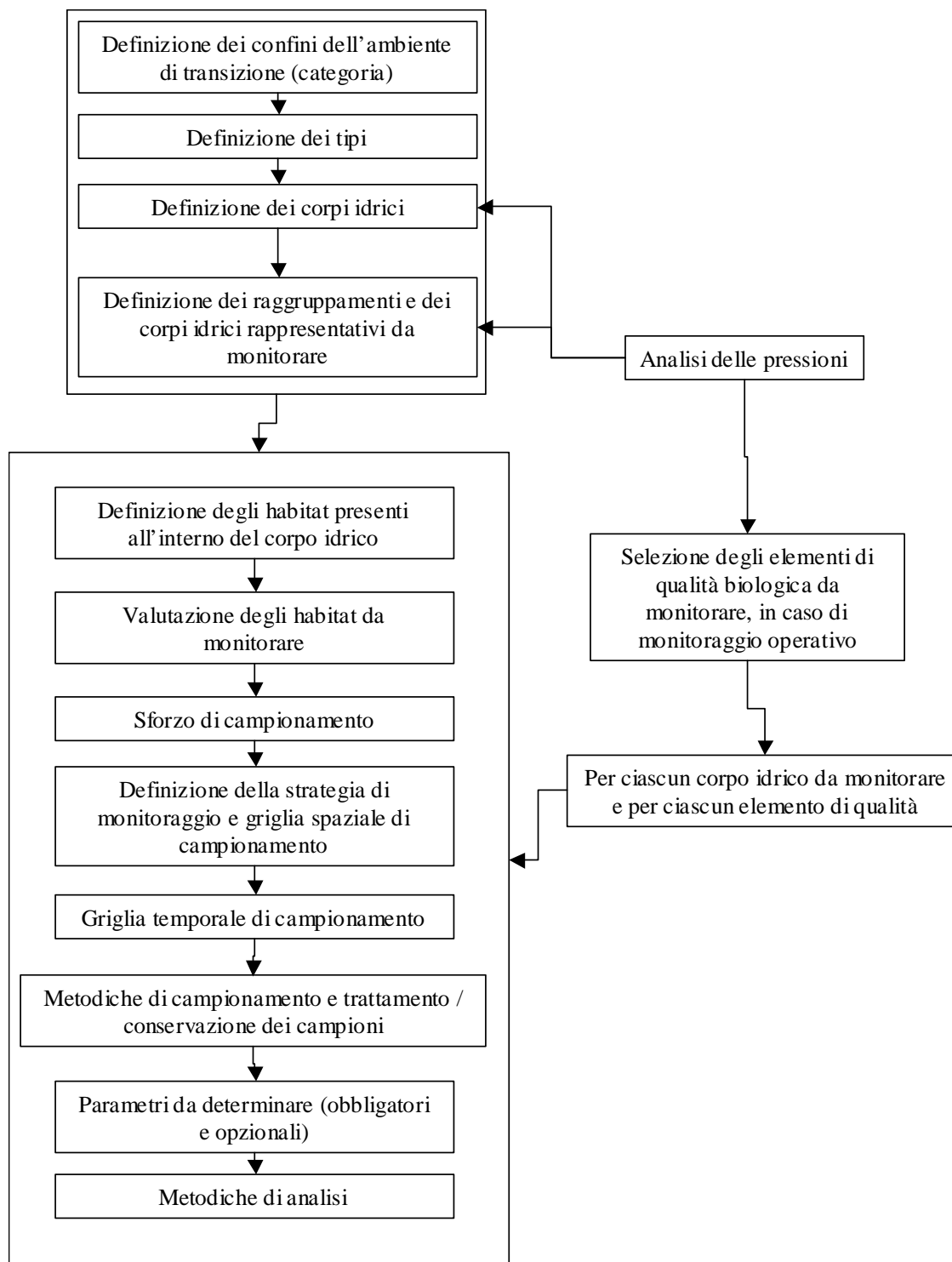


Figura 1 – Percorso logico per la progettazione dei piani di monitoraggio.

Per una migliore utilizzazione delle risorse, il monitoraggio dei corpi idrici potrà essere effettuato su un sottoinsieme di corpi idrici, a valle di un processo di raggruppamento di corpi idrici con caratteristiche simili.

I criteri di raggruppamento consigliati sono i seguenti:

1. tipo di corpo idrico comune;
2. tipo e ampiezza delle pressioni paragonabili;
3. sensibilità alle pressioni paragonabile;

4. appartenenza alla stessa categoria di rischio;
5. similarità di habitat per tipo ed estensione;
6. obiettivi di qualità da raggiungere (ex art.4) comuni.

Parallelamente al percorso di individuazione dei corpi idrici e di progettazione del monitoraggio, viene effettuata, in fase di caratterizzazione del bacino idrografico, una analisi delle pressioni presenti. Come meglio specificato al capitolo 2, sulla base di tale analisi si determina la classe di rischio del corpo idrico e conseguentemente si determinano il tipo di monitoraggio da applicare a ciascun corpo idrico (sorveglianza/operativo) e gli elementi di qualità da inserire nel monitoraggio operativo.

Una volta individuati i corpi idrici da sottoporre a monitoraggio, per ciascuno di essi e per ciascun elemento di qualità biologica e fisico-chimica, dovranno essere:

- individuati gli habitat presenti all'interno del corpo idrico;
- selezionati gli habitat da sottoporre a monitoraggio;
- definito lo sforzo di campionamento;
- definita la strategia di monitoraggio e la griglia spaziale di campionamento;
- definita la griglia temporale di campionamento;
- definite le metodiche di campionamento e trattamento dei campioni;
- definiti i parametri da determinare (obbligatori e opzionali);
- definite le metodiche di analisi.

Nei paragrafi dei capitoli 3 e 4 che seguono tutti questi aspetti sono definiti in dettaglio ed in modo specifico per ciascun elemento di qualità.

Lo sforzo di campionamento definito nel presente documento, variabile a seconda dell'elemento di qualità biologica e del numero e dimensione degli habitat presenti nel corpo idrico, garantisce dal punto di vista scientifico e per un'applicazione generale una adeguata conoscenza dello stato qualitativo del corpo idrico medesimo, ai fini di produrre una corretta ed affidabile classificazione di stato ecologico.

In considerazione dei dati già disponibili e delle caratteristiche specifiche dei singoli corpi idrici da monitorare, le singole Regioni potranno valutare l'opportunità di modificare e/o semplificare lo sforzo di campionamento previsto nel presente documento.

Oltre a quanto specificato per i singoli elementi di qualità, esistono alcune regole generali che si raccomanda vengano seguite nella progettazione dei piani di monitoraggio:

- ove vengano individuati all'interno dei corpi idrici dei potenziali "siti di riferimento" (cfr. documento "Guida alla tipizzazione dei corpi idrici di transizione ed alla definizione delle condizioni di riferimento ai sensi della Direttiva 2000/60/CE" - ICRAM – giugno 2007), essi dovranno essere inseriti all'interno dei programmi di monitoraggio, di sorveglianza o operativi che siano, per consentire acquisire misure sperimentali delle "condizioni di riferimento" per i diversi elementi di qualità.
- pur nella necessità di soddisfare le esigenze specifiche stabilite dai protocolli relativi ai diversi elementi di qualità, si suggerisce che, ovunque possibile, le griglie spaziali e temporali di campionamento siano sovrapposte. Ciò sia per ottenere una valutazione integrata dello stato dell'ecosistema, sia per minimizzare lo sforzo operativo;

- nel posizionamento di dettaglio delle stazioni di campionamento e misura si suggerisce di considerare come uno dei criteri preferenziali quello dato dall'esistenza di stazioni di monitoraggio pregresse;
- qualora esistano rilievi recenti ed estesi su uno o più elementi di qualità, in particolare sugli elementi di qualità biologica, si raccomanda di tenerne conto al meglio nel nuovo piano di monitoraggio, in modo da evitare inutili duplicazioni ed in ogni caso da valorizzare al meglio il patrimonio informativo disponibile.

Per tutte le attività di campo, siano esse relative agli elementi di qualità biologica o agli elementi di qualità fisico-chimica ed idromorfologica a supporto dovranno essere redatte "schede di campo" i cui formati specifici saranno definiti dai singoli Enti attuatori ma i cui contenuti di minima dovranno essere i seguenti:

- Identificativo stazione;
- Identificativo del corpo idrico;
- Identificativo dell'habitat;
- Elemento di qualità biologica campionato;
- Coordinate;
- Data e ora del prelievo;
- Nome operatore;
- Lagune microtidali: indicazione del livello di marea;
- Foci fluviali: indicazione di portata;
- Condizioni meteo climatiche;
- Profondità della stazione;
- Quantitativi campionati;
- Misure specifiche in relazione all'elemento di qualità biologica;
- Modalità di trattamento e conservazione del campione.

2. L'analisi delle pressioni per la selezione degli elementi di qualità biologica da includere nel monitoraggio operativo

L'analisi delle pressioni e degli impatti è prevista dalla Direttiva all'art. 5 per la caratterizzazione iniziale dei distretti idrografici. L'allegato II specifica che gli Stati membri devono raccogliere e tenere aggiornate informazioni sul tipo e la grandezza delle pressioni antropiche significative cui i corpi idrici superficiali di ciascun distretto idrografico rischiano di essere sottoposti ed effettuare una valutazione della vulnerabilità dello stato dei corpi idrici superficiali rispetto alle pressioni individuate.

L'analisi delle pressioni, come già evidenziato in figura 1, si riflette nella programmazione del monitoraggio in diverse fasi:

- definizione dei corpi idrici;
- individuazione dei corpi idrici a rischio di non raggiungere gli obiettivi fissati e quindi definizione del tipo di monitoraggio tendenzialmente da attuare (sorveglianza o operativo);
- raggruppamento dei corpi idrici (la presenza di pressioni paragonabili è uno dei criteri indicati);
- selezione degli elementi di qualità da monitorare nei corpi idrici soggetti a monitoraggio operativo;
- posizionamento di dettaglio delle stazioni di misura.

