

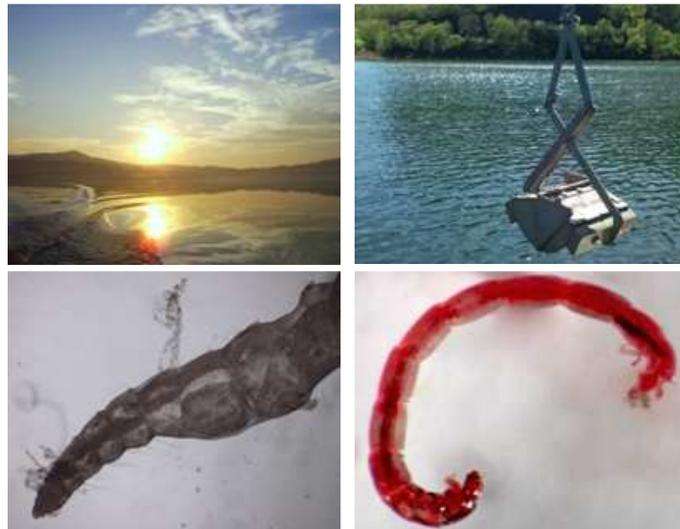


Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto per lo Studio degli Ecosistemi
Verbania Pallanza

R E P O R T

CNR-ISE, 02.11

**GUIDA TECNICA ALLA PROGRAMMAZIONE
DEL CAMPIONAMENTO E ALLA SCELTA DELLA
STRUMENTAZIONE IDONEA PER LO STUDIO DELLA FAUNA
MACROINVERTEBRATA LACUSTRE**



2011

Guida tecnica alla programmazione del campionamento e alla scelta della strumentazione idonea per lo studio della fauna macroinvertebrata lacustre

Boggero Angela*, Zaupa Silvia,
Istituto per lo Studio degli Ecosistemi-CNR, Verbania-Pallanza

Rossaro Bruno
DIPSA, Università di Milano, Milano

Lencioni Valeria
Museo Tridentino di Scienze Naturali, Trento

& Gherardi Francesca
Dipartimento di Biologia Evoluzionistica, Università di Firenze, Firenze

*Autore per la corrispondenza (a.boggero@ise.cnr.it)

Progetto LIFE+ 2008 ENV/IT/000413 INHABIT



2011

Ringraziamenti

Un particolare ringraziamento va alla Dottoressa Nocentini Anna Maria, che ha dedicato la sua vita lavorativa allo studio della fauna bentonica, che mi ha sostenuto, considerandomi più una figlia che una studentessa, perché “ io sono ciò che lei mi ha insegnato”.

Un ringraziamento particolare va ai colleghi di ENAS (Ente Acque Sardegna) - Unità organizzativa Limnologia degli invasi - senza l'aiuto dei quali non avremmo potuto condurre le attività di campagna sui laghi gestiti da loro e scrivere del relativo campionamento mettendone in luce le criticità.

Ringrazio ancora la Dottoressa Zaupa Silvia, coautrice, per l'impegno profuso nell'esecuzione dei disegni che facilitano la lettura del manoscritto e tutti i colleghi che hanno dato il loro contributo attraverso un'attenta rilettura.

La presente attività è stata parzialmente finanziata dalla Unione Europea nell'ambito di un progetto LIFE+ 2008 Environment Policy and Governance – Local hydro-morphology, habitat and RBMPs: new measures to improve ecological quality in South European rivers and lakes (INHABIT - LIFE08/ENV/IT/000413).

Indice

1) Obiettivi	1
2) Distribuzione ed origine dei laghi in Italia	2
<u>I laghi di bassa quota o di pianura</u>	3
<u>I laghi d'alta quota o alpini</u>	4
<u>I corpi idrici fortemente modificati</u>	6
3) I macroinvertebrati	7
4) Scelta della strumentazione idonea	9
<u>Campionatori e metodi per acque superficiali e per specie di grandi dimensioni</u>	9
5) I sedimenti	14
<u>I sedimenti duri</u>	15
<u>I sedimenti molli</u>	17
<u>Metodi a supporto dell'identificazione tassonomica</u>	25
6) Programma di campionamento	29
<u>Differenze nell'approccio di campionamento e di programmazione delle attività</u>	30
<u>I laghi di bassa quota o di pianura</u>	30
<u>I laghi