Il corpo idrico è l'elemento fisico di riferimento sul quale si applica il monitoraggio e si definisce lo stato ecologico. Al fine di ottenere una classificazione il più possibile rappresentativa della qualità degli ecosistemi acquatici, i corpi idrici devono essere il più possibile omogenei dal punto di vista dello stato ecologico, in modo tale che un "corpo idrico" possa essere assegnato a una singola classe con sufficiente affidabilità e precisione. La prima individuazione dei corpi idrici viene fatta sulla base dell'analisi delle pressioni e dei dati pregressi; durante il primo anno di monitoraggio è importante evidenziare e quantificare possibili eterogeneità dello stato all'interno dei corpi idrici, che possono portare, in una logica iterativa, alla revisione della delimitazione dei corpi idrici stessi.

Attraverso le informazioni sulle attività antropiche presenti nel bacino idrografico, delle pressioni e impatti da esse derivanti e della vulnerabilità dei corpi idrici identificati, si ottiene una stima del rischio che un corpo idrico raggiunga o meno gli obiettivi di qualità fissati, sulla base della quale ogni corpo idrico viene assegnato a una delle tre categorie di rischio ("a rischio", "probabilmente a rischio", "non a rischio"). Come già anticipato in premessa, la categoria di rischio determina il tipo di monitoraggio che si applica ai corpi idrici: monitoraggio di sorveglianza, con misura di tutti gli elementi di qualità biologica sui corpi idrici "non a rischio" e "probabilmente a rischio", monitoraggio operativo sui corpi idrici considerati a rischio di non raggiungere gli obiettivi di qualità fissati.

La Direttiva 2000/60/CE, all'allegato V paragrafo 1.3, specifica che per i programmi di monitoraggio operativo devono essere selezionati *"i parametri indicativi dell'elemento o degli elementi di qualità biologica più sensibili alle pressioni cui sono esposti i corpi idrici"*. Questo permette di focalizzare il monitoraggio su un insieme di parametri ristretto, ottimizzando le risorse sulla base delle caratteristiche del territorio e delle sue criticità.

Una buona analisi delle pressioni che insistono sul corpo idrico ed una adeguata conoscenza della relazione tra pressione e stato per i vari elementi di qualità biologica sono quindi alla base della programmazione del monitoraggio operativo. Tale relazione, oltre ad indirizzare la selezione degli elementi biologici da monitorare, deve essere in grado anche di fornire in prospettiva indicazioni sull'efficacia delle misure attuate, evidenziando il non deterioramento ed il miglioramento dello stato ecologico dei corpi idrici.

Nell'applicazione di questo approccio per la programmazione del monitoraggio operativo si devono considerare attentamente alcuni aspetti:

- **L'analisi delle pressioni e degli impatti potrebbe non essere completa. Limitando il monitoraggio ad un solo elemento di qualità biologica potrebbero non manifestarsi effetti di pressioni non considerate, con il rischio di una errata valutazione dello stato ecologico.**
- **Può risultare difficile individuare relazioni tra pressione – stato del singolo elemento di qualità affidabili e valide in linea generale. L'indicatore più sensibile potrebbe variare in relazione all'intensità della pressione e alle caratteristiche specifiche del corpo idrico e degli habitat presenti.**
- **I corpi idrici sono frequentemente interessati dalla presenza di pressioni multiple, di cui può essere difficile definire la rilevanza relativa o assoluta e rispetto alle quali gli elementi di qualità più sensibili possono essere diversi. Limitando il monitoraggio all'elemento di qualità più sensibile alla pressione prevalente, si correrebbe il rischio di non vedere gli effetti delle altre pressioni, che comunque concorrono allo stato ecologico del corpo idrico.**

In linea generale è quindi consigliabile, ferme restando le valutazioni specifiche da fare caso per caso su ciascun corpo idrico, inserire nei programmi di monitoraggio operativo più di un elemento di qualità, al fine di giungere ad una maggiore confidenza nella valutazione dello stato ecologico dei corpi idrici. E' altresì consigliato utilizzare il monitoraggio di sorveglianza su un numero ridotto di corpi idrici a rischio scelti per la loro rappresentatività, per validare il modello di rischio utilizzato e verificare le relazioni pressioni-stati ipotizzate in sede di programmazione del monitoraggio operativo, su tutti gli elementi di qualità biologica.

Nella tabella 1 viene riportata una indicazione di carattere generale sugli elementi di qualità che è opportuno considerare nella programmazione del monitoraggio operativo, in relazione alle pressioni più rilevanti che insistono sul corpo idrico oggetto del monitoraggio. Gli elementi di pressione considerati e le loro relazioni con gli elementi di qualità biologica sono quelle tipicamente presenti nei corpi idrici di transizione. Le relazioni evidenziate sono da verificare caso per caso considerando le caratteristiche sito-specifiche di ciascun corpo idrico o di ciascun raggruppamento di corpi idrici. Nella tabella, la relazione fra pressione ed elemento di qualità biologica è classificata qualitativamente a 3 diversi livelli:

- la casella vuota indica una relazione assente o almeno non tipicamente presente, sia di tipo diretto che di tipo indiretto;
- la casella contrassegnata con una 'X' indica la presenza di una relazione possibile;
- la casella contrassegnata con 'XX' indica la presenza di una relazione probabile, generalmente di tipo diretto, ed individua quindi gli elementi che, salvo particolari specificità del corpo idrico, dovranno essere tendenzialmente considerati nel monitoraggio operativo.

Individuati gli elementi di qualità biologica da monitorare per ciascun corpo idrico, il posizionamento di dettaglio delle stazioni di campionamento deve tenere conto, oltre che della variabilità di habitat interna al corpo idrico (cap. 3), anche degli elementi di pressione antropica presenti. Ferma restando la necessità di definire l'intensità delle pressioni e il loro impatto sullo stato ecologico, si deve tenere presente che il monitoraggio deve fornire una visione complessiva della qualità del corpo idrico, non solo di evidenziare gli elementi di maggior criticità.

PRESSIONE	FITOPLANCTON	MACROALGHE	ANGIOSPERME	INVERTEBRATI BENTONICI	PESCI
SOSTANZE INQUINANTI					
ARRICCHIMENTO DI NUTRIENTI	XX	XX	X		
CARICO ORGANICO				XX	X
SOSTANZE PRIORITARIE E INQUINANTI SPECIFICI				XX	X
IDRO-MORFOLOGIA					
REGOLAZIONE / ALTERAZIONE DEI FLUSSI (dighe, canali artificiali, strutture artificiali, diversioni, ecc.)	X	X	X		X
STRUTTURA/STABILITÀ DEL SUBSTRATO	X	X	X	XX	X
PRESSIONI BIOLOGICHE					
PESCA COMMERCIALE				X	XX
MOLLUSCHICOLTURA			X	XX	

Tabella 1. Analisi delle relazioni qualitative fra sorgenti di pressione ed elementi di qualità biologica nei corpi idrici di transizione.

3. Elementi di qualità biologica

3.1. Fitoplancton

3.1.1. Individuazione degli habitat presenti

Per la definizione di un piano di campionamento dei corpi idrici di transizione è necessaria una valutazione della loro eterogeneità interna, individuando gli habitat presenti e la loro distribuzione ed estensione.

Tale valutazione potrà essere eseguita, soprattutto nelle lagune di maggiore estensione e negli ambienti a maggiore eterogeneità, mediante l'utilizzo di rilievi diretti in campo da studi pregressi, nuovi sopralluoghi, analisi di immagini telerilevate ed *expert view*, che andranno usate nella collocazione spaziale delle stazioni di campionamento.

Nel caso le informazioni pregresse non siano sufficienti per la definizione degli habitat, potranno rendersi necessarie una serie di indagini speditive per la definizione degli stessi.

I parametri rilevanti per la definizione dell'habitat sono rappresentati dalla natura del substrato e dalla eventuale presenza di altri produttori primari (fanerogame/macroalghe):

	fanerogame sommerse	fanerogame emergenti	macroalghe	fondale nudo
fango (frazione limo-argillosa >50%)				
sabbia(frazione sabbiosa >50%)				
substrato duro				

Il numero di habitat potenzialmente presenti è dato quindi dalla combinazione dei criteri sopraesposti.

3.1.2. Habitat da monitorare

Per corpi idrici di dimensioni fino ad 1 km² dovrà essere monitorato l'habitat prevalente, mentre per i corpi idrici di dimensioni superiori ad 1 km² dovranno essere monitorati tutti gli habitat la cui estensione all'interno del corpo idrico è superiore al 20% della sua superficie totale, a meno che non sussistano delle evidenze rilevate dalle amministrazioni locali, che suggeriscano l'inserimento nella rete di monitoraggio anche di habitat di minori dimensioni relative.

3.1.3. Definizione dello sforzo di campionamento

In ciascun habitat oggetto di monitoraggio secondo quanto definito al paragrafo 2.1.2, dovranno essere posizionate le seguenti stazioni di campionamento sia per quanto attiene al monitoraggio di sorveglianza che per quanto attiene al monitoraggio operativo:

- Per gli habitat con area inferiore a 2.5 km² posizionare 2 stazioni di campionamento;
- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area 2.5 – 50 km², in aggiunta a quanto indicato al punto i) un'ulteriore stazione ogni 5 km² fino ad un massimo complessivo di 10 stazioni;

- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area > 50 km², come al punto ii) e aggiungere una stazione ogni 25 km² per superfici maggiori.

3.1.4. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento

Le stazioni di campionamento devono essere posizionate in maniera da poter evidenziare l'intrinseca variabilità interna all'habitat, sia in relazione al grado di confinamento e alla prossimità al mare aperto, che in relazione agli elementi di pressione antropica eventualmente presenti.

Il campionamento va eseguito sul livello d'acqua superficiale (0.2 - 0.5 m di profondità).

3.1.5. Identificazione della griglia temporale di campionamento

Per i corpi idrici di transizione non tidali il campionamento deve essere effettuato in fase di marea uscente, procedendo dalla foce verso il centro laguna o verso il monte fluviale; per i corpi idrici di transizione microtidali il campionamento va effettuato in marea di quadratura.

Sia per il **monitoraggio di sorveglianza** che per il **monitoraggio operativo** è da prevedersi un campionamento stagionale nei mesi di febbraio, maggio, agosto e novembre. La scelta del periodo è subordinata alle condizioni climatiche locali. Qualora il corpo idrico presenti uno stato trofico elevato, si potrà valutare di attuare nei mesi estivi un monitoraggio con frequenza mensile e di utilizzare sistemi di monitoraggio automatici.

3.1.6. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni

Strumentazione richiesta in campo:

- Borse termiche refrigerate ed oscurate;
- Bottiglia Ruttner o Niskin o in alternativa campionamento manuale con bottiglia oscurata raccogliendo un volume minimo di 250 ml;
- Bottiglie in plastica scura da 2000 ml (per Chl a);
- Fissativi (Lugol o altra sostanza non nociva per la salute umana);
- Bottiglie in vetro scuro con tappo ermetico da 250 ml per la conservazione dei campioni (per fitoplancton);
- Retino da plancton con maglia di 250 µm.

Protocollo di campionamento del fitoplancton su campo:

- Prelievo di campioni per l'analisi della componente fitoplanctonica minimo 250 ml;
- Conservazione: aggiunta di soluzione Lugol o, ove disponibile, altra sostanza conservante non nociva per la salute umana;
- Conservazione dei campioni in borse termiche adeguatamente refrigerate ed oscurate.

Protocollo di campionamento della Chl a su campo:

- Prelievo di 2000 ml per l'analisi della clorofilla;
- Travaso del campione d'acqua dalla bottiglie di prelievo alle bottiglie di plastica scura interponendo il retino da plancton con vuoto di maglia di 250 µm;
- Conservazione delle bottiglie oscurate al fresco e al riparo dai raggi solari.

I campioni di fitoplancton se conservati in Lugol dovranno essere analizzati entro 30 giorni dal prelievo.

Per ulteriori dettagli relativi alle modalità di campionamento e trattamento dei campioni di fitoplancton si faccia riferimento al Manuale ICRAM - MATT, (Cicero, Di Girolamo, 2001) – Scheda 11.

Per ulteriori dettagli relativi alle modalità di campionamento e trattamento dei campioni di Chl a e alla conservazione dei filtri si faccia riferimento al metodo descritto in Lazzara et al. (1990).

3.1.7. Parametri da determinare

Parametri obbligatori

Per stazione su 400 cellule:

- Composizione e abbondanza specifica del fitoplancton;
- Biomassa totale, come Chla;

Parametri opzionali

- Biomassa frazionata: pico (<2µm) nano (2 µm -20 µm) micro (>20 µm) come Chla;
- Dimensioni cellulari (biovolume) mediante analisi d'immagine.

3.1.8. Metodi di analisi

Per la CHL a:

Strumentazione di laboratorio per Chla (la filtrazione deve essere effettuata non oltre 1-2 ore dal prelievo del campione):

- apparato di filtrazione;
- pompa da vuoto;
- trappola per pompa da vuoto;
- filtri in fibra di vetro Whatman GF/F;
- spettrofotometro/fluorimetro;

Per la determinazione della clorofilla potranno essere usati sia il metodo fluorimetrico descritto in US EPA (1997), sia il metodo spettrofotometrico descritto nel manuale APAT IRSA-CNR (2003) e in Lazzara et al. (1990).

Per il Fitoplancton:

Strumentazione di laboratorio per fitoplancton:

- Microscopio ad inversione con ingrandimento di circa 400 x con camere di sedimentazione;
- Sistema analisi d'immagine

Per la determinazione del Fitoplancton fare riferimento al metodo descritto nel Manuale ICRAM - MATT, (Cicero, Di Girolamo, 2001) – Scheda 11.

Per la determinazione del biovolume delle specie di acque di transizione fare riferimento ai metodi descritti in Basset et al., 2006.

3.2. Macrofite (macroalghe ed angiosperme)

All'interno della voce "macrofite" sono raggruppati gli elementi di qualità biologica "macroalghe" e "angiosperme" previsti dall'allegato V della Direttiva 2000/60/CE per la definizione dello stato ecologico dei corpi idrici di transizione. I primi due passaggi del protocollo ("Individuazione degli habitat presenti" e "habitat da monitorare") sono comuni ai due elementi di qualità, mentre i passaggi successivi sono specifici e distinti per ciascuno di essi.

3.2.1. Individuazione degli habitat presenti

Per la definizione di un piano di campionamento dei corpi idrici di transizione è necessaria una valutazione della eterogeneità interna, individuando gli habitat presenti e la loro distribuzione ed estensione.

Tale valutazione potrà essere eseguita, soprattutto nelle lagune di maggiore estensione e negli ambienti a maggiore eterogeneità, mediante l'utilizzo di rilievi diretti in campo da studi pregressi, nuovi sopralluoghi, analisi di immagini telerilevate ed expert view, che andranno usate nella collocazione spaziale delle stazioni di campionamento.

Nel caso che le informazioni pregresse non siano sufficienti per la definizione degli habitat potranno rendersi necessarie una serie di indagini speditive per la definizione degli stesse.

I parametri rilevanti per la definizione dell'habitat sono rappresentati dalla natura del substrato: substrato mobile e substrato duro. L'habitat di substrato mobile è rappresentato generalmente dal fondale lagunare (fondo incoerente nudo di natura fangosa, sabbiosa o mista, talvolta ricoperto da banchi di ostriche o da tanocenosi, oppure fondo incoerente stabilizzato da "matte" di fanerogame). L'habitat di substrato duro è rappresentato da pali, banchine, argini artificiali, dighe frangiflutti i e/o qualunque altro manufatto di origine antropica.

3.2.2. Habitat da monitorare

Premesso che le macroalghe fanno parte del macrofitobenthos e per definizione queste crescono almeno inizialmente aderenti ad un substrato duro, spesso rappresentato anche da conchiglie di molluschi od altri organismi con gusci calcarei, il substrato ottimale per monitorare la vegetazione è quello duro. Tuttavia, negli ambienti lagunari l'habitat naturale prevalente è rappresentato dal substrato mobile e spesso i substrati duri sono totalmente assenti. Pertanto le procedure di campionamento di seguito riportate sono da riferirsi prevalentemente ai substrati mobili naturali. I substrati duri vanno considerati solo quando sono presenti in modo significativo e con la loro presenza possono semplificare le operazioni di monitoraggio: ad esempio in presenza di fondali > di 2-3 metri o quando la vegetazione in questi substrati è assente per qualche fattore di stress come l'elevata torbidità.

3.2.3. Macroalghe

3.2.3.1. Definizione dello sforzo di campionamento

In ciascun habitat oggetto di monitoraggio secondo quanto definito al paragrafo 2.2.2, dovranno essere posizionate le seguenti stazioni di campionamento sia per quanto attiene al monitoraggio di sorveglianza che per quanto attiene al monitoraggio operativo:

- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area inferiore a 2.5 km²: 4 stazioni;
- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area 2.5 – 10 km², in aggiunta a quanto indicato al punto i) un'ulteriore stazione ogni 2.5 km²;
- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area 10 – 50 km², in aggiunta a quanto indicato al punto ii) disporre due stazioni aggiuntive ogni 10 km²;

- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area > 50 km², come al punto iii) e aggiungere tre stazioni per ogni ulteriori 25 km² (fino ad un massimo di 50 stazioni).

3.2.3.2. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento

Come già introdotto al paragrafo 2.2.3, il monitoraggio avviene in stazioni di campionamento distribuite in modo casuale all'interno dell'habitat da monitorare. In caso di fondali superiori ai 2-3 metri, se possibile, è meglio posizionare le stazioni di campionamento vicino a substrati duri che possono aiutare l'accrescimento delle macroalghe (pali, allevamenti di mitili, argini, dighe frangiflutti, etc.)

Con riferimento alle condizioni in cui svolgere il campionamento, per gli ambienti non tidali non esiste alcuna indicazione specifica, così come per le macroalghe sessili negli ambienti microtidali. Nel caso delle pleustofite in ambienti microtidali è suggerito di operare in marea di quadratura, ma per l'impossibilità pratica di operare in tali condizioni a causa del numero elevato delle stazioni che richiedono campionamenti durante tutta la giornata e per più giorni consecutivi, delle condizioni meteo e della logistica, si può operare con qualsiasi marea poiché non ci sono differenze significative nell'operare in presenza di maree particolari se non per motivi di fondale. Invece è assolutamente determinante operare in condizioni di tempo buono per poter meglio valutare anche visivamente (sia dalla barca che in immersione) la struttura e la qualità delle associazioni vegetali.

3.2.3.3. Identificazione della griglia temporale di campionamento

Il campionamento per il **monitoraggio di sorveglianza** deve essere svolto 2 volte l'anno, ovvero all'inizio della primavera, in modo da raccogliere anche le specie invernali, e all'inizio dell'autunno in modo da raccogliere le specie estive. La scelta del periodo è subordinata alle condizioni climatiche locali.

Per ciò che attiene il **monitoraggio operativo**, il campionamento deve essere svolto 2 volte l'anno nei periodi di massima crescita (maggio-giugno) e di senescenza della vegetazione (settembre-ottobre). La scelta del periodo è subordinata alle condizioni climatiche locali.

3.2.3.4. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni

- Tecniche di campionamento e misura in campo

Valutazione delle specie presenti

Ai fini della stesura di una lista sistematica più o meno completa e dell'applicazione degli indici di qualità basati sulle macrofite attualmente utilizzati negli ambienti di transizione (Orfanidis et al., 2003; Sfriso et al., 2007) si suggerisce di effettuare una raccolta di campioni rappresentativi di macroalghe come segue:

a) Substrati mobili: la stazione di raccolta è rappresentata da un'area circolare di 20-30m di raggio. All'interno di quest'area vanno raccolti randomicamente mediante attrezzi (rastrello, rampone, forcione) manovrati dalla barca, 10 campioni rappresentativi delle specie macroalgali presenti. In caso di fondali maggiori di 2-3 metri si dovrà operare in immersione raccogliendo a mano il maggior numero di taxa visibilmente presenti.

b) Substrati duri: in tal caso si dovrà operare con la raccolta manuale del maggior numero di taxa visibilmente presenti. Si potrà operare in fase di bassa marea oppure in immersione. Le macroalghe devono essere raccolte possibilmente intere, avendo cura di prelevare gli esemplari con le basi di attacco al substrato.

Stima della copertura vegetale

La valutazione, a seconda del fondale dell'area da esaminare, dovrà essere effettuata direttamente dalla barca utilizzando un rastrello in caso di profondità fino a 2-3 metri oppure in immersione.

a) Substrati mobili: la stima della copertura vegetale va effettuata a due livelli.

Al primo livello va considerata l'area stazione nel suo insieme (20-30m di raggio) applicando la Visual Census Technique per valutare la percentuale globale di ricoprimento della biomassa o delle specie dominanti in toto. In caso di torbidità delle acque è possibile valutare la copertura totale in immersione o facendo un certo numero di saggi (almeno 10) con un rastrello per valutare la presenza/assenza della biomassa e riportarla percentualmente all'area esaminata (Sfriso, 2008a). Ovviamente per fondali superiori ai 2-3 metri bisognerà operare in immersione.

Al secondo livello va considerata la copertura dei taxa dominanti. Poiché le macroalghe, soprattutto nei fondi mobili, sono distribuite in modo del tutto casuale, ai fini della determinazione della copertura a livello di taxon non ha alcun senso utilizzare dei quadrati, che per quanto al loro interno diano risultati precisi questi poi non sono estrapolabili all'ambiente circostante a meno che non si operi in modo rigoroso facendo prima un'indagine visiva della biomassa presente. In tal caso è sufficiente raccogliere 3 campioni di biomassa con un rastrello e suddividere percentualmente i taxa dominanti. I dati verranno poi valutati in termini di copertura per m². In caso di profondità > di 2-3 metri verranno presi manualmente tre campioni in modo random.

b) Substrati duri: nel caso i substrati mobili non presentino biomasse, se possibile si analizzeranno i substrati duri circostanti. In tal caso, o si fanno alcune raschiature del fondale (almeno tre) con un rastrello, oppure si fa una stima in immersione valutando visivamente la copertura percentuale dei singoli taxa col metodo della Visual Census Technique. Ovviamente queste operazioni sono facilitate se si opera in fase di bassa marea.

- Metodiche di trattamento del campione in campo

La fissazione dei campioni prelevati va effettuata in acqua di mare aggiungendo una quantità di formalina tamponata in modo da ottenere una soluzione al 4% rispetto all'originale (ca. 40 ml per litro). Poiché tale sostanza è nociva per la salute umana è meglio usare il minor volume d'acqua (e quindi di formalina) possibile. Basta che le alghe siano appena un po' più che umide. I campioni vanno conservati in contenitori di adeguate dimensioni e con chiusura ermetica.

In laboratorio, prima della determinazione allo stereoscopio o al microscopio, i campioni vanno accuratamente lavati con acqua di mare in modo da eliminare il più possibile la formalina.

3.2.3.5. Parametri da determinare

Monitoraggio di sorveglianza:

- stima della copertura vegetale totale (CT) espressa in % rispetto all'area stazione considerata;
- stima della copertura dei taxa dominanti classificati a livello di genere (Ri) con ricoprimento >0.1% dei campioni raccolti;
- riconoscimento tassonomico di tutte le specie presenti;

Monitoraggio operativo:

- stima della copertura vegetale totale (CT) espressa in % rispetto all'area stazione considerata;
- stima della copertura dei taxa dominanti classificati a livello di genere (Ri) con ricoprimento >0.1% dei campioni raccolti ;
- riconoscimento tassonomico di tutte le specie presenti.

3.2.3.6. Metodi di analisi

Prima della determinazione in laboratorio, ciascun campione va estratto dal fissativo e lavato con acqua di mare. Tutte le operazioni vanno eseguite sotto cappa.

Si procede all'identificazione delle specie mediante microscopio ottico, chiavi dicotomiche e check list disponibili in letteratura e/o su supporti elettronici e siti web.

3.2.4. Angiosperme

3.2.4.1. Definizione dello sforzo di campionamento

In ciascun habitat oggetto di monitoraggio secondo quanto definito al paragrafo 2.2.2, dovranno essere posizionate le seguenti stazioni di campionamento sia per quanto attiene al monitoraggio di sorveglianza che per quanto attiene al monitoraggio operativo:

- per gli habitat oggetto di monitoraggio con area inferiore a 10 km²: 2 parcelle di campionamento (aree con raggio di circa 15-30 metri);
- per gli habitat oggetto di monitoraggio con area >10 km², in aggiunta a quanto indicato al punto precedente, 2 parcelle di campionamento ogni 10 km².

3.2.4.2. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento

Il campionamento sia per il **monitoraggio di sorveglianza** sia per il **monitoraggio operativo** deve essere svolto 1 volta l'anno, in estate. La scelta del periodo è subordinata alle condizioni climatiche locali.

3.2.4.3. Identificazione della griglia spaziale di campionamento

Poiché in un ambiente di transizione le fanerogame non sono disposte lungo la linea di costa come in mare, ma seguendo i bassi fondali e la morfologia locale, o sono disposte a macchia di leopardo, le parcelle di campionamento di cui al par.3.2.4.1 vanno posizionate all'interno dell'habitat in modo casuale.

Sulla parcella in esame, che salvo poche eccezioni solitamente non ha gradienti evidenti, va valutata la copertura totale col metodo della Visual Census Technique operando dalla barca o in immersione. Quindi, scegliendo coperture il più possibile omogenee vanno effettuate misure in 2 stazioni, una al centro della prateria ed una ai suoi bordi. In accordo col metodo di Sfriso & Ghetti (1998), simile a quello per le macroalghe, due campionamenti garantiscono un errore di misura inferiore al 10%. Con 5 repliche questo diviene inferiore al 5%. I dati vanno poi estrapolati a tutta l'area considerata tenendo conto della copertura globale.

3.2.4.4. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni

Misure nelle stazioni:

- Le misure vanno effettuate con un quadrato di dimensioni inferiori a quelle di 60x60 cm usato per *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile (Cormaci et al., 2003) poiché le specie lagunari sono più piccole e presentano un'altissima densità di fasci fogliari (fino a 14000 per m²). E' sufficiente una superficie di 20 per 20 cm, superficie che può essere ridotta ulteriormente in caso si sia in presenza di *Nanozostera noltii* (Hornemann) Tomlinson et Posluzny.
- Nel caso di queste piante va campionata sia la parte epigea (fasci fogliari) che quella ipogea (rizomi e radici). I campioni ipogei debbono considerare una profondità che dipende dalla specie. Per *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, i cui rizomi e radici scendono in

profondità, i campioni di sedimento debbono essere prelevati fino a 30 cm di profondità. Per le altre specie bastano solo i primi 10 cm di sedimento superficiale.

Metodiche di trattamento campione in campo

- I campioni vanno setacciati per togliere i sedimenti, la macrofauna e le epifite, raccolti in sacchetti di polietilene e conservati in frigorifero a + 4 °C fino alle misure morfometriche da effettuare entro qualche giorno.
- In laboratorio i campioni vanno lavati con acqua di rubinetto per togliere i sali, poi vengono suddivisi separando i fasci fogliari dai rizomi + radici e dalle parti morte (le parti annerite di rizomi e foglie non più vitali). Le tre frazioni vanno asciugate con carta da laboratorio e pesate separatamente. La somma delle tre frazioni ci dà la biomassa totale.
- Contemporaneamente vengono effettuate le misure fenologiche (lunghezza fasci, numero di foglie, larghezza foglie, numero di spatte fiorali se presenti, spessore rizomi su almeno 10 fasci fogliari).
- Una parte dei campioni va refrigerata ed essiccata per la determinazione del peso secco e del rapporto peso secco/peso fresco.
- Tutti i dati vanno riportati al m² tenendo conto sia della superficie campionata che della copertura globale dell'area di studio.

3.2.4.5. Parametri da determinare

Monitoraggio di sorveglianza

Caratteristiche della prateria in base a:

- riconoscimento tassonomico delle specie e indicazione del numero di specie che compongono la prateria (prateria pura: una sola specie; mista: più specie);
- stima della copertura totale della prateria e della copertura % delle specie dominanti;
- natura del substrato su cui è insediata la prateria;
- distribuzione delle piante sul fondo (omogenea/disomogenea);
- densità espressa in numero dei fasci fogliari nella superficie di riferimento;
- monitoraggio dei limiti della prateria (progressione/regressione);
- fenologia su 10 fasci fogliari.

Monitoraggio operativo

Caratteristiche della prateria in base a:

- riconoscimento tassonomico delle specie e indicazione del numero di specie che compongono la prateria (prateria pura: una sola specie; mista: più specie);
- natura del substrato su cui è insediata la prateria;
- distribuzione delle piante sul fondo (omogenea/disomogenea);
- stima della copertura totale della vegetazione e della copertura delle specie dominanti;
- densità espressa in numero dei fasci fogliari nella superficie di riferimento;
- monitoraggio dei limiti della prateria (progressione/regressione).

Per la metodologia dello studio delle fanerogame consultare il manuale APAT/SIBM/ICRAM (2003).

3.2.4.6. Metodi di analisi

Per la metodologia dello studio delle fanerogame consultare il manuale APAT/SIBM/ICRAM (2003) e Sfriso & Ghetti (1998). Ulteriori indicazioni per il campionamento e le misure di accrescimento di *Cymodocea nodosa* e *Nanozostera noltii* possono essere desunte da (Sfriso et al., 2004, 2008).

3.3. Macroinvertebrati bentonici

3.3.1. Individuazione degli habitat presenti

Per la definizione di un piano di monitoraggio dei corpi idrici di transizione è necessaria una valutazione della loro eterogeneità interna, individuando gli habitat presenti e la loro distribuzione ed estensione.

Tale valutazione potrà essere eseguita, soprattutto nelle lagune di maggiore estensione e negli ambienti a maggiore eterogeneità, mediante l'utilizzo di rilievi diretti in campo da studi pregressi, nuovi sopralluoghi, analisi di immagini telerilevate ed *expert view*, che andranno usate nella collocazione spaziale delle stazioni di campionamento.

In caso non siano disponibili sul corpo idrico informazioni pregresse che rendano possibile l'individuazione degli habitat, dovranno essere eseguiti nuovi rilievi, anche speditivi, con questo obiettivo specifico.

I parametri rilevanti per la definizione dell'habitat sono rappresentati dalla natura del substrato e dalla eventuale presenza di altri produttori primari (fanerogame/macroalghe):

	fanerogame sommerse	fanerogame emergenti	macroalghe	fondale nudo
fango (frazione limo-argillosa >50%)				
sabbia(frazione sabbiosa >50%)				
substrato duro				

Il numero di habitat potenzialmente presenti è dato quindi dalla combinazione dei criteri sopraesposti.

3.3.2. Habitat da monitorare

Per corpi idrici di dimensioni fino ad 1 km² dovrà essere monitorato l'habitat prevalente, mentre per i corpi idrici di dimensioni superiori ad 1 km² dovranno essere monitorati tutti gli habitat la cui estensione all'interno del corpo idrico è superiore al 20% della sua superficie totale, a meno che non sussistano delle evidenze rilevate dalle amministrazioni locali, che suggeriscano l'inserimento nella rete di monitoraggio anche di habitat di minori dimensioni relative.

3.3.3. Definizione dello sforzo di campionamento

In ciascun habitat oggetto di monitoraggio secondo quanto definito al paragrafo 2.3.2, dovranno essere posizionate le seguenti stazioni di campionamento, sia per quanto attiene al monitoraggio di sorveglianza che per quanto attiene al monitoraggio operativo:

- Per gli habitat con area inferiore a 2.5 km² posizionare 2 stazioni di campionamento;
- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area 2.5 – 50 km², in aggiunta a quanto indicato al punto i) un'ulteriore stazione ogni 5 km² fino ad un massimo complessivo di 10 stazioni;
- Per gli habitat oggetto di monitoraggio con area > 50 km², come al punto ii) e aggiungere una stazione ogni 25 km² per superfici maggiori.

Devono essere previste 3 repliche per stazione.

3.3.4. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento

Le stazioni di campionamento devono essere posizionate in maniera da poter evidenziare l'intrinseca variabilità di habitat, sia in relazione al grado di confinamento e alla prossimità al mare aperto, che in relazione agli elementi di pressione antropica eventualmente presenti.

3.3.5. Identificazione della griglia temporale di campionamento

La frequenza di campionamento per il **monitoraggio di sorveglianza** è semestrale nei periodi primaverile (inizio aprile-inizio giugno) e inizio autunnale (fine settembre - inizio ottobre), ed è da effettuarsi ogni 6 anni; per il **monitoraggio operativo** si dovrà prevedere un campionamento annuale nel periodo primaverile (inizio aprile - inizio giugno e comunque in relazione alle condizioni climatiche locali).

Non esistono per il campionamento dei macroinvertebrati bentonici costrizioni temporali legate al ciclo di marea.

3.3.6. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni

- Tecniche di campionamento e misura in campo

Substrato mobile: Raccolta del sedimento tramite benna tipo Ekman Birge, Van Veen o strumento analogo e comunque campionare una superficie minima di 200 cm² per replica;

Substrati rocciosi: campionatori Surber, immanicati o artificiali – contenitori rettangolari in rete plasticata rigida/inossidabili che vengono riempiti di substrato roccioso ciottoloso trovato *in situ* e sono prelevati dopo 30 giorni dalla data di installazione. I campionatori vengono posizionati in buste in plastica con bordi arrotolati per il prelievo.

- Metodiche di trattamento del campione

Il sedimento va vagliato su di un setaccio con vuoto di maglia di 1 mm e qualora le amministrazioni locali lo ritengano opportuno un setaccio con vuoto di maglia di 0.5 mm. Il campione va fissato utilizzando, ove possibile, una sostanza conservante non nociva per la salute umana.

3.3.7. Parametri da determinare

Parametri obbligatori

- Riconoscimento tassonomico fino al raggiungimento del livello di specie per crostacei, molluschi, policheti ed echinodermi;
- Abbondanza e ricchezza specifica.

Parametri opzionali

- Dimensioni corporee;
- Biomassa.

3.3.8. Metodi di analisi

In un intervallo di tempo tra 7 e 14 giorni dalla fissazione i campioni saranno estratti dal fissativo, sciacquati e conservati in alcol etilico al 70% o in soluzione equivalente a bassa tossicità, ciò al fine di evitare sia il prolungato contatto del campione con la formalina che, soprattutto ai fini della sicurezza degli operatori. Tutte le operazioni vanno eseguite sotto cappa.

Procedere all'identificazione delle specie mediante microscopio binoculare (1-7 X)/microscopio ottico e chiavi dicotomiche disponibili in letteratura.

Per la metodologia dello studio dei macroinvertebrati bentonici consultare il manuale APAT/SIBM/ICRAM (2003) e il manuale ICRAM - MATT, (Cicero, Di Girolamo, 2001) e Quaderno ICRAM Y/2008 (acque marino costiere).

Procedere alla determinazione delle dimensioni corporee delle specie di macroinvertebrati bentonici con l'uso di sistemi di analisi immagine applicati su microscopio binoculare (1-7 X).

Per la determinazione del biovolume delle specie di acque di transizione fare riferimento ai metodi descritti in Basset et al., 2006.

3.4. Fauna ittica

3.4.1. Il ruolo della pesca professionale nel monitoraggio ambientale

La fauna ittica degli ambienti di transizione lentici, come lagune e stagni costieri, è rappresentata prevalentemente, almeno in termini delle biomasse prodotte, da specie eurialine ed euriterme che colonizzano tali ambienti soltanto temporaneamente. In relazione alla durata di tale permanenza è possibile raggruppare le specie in:

specie residenti (es. *Atherina boyeri* - Latterino, *Aphanius fasciatus* - Nono, *Syngnathus spp.* - pesci ago, *Gobius niger* - Ghiozzo nero, *Salaria pavo* - Bavosa pavone, *Zosterisessor ophiocephalus* - Ghiozzo gò, in Nord Adriatico);

specie migratrici (es. catadrome, *Anguilla anguilla* – Anguilla o anadrome, *Alosa fallax* – Alosa);

specie marine colonizzatrici più frequenti (gran parte di quelle eurialine di interesse commerciale come *Mugil cephalus* (Cefalo), *Chelon labrosus* (Muggine labbrone), *Liza ramada* (Muggine calamita), *Liza aurata* (Muggine dorato), *Liza saliens* (Muggine musino), tra i Mugilidi; *Sparus aurata* (Orata), tra gli Sparidi; *Dicentrarchus labrax* (Spigola), tra i Moronidi.);

specie marine meno frequenti o occasionali (più stenoaline, generalmente confinate nelle aree a influenza marina, come diverse specie di saraghi – *Diplodus spp.*, *Lithognathus mormyrus* – Mormora, *Salpa salpa* – Salpa, *Solea vulgaris* – Sogliola, *Mullus surmuletus* – Triglia di scoglio, *Epinephelus spp.* – cernie);

specie d'acqua dolce occasionali (in lagune che conservano aree completamente dolcificate, soprattutto coincidenti con canali e corsi d'acqua immissari, possono essere rilevati ciprinidi come *Cyprinus carpio* – Carpa, *Tinca tinca* – Tinca, *Carassius carassius* - Carassio).

Naturalmente, le comunità ittiche lagunari tenderanno a strutturarsi secondo un gradiente di confinamento, tra dominio marino e continentale (aree dolcificate o iperaline), con popolamenti composti dalle specie ittiche più stenoaline-marine nelle aree prossime ai canali di marea, con una progressiva sostituzione da parte delle specie ittiche più eurialine nelle aree influenzate dagli apporti dolci continentali o verso le aree ipersalate delle lagune prive di apporti continentali (Cataudella et al., 2001).

Un aspetto di fondamentale importanza per le ricadute gestionali e per le valutazioni ambientali è rappresentato dal fatto che le popolazioni ittiche marine migratrici e colonizzatrici sono state storicamente il bersaglio delle produzioni ittiche estensive in ambienti lagunari. Infatti, queste si basano sulla tradizionale conoscenza delle migrazioni di specie marine verso e dalla laguna e, nelle forme più avanzate, sulla gestione ambientale attraverso il controllo idraulico, secondo un ciclo produttivo semplice, che prevede le seguenti fasi: reclutamento dei giovanili (montata), accrescimento di questi a carico delle risorse trofiche naturali, cattura ai lavoratori degli esemplari di taglia commerciale o dei subadulti migranti.

Tuttavia, anche nelle forme di gestione lagunare più spinte verso il controllo umano delle caratteristiche ambientali ai fini delle produzioni di poche specie ittiche di interesse commerciale, le comunità ittiche tendono a strutturarsi in maniera quasi-naturale, con la colonizzazione spontanea degli stessi ambienti da parte di molte altre specie ittiche migranti.

Quanto detto, può essere di notevole aiuto anche nell'inquadramento delle attività di monitoraggio della fauna ittica ai sensi della Direttiva 2000/60/CE. In primo luogo, vale la pena sottolineare come, per molti ambienti lentici di transizione, ci si trovi di fronte a sistemi non propriamente naturali, anche in situazioni non gestite per finalità produttive. A maggior ragione, in tutti gli ambienti lagunari dove vengano applicati modelli di gestione produttiva basati sul controllo idraulico degli scambi mare-laguna e, dove presenti degli apporti continentali, tra

“dolce” e laguna, appare evidente il condizionamento sulle caratteristiche strutturali e funzionali dei sistemi.

Vale altresì la pena considerare che, a prescindere dall'estensione degli ambienti lagunari e dalle diverse stazioni di campionamento in essi identificabili per l'esecuzione di monitoraggi della fauna ittica, soprattutto per quelli confinati e regolati idraulicamente con sistemi di canali e lavorieri per la gestione della pesca, ciascuna laguna gestita a fini di produzione ittica dovrebbe essere considerata come un singolo sistema ambientale/gestionale.

Anche le produzioni ittiche totali, rilevate ai lavorieri, possono essere “lette” come descrittori degli stessi ambienti lagunari; ad esempio caratterizzando, in termini di ricchezza in specie e di abbondanze assolute e relative, la porzione del popolamento ittico rappresentato dalle popolazioni migranti.

In molti ambienti lagunari, oltre alla pesca ai lavorieri, vengono utilizzati altri attrezzi di cattura come i bertovelli, utilizzati prevalentemente per la pesca delle anguille e funzionali anche per i campionamenti di specie ittiche residenti (es. gobidi e latterini), reti “branchiali” (“ad imbrocco”) monofilamento e tramagli, per la cattura di sparidi, spigole, sogliole, ecc.

L'acquisizione del complesso dei dati della pesca professionale può consentire una stima dei livelli della produzione ittica annuale che, in qualche modo, può essere interpretato quale descrittore della funzionalità degli ecosistemi.

Nei casi di sistemi di transizione più estesi e meno confinati, come i sistemi Laguna-Barriera (es. “lagune aperte”) e le Baie (es. Sacche in aree deltizie) (sensu Valloni et al., 2006), gli interventi gestionali ai fini produttivi risultano invece meno evidenti e la pesca viene generalmente esercitata utilizzando i tradizionali attrezzi della “pesca vagantiva”, citati in precedenza (bertovelli, reti monofilamento e tramagli)

Anche in questi casi, l'acquisizione di tutti i dati sulla fauna ittica derivabili dall'analisi della “pesca vagantiva” lagunare, risultano di particolare importanza per l'esecuzione dei monitoraggi ambientali, soprattutto per le fasi conoscitive necessarie per la corretta pianificazione degli stessi. Per i monitoraggi della fauna ittica negli ambienti lagunari, che ai sensi della Direttiva 2000/60/CE devono consentire l'acquisizione di dati sulla composizione del popolamento ittico e sulla struttura demografica delle popolazioni che lo compongono, oltre ai citati sistemi di cattura, deve essere previsto l'utilizzo di reti a tratta manuale, come le sciabiche, da utilizzare quale attrezzo di cattura “attivo”, nelle zone prossime alle rive, dove si concentrano gli stadi giovanili di molte specie marine colonizzatrici e quasi tutti gli stadi vitali delle specie residenti.

3.4.2. Individuazione degli habitat presenti

Per la definizione di un piano di monitoraggio dei corpi idrici di transizione è necessaria una valutazione della eterogeneità interna, individuando gli habitat presenti e la loro distribuzione ed estensione.

Tale valutazione potrà essere eseguita, soprattutto nelle lagune di maggiore estensione e negli ambienti a maggiore eterogeneità, mediante l'utilizzo di rilievi diretti in campo da studi pregressi, nuovi sopralluoghi, analisi di immagini telerilevate ed *expert view*, che andranno usate nella collocazione spaziale delle stazioni di campionamento.

In caso non siano disponibili sul corpo idrico informazioni pregresse che rendano possibile l'individuazione degli habitat, dovranno essere eseguiti nuovi rilievi, anche speditivi, con questo obiettivo specifico.

All'interno di ciascun corpo idrico catalogato in base ai criteri di tipizzazione, l'identificazione degli habitat presenti è basata sostanzialmente sulla combinazione di due parametri, natura del substrato e presenza/assenza di produttori primari (fanerogame o macroalghe):

	fanerogame sommerse	fanerogame emergenti	Macroalghe	fondale nudo
fango (frazione limo-argillosa >50%)				
sabbia(frazione sabbiosa >50%)				
substrato duro				

3.4.3. Habitat da monitorare

Per corpi idrici di dimensioni fino ad 1 km² dovrà essere monitorato l'habitat prevalente, mentre per i corpi idrici di dimensioni superiori ad 1 km² dovranno essere monitorati tutti gli habitat la cui estensione all'interno del corpo idrico è superiore al 20% della sua superficie totale, a meno che non sussistano delle evidenze rilevate dalle amministrazioni locali, che suggeriscano l'inserimento nella rete di monitoraggio anche di habitat di minori dimensioni relative.

3.4.4. Definizione dello sforzo di campionamento

In ciascun habitat oggetto di monitoraggio secondo quanto definito in precedenza, dovranno essere posizionate le seguenti stazioni di campionamento, sia per quanto attiene al monitoraggio di sorveglianza che per quanto attiene al monitoraggio operativo:

- - 1 stazione per habitat con estensione fino a 2.5 km²;
- - 2 stazioni per habitat con estensione da 2.5 a 5 km²;
- - 3 stazioni per habitat con estensione da 5 a 10 km²;
- - come al punto precedente aggiungendo 1 stazione ogni 10 km² per habitat con estensione fino a 50 km²;
- - come al punto precedente aggiungendo 2 stazioni ogni 25 km² per habitat con estensione superiore a 50 km².

Nella definizione delle stazioni di cui sopra andranno considerati oltre al criterio delle pressioni anche indicazioni riguardanti l'ubicazione delle bocche di connessione con il mare e delle aree di immissione di acque dolci quantitativamente più rilevanti.

Nei campionamenti con sciabica devono essere effettuate con un numero minimo di due cale per stazione (anche sincrone).

Nei campionamenti con rete monofilamento devono essere effettuate due cale per stazione (anche sincrone).

3.4.5. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento

Le stazioni di campionamento devono essere posizionate al centro dell'habitat e quanto più possibile distanti l'una dall'altra, tenendo conto tuttavia di fattori quali il grado di confinamento e la presenza di elementi di disturbo antropico.

3.4.6. Identificazione della griglia temporale di campionamento

Sia per il **monitoraggio operativo** che per il **monitoraggio di sorveglianza** la frequenza è semestrale, primaverile ed autunnale. I campionamenti dovranno essere effettuati nelle ore diurne per la pesca con la sciabica e nelle ore notturne per la pesca con rete monofilamento e nella stessa fase di marea per tutte le stazioni.

3.4.7. Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni

Tecniche ed attrezzi di campionamento

I campionamenti dovranno essere eseguiti mediante l'uso di rete a tratta manuale, tipo sciabica, entro i 1,5 metri di profondità (o comunque prossime alla riva) e di rete da posta monofilamento nelle stazioni con profondità superiore.

La **sciabica** dovrà avere le seguenti caratteristiche: distanza internodo 2 mm (almeno nel segmento mediano corrispondente al "sacco"); lunghezza 20 m; altezza 2 m. Il traino della rete dovrà avvenire, ove possibile, da terra ed in modo da esplorare un'area di circa 150 m² per replica (ciò implica una distanza da riva, rispetto alle estremità della rete, di circa 7 m). Generalmente, si rende necessario l'ausilio di una imbarcazione. La sciabica dovrà avere le seguenti caratteristiche: distanza internodo 2 mm (almeno nel segmento mediano corrispondente al "sacco"); lunghezza da 8 a 20 m; altezza da 1,5 a 2 m. Il traino della rete dovrà avvenire, ove possibile, da terra ed in modo da esplorare un'area di circa 150 m² per replica (ciò implica una distanza da riva, rispetto alle estremità della rete, di circa 7 m). Quando possibile è auspicabile l'uso di una imbarcazione.

La **rete monofilamento** (in accordo con la norma UNI EN 14757:2005) dovrà essere costituita da tre pezze di maglia differente (20, 30 e 40 mm di distanza internodo) ciascuna delle quali con una superficie di circa 100 m². Le due repliche potranno essere fatte in simultanea, calando due reti. Il tempo di cala deve essere fissato a priori e deve essere compreso tra 1 e 6 ore a seconda delle situazioni. Tuttavia, al fine di minimizzare il potenziale effetto selettivo su specie ittiche caratterizzate da abitudini più "crepuscolari" e migliorare l'efficienza di cattura, potrebbe essere valutata l'opportunità di estendere il tempo di calata-salpaggio delle reti anche alla nottata.

Ad integrazione dei sistemi di campionamento citati, può essere previsto l'utilizzo di una postazione equipaggiata con reti di sbarramento/invito e di un bertovello (6 mm di distanza internodo). In questo caso il tempo di messa in opera e di salpaggio dell'attrezzo può essere prefissato in 12 ore circa e, comunque, in maniera da coprire almeno una notte.

Durante ciascun campionamento dovranno essere registrate le informazioni contenute nella seguente tabella:

<i>Variabili per descrivere il metodo di campionamento</i>	
Tipo di rete	Sciabica o rete monofilamento
Dimensioni rete (m)	Lunghezza x altezza
Tipo di maglia	Distanza internodo
Superficie della rete (per tipo di maglia) (m ²)	Dato riguardante il campionamento con rete monofilamento
Apertura della rete (m)	Dato riguardante il campionamento con sciabica, si ottiene misurando la distanza (m) tra le estremità della rete in pesca
Lunghezza della tirata (m)	Dato riguardante il campionamento con sciabica, si ottiene misurando la distanza (m) tra la lima dei piombi e la riva all'inizio della tirata
Superficie o volume d'acqua campionato (m ² , m ³)	Dato riguardante il campionamento con sciabica, si ottiene combinando le due misure precedenti
Tempo di cala (h, min)	Dato riguardante il campionamento con rete monofilamento, si ottiene calcolando l'intervallo di tempo tra fine cala e fine recupero
Distanza da riva (m)	Dato riguardante il campionamento con rete monofilamento, si ottiene valutando la distanza minima tra la rete e la riva

Acquisizione dati dalla pesca professionale

Nei corpi idrici in cui è effettuata la pesca professionale i dati di pesca (catture, il tipo di attrezzo utilizzato e le giornate di pesca) possono costituire un utile supporto alla conoscenza delle specie presenti e ad una stima quantitativa o semiquantitativa dei popolamenti ittici, attraverso il calcolo delle CPUS (Catture Per Unità di Sforzo). Questo riguarda in particolare la pesca delle anguille,

catturate nel corso dell'anno con l'utilizzo di sistemi da posta costituiti da reti di sbarramento/invito e da bertovelli.

Conservazione dei campioni ed etichettatura

I pesci durante le operazioni di cattura devono essere manipolati con cautela, in modo tale da minimizzare i danni e le lesioni causate dalle operazioni di pesca. Nei casi di difficile riconoscimento sul campo (es. specie molto simili, individui giovanili), gli esemplari potranno essere sacrificati e trasportati in laboratorio per un'analisi più accurata. A tal fine, essi dovranno essere anestetizzati in una soluzione acquosa di anestetico (tricaina metasulfonata, 2-fenossietanolo) in dosi letali, per essere riposti in sacchetti di polietilene marcati (separatamente per ogni replica) o conservati con ghiaccio a 0°C durante il trasporto in laboratorio e quindi congelati a -20°C o trasferiti in fissativi (vedi oltre) fino al momento dell'analisi.

Le specie di interesse conservazionistico, tutti gli esemplari catturati con i bertovelli e gli esemplari adulti (es. gobidi, signatidi..) catturati con la sciabica dovranno essere anestetizzati in una soluzione acquosa di anestetico (tricaina metasulfonata, 2-fenossietanolo) prima di effettuare le misurazioni, per poi essere liberati una volta riacquisite le funzioni vitali, onde minimizzare l'impatto del monitoraggio sulle popolazioni.

Per la conservazione di esemplari o di parti anatomiche possono essere utilizzati i seguenti fissativi:

- Alcool etilico al 70%, utilizzabile per la conservazione di esemplari di piccola taglia ma non per i tessuti molli;
- Altra sostanza conservante non nociva per la salute umana, ove disponibile, per la conservazione di esemplari di piccola taglia e di contenuti stomacali/intestinali.

3.4.8. Parametri da determinare

L'analisi dei campioni dovrà comprendere:

- identificazione tassonomica degli individui a livello di specie;
- conteggio di tutti gli individui pescati;
- per ciascuna specie, misurazione della taglia (lunghezza totale, in mm) e del peso corporeo (umido, in gr) di tutti gli esemplari nei campioni che contengono meno di 100 individui, su un campione di 100 individui, scelti in maniera casuale, nei campioni che contengono più di 100 individui.

Parametri ed elementi opzionali da includere eventualmente nell'analisi dei campioni sono: il sesso, la maturità, i contenuti stomacali/intestinali, i parassiti, lo stato di salute. La valutazione dello stato di salute complessivo dei pesci riveste grande importanza, in quanto la compromissione dello stato di salute di un popolamento ittico può essere un attendibile e diretto indicatore di disturbi antropici nell'area oggetto d'esame. Diversi sono i metodi e gli indici (qualitativi o semi quantitativi) utilizzati per la valutazione dello stato di salute di specie ittiche naturali, e tutti considerano lesioni tissutali, le anomalie morfologiche e la presenza di tumori in particolare a carico degli organi e tessuti esterni (pinne, cute, occhi). Gli individui con lesioni dovranno essere conservati per essere eventualmente sottoposti a ulteriori analisi di laboratorio.

Per il riconoscimento tassonomico consultare i manuali Fao (Fisher et al., 1987) e "I pesci delle acque interne italiane" (Gandolfi et al., 1991).

4. Elementi di qualità fisico-chimica e idromorfologica

Ai sensi della Direttiva Quadro sulle Acque (2000/60/CE) le misure dei parametri fisico-chimici della colonna d'acqua rientrano propriamente fra gli elementi a supporto dei parametri biologici, mentre le misure sui sedimenti ricadono tra gli elementi idromorfologici a sostegno degli elementi biologici.

4.1. Individuazione degli habitat presenti e selezione degli habitat da monitorare

Il monitoraggio, dei parametri fisico-chimici relativi alle acque andrà eseguito negli habitat monitorati per gli elementi di qualità biologica "Macroalghe", "Angiosperme", "Fitoplancton" e "Fauna Ittica".

Il monitoraggio degli elementi idromorfologici relativi ai sedimenti andrà eseguito negli habitat monitorati per degli elementi di qualità biologica, "Angiosperme" e "Macroinvertebrati bentonici".

4.2. Definizione dello sforzo di campionamento

Lo sforzo di campionamento relativo alle misure dei parametri relativi alle acque e ai sedimenti è così definito:

- per i **parametri fisico-chimici a supporto dei parametri biologici**, le stazioni di monitoraggio saranno definite dalla somma delle stazioni monitorate per gli elementi di qualità biologica "Macroalghe", "Angiosperme", "Fitoplancton" e "Fauna ittica". Il campionamento delle acque potrà essere eseguito in corrispondenza dell'areale interessato dagli elementi di qualità biologica succitati raccomandando laddove possibile di identificare areali comuni per più elementi di qualità biologica.
- per i **parametri idromorfologici (caratteristiche dei sedimenti) a supporto dei parametri biologici**, le stazioni di monitoraggio saranno definite dalla somma delle stazioni monitorate per gli elementi di qualità biologica "Angiosperme" e "Macroinvertebrati bentonici"; per quanto attiene la "Fauna Ittica" deve essere misurata solo la granulometria del sedimento. Il campionamento dei sedimenti deve essere sincrono rispetto alle misure dei parametri relativi agli elementi di qualità biologica succitati per stazione.

Potranno comunque essere aggiunte stazioni supplementari in corrispondenza di sub-aree critiche o di particolare rilevanza ecologica.

Distribuzione delle stazioni di campionamento

Acqua:

- Campionamento d'acqua superficiale 0.2 – 0.5 m di profondità;
- Campionamento a 0.2 m dal fondo (facoltativo).

Sedimento:

- Campionamento dei primi 5 cm di sedimento.

4.3. Metodiche di campionamento e trattamento del campione

Campionamento delle acque

- Misurazione con strumentazione portatile di profondità, trasparenza, ossigeno disciolto, pH e temperatura, della salinità superficiale e (facoltativo) a 0.2m dal fondo;
- Raccolta di un campione di acqua con bottiglia scura e filtrazione *in situ*, con apparato filtrante portatile, o in laboratorio, con filtri in acetato di cellulosa con porosità 0.45µm, dei

campioni di acqua per la determinazione dei nutrienti disciolti (parametri dell'azoto, del fosforo e silice disciolti). L'operatore disporrà di pinzette per la manipolazione dei filtri e avrà cura di procedere di volta in volta ai necessari avvinamenti delle bottiglie di campionamento, delle siringhe e di altro materiale;

- Per la determinazione dei nutrienti particolati e dei solidi sospesi viene prelevato un campione di circa 1 l di acqua con bottiglie scure, da filtrare in laboratorio su filtri in fibra di vetro da 0.70 μ m. I filtri saranno conservati a -20°C fino al momento delle determinazioni analitiche;
- Per la determinazione dei solfuri liberi, mettere 2ml di acetato di zinco (20%) in provetta. Il campione d'acqua, prelevato con una siringa collegata ad un tubicino posto nelle vicinanze della superficie del sedimento, dovrà essere immesso nella provetta avendo cura che la punta del tubicino sia immerso nell'acetato di zinco. Portare a volume di 20ml e congelare. Importante: il campione di acqua che fuoriesce dal tubicino non deve entrare a contatto con l'aria.

Campionamento dei sedimenti

- Prelievo dei primi 5 cm di sedimento tramite carotatore o benna. Se si utilizza la benna si raccomanda di omogeneizzare il campione prima di prelevare sub aliquote;
- sul campo viene misurato il potenziale di ossidoriduzione (Eh).

4.4. Parametri da determinare

Parametri obbligatori per le acque

- ammonio totale (N-NH₃ + N-NH₄⁺; TAN)*;
- azoto ossidato (N-NO_x)*;
- fosforo inorganico disciolto (SRP)*;
- particolato sospeso (TSS)*;
- trasparenza (Tr);
- temperatura (t);
- ossigeno disciolto (DO);
- pH;
- salinità (S);
- profondità (D).

* - *parametri obbligatori solo nelle stazioni per fitoplancton e macrofite.*

Parametri facoltativi per le acque

- azoto nitroso (N-NO₂-);
- azoto nitrico (N-NO₃-);
- azoto totale disciolto (TDN);
- azoto totale particolato (TPN);
- fosforo totale disciolto (TDP);
- carbonio organico particolato (POC);
- silicati disciolti (SiO₄--);

- solfuri liberi (FS);
- irradianza (PAR).

Parametri obbligatori per il sedimento

- carbonio organico totale (TOC);
- azoto totale (TN);
- densità (Dsed);
- granulometria (GS).

Parametri facoltativi per il sedimento

- ferro labile (LFe);
- solfuri volatili disponibili (AVS);
- fosforo totale (TP).

L'elenco di parametri da determinare sulle acque potrà essere integrato da microinquinanti sintetici e non sintetici non prioritari che, essendo scaricati nel bacino afferente al corpo idrico oggetto del monitoraggio in quantità significative, potrebbero compromettere il raggiungimento di uno degli obiettivi di qualità della Direttiva.

L'elenco dei microinquinanti, in quanto elementi fisico-chimici a supporto degli elementi di qualità biologica, da considerare nel programma di monitoraggio dovrà quindi essere valutato caso per caso.

Per quanto riguarda invece le sostanze prioritarie, si faccia riferimento ai manuali specifici contenenti indicazioni e protocolli per la valutazione dello Stato Chimico dei corpi idrici in corso di redazione a cura di altri Enti.

4.5. Metodi di analisi

Acque

Analita / parametro	Parametri chimico-fisici obbligatori	Riferimenti bibliografici
	Metodo	
TAN	determinazione colorimetrica dell'indofenolo formatosi per reazione con fenolo alcalino e acido dicloroisocianurico in presenza di sodionitroprussiato ed EDTA	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
SRP	determinazione colorimetrica del complesso antimonio fosfomolibdico ottenuto per reazione di molibdato di ammonio e tartrato di antimonio e potassio	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
TSS	i filtri ottenuti dal filtraggio di volumi noti, sono essiccati a 50-60°C per 4h e pesati;	Strickland and Parsons, 1972
N-NO _x	determinazione colorimetrica del complesso colorato che si forma per diazotazione con sulfanilammide e N-1naftil-etilendiammina previa riduzione a nitriti per passaggio della soluzione campione su colonnina contenente cadmio granulare	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
T	misurazione in °C con strumentazione portatile	
Tr	disco Secchi	
pH	misurazione con strumentazione portatile	
DO	misurazione in % saturazione e mg l ⁻¹ . Misurazione con strumentazione portatile o con metodo Winkler	
S	misurazione con strumentazione portatile e calcolo del valore in psu	
D	misurazione con cavo metrico	

Analita	Parametri chimico-fisici facoltativi	Riferimento bibliografico
	Metodo	
N-NO ₂ ⁻	determinazione colorimetrica del complesso colorato che si forma per diazotazione con sulfanilammide e N-1naftil-etilendiammina	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
SiO ₄ ⁴⁻	determinazione colorimetrica del blu di molibdeno ottenuto per riduzione del poliacido silicomolibdico	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
TDN	determinazione colorimetrica dei nitriti previa ossidazione con persolfato in ambiente basico e successiva riduzione dei nitrati formatisi	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
TDP	determinazione colorimetrica degli ortofosfati previa ossidazione con persolfato in ambiente acido	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
FS	determinazione come S ²⁻ per via spettrofotometrica	Cline (1969)
POC	determinazione per combustione con analizzatore elementare	Hedges and Stern, 1984
TPN	determinazione per combustione con analizzatore elementare	Hedges and Stern. 1984
PAR	misurazione con strumentazione portatile	

Sedimento

Analita	Parametri idromorfologici obbligatori	Riferimento bibliografico
	Metodo	
TN	determinazione per combustione con analizzatore elementare	Hedges, and Stern. 1984
TOC	trattamento con HCL allo scopo di eliminare il carbonio inorganico presente mediante la formazione di CO ₂ volatile e successiva determinazione con analizzatore elementare	Cicero e Di Girolamo, 2001
Dsed (umida)	determinazione da un subcampione (uno per ogni replica) di 1 cm ³ preso da ciascun campione, secondo le seguenti equazioni: $D_{sat} = M_{sp} \cdot V_{ws}^{-1}$; Dove: M_{sp} è la massa del solido e delle acque interstiziali; V_{ws} è il volume del sedimento umido; V_p è il volume dell'acqua interstiziale, determinato come perdita di peso dopo essiccamento a 90°C per 24h	Manual of Physico-Chemical analysis of aquatic sediments.
GS		Cicero e Di Girolamo, 2001

Analita	Parametri idromorfologici facoltativi	Riferimento bibliografico
	Metodo	
TP	Procedura identica al TPP	metodo Aspila et al., 1976
LFe	per via spettrofotometrica, utilizzando per l'estrazione idrossilamina e HCl 0.25M, e aggiunta di hepes e ferrozina	Lovley and Phillips (1987)
AVS		Allen et al., 1993

Parametri da calcolare:

- porosità ($\eta = V_p \cdot V_{ws}^{-1}$);
- azoto nitrico ($N-NO_3 = N-NO_x - N-NO_2^-$);
- azoto inorganico disciolto ($DIN = TAN + N-NO_2^- + N-NO_3^-$);
- azoto organico disciolto ($DON = TDN - DIN$);
- azoto totale ($TN = TDN + TPN$);
- fosforo organico disciolto ($DOP = TDP - SRP$);
- fosforo totale ($TP = TDP + TPP$).

Per la determinazione di microinquinanti sintetici e non sintetici non prioritari inseriti nei programmi di monitoraggio si faccia riferimento al Manuale APAT/IRSA-CNR (2003), ovvero ad altre metodiche standard nazionali o internazionali.

BIBLIOGRAFIA

Allen H.E., Fu G., Deng, B. Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 12:1-13.

APAT IRSA-CNR, 2003. Metodi analitici per le acque. Manuali e Linee guida, 29/2003, 3. Metodo 9020:1137-1142.

APAT-SIBM-ICRAM, 2003. Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo. M.C. Gambi & M. Dappiano (Eds).

Aspila, K.I., Agemiam, H., Chau, A.S.Y., 1976. A semiautomatic method for the determination of inorganic, organic and total phosphate in sediments. *Analyst* 101:187-197.

Basset A., Sangiorgio F., Sabetta L. 2006. "Handbook for the application of body size descriptors to monitoring safety of transitional ecosystems"- TWReferenceNet - EU INTERREG III B Project 3B073 Management and sustainable Development of protected transitional waters pp 74. <http://www.ecologia.unile.it/e-portal/modules/econtent/portale/docs/wp-reports/handbook%20wp%202.pdf>

Cataudella S., Tancioni L., Cannas A., 2001. L'acquacoltura estensiva. In *Acquacoltura Responsabile – Verso le produzioni acquatiche del terzo millennio* (a cura di S. Cataudella e P. Bronzi), Unimar-Uniprom 2001: 283-308.

Cline J. D. 1969. Spectrophotometric determination of hydrogen sulphide in natural waters. *Limnology and Oceanography* 14: 454-459.

Cormaci M., Furnari G., Giaccone G., 2003. Macrofitobenthos. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds) *Manuale di metodologie di campionamento e studio del benthos marino mediterraneo*. *Biol. Mar. Medit.*, 10 (Suppl.): 233-262.

Fischer W., Bauchot M.L., Schneider M. 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et Mer Noire. Zones de pêche 37 (1) e (2) Vertébrés. FAO, Rome

Gandolfi G., Zerunian S., Torricelli P., Marconato A. 1991. I pesci delle acque interne italiane. Istituto Poligrafico Zecca dello Stato, Roma: pp 616

Grasshoff, K., M. Ehrhardt, 1976, Automated chemical analysis, in: *Methods of Seawater Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim: 263-297.

Hedges, J.I. and J.H. Stern. 1984. Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnol. Oceanogr.*, 29: 657-663.

Cicero A.M. & Di Girolamo I., 2001. "Metodologie Analitiche di Riferimento. Programma di Monitoraggio per il controllo dell'Ambiente marino costiero (Triennio 2001-2003)". Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, ICRAM©ICRAM, Roma 2001 (disponibile on line: www.icram.org)

Lazzara, L. Bianchi, F. Falcucci, M. Hull, V. Modigh, M. Ribera d'Alcalà, M. 1990 Pigmenti clorofilliani. *Nova Thalassia* 11: 207-223.

Lovley D.R., Phillips E.J.P. 1987. Rapid assay for reducible ferric iron in aquatic sediments, *Applied and Environmental Microbiology* 53: 1536-1540..

Manual of Physico-Chemical analysis of aquatic sediments. 1997. Edited by Alena Mudroch, Jose Azcue, Paul Mudroch. ISBN 1-56670-155-4.

Orfanidis S., Panayotidis P., Stamatis N 2003. An insight to the ecological evaluation index (EEI). *Ecological Indicators* 3: 27-33.

Sfriso A., Raccanelli S., Pavoni B. e Marcomini A. 1991. Sampling strategies for measuring macroalgal biomass in the shallow water of the Venice Lagoon. *Environmental Technology*, 12: 263-269.

Sfriso A., Ghetti, P.F. 1998. Seasonal variation in the biomass, morphometric parameters and production of rhizophytes in the lagoon of Venice. *Aquatic Botany*, 61: 207-223.

Sfriso A., Facca C., Ghetti P.F. 2007. Rapid Quality Index, based mainly on Macrophyte associations (R-MAQI), to assess the ecological status of the transitional environments. *Chemistry and Ecology*, 23 (6): 1-11.

Sfriso A. 2008a. Principi ecologici del biomonitoraggio. Lezione 8: Scale spaziali applicate a comunità di macroalghe e fanerogame marine: Parte I Macroalghe. *Ecogovernance*, Ferrara. 8 pp. + Power Point + Audio.

Sfriso A. 2008b. Principi ecologici del biomonitoraggio. Lezione 8: Scale spaziali applicate a comunità di macroalghe e fanerogame marine: Parte II Fanerogame marine. *Ecogovernance*, Ferrara. 8 pp. + Power Point + Audio. Shepard F.P. 1954. Nomenclature based on sand, silt, clay ratio. *J. Sed. Petro.* 25: 151-158.

Strickland, J.D.H., Parsons, T. R., 1972, *A practical handbook of seawater analysis*, Bull. Fish. Res. Bd. Canada, 167, pp. 311.

US EPA, 1997. In Vitro Determination of Chlorophyll a and Pheophytin a in Marine and Freshwater Algae by Fluorescence. Method 445.0.

Valloni R., Barsanti M., Ferretti O, 2006. Tipi geologici e distribuzione geografica degli specchi d'acqua costieri italiani. In: *Lagune, Laghi e Invasi artificiali italiani*. Accademia Nazionale dei Lincei. Atti dei Convegni Lincei 222 – Giornata Mondiale dell'Acqua. Roma, 22 marzo 2005: 201-209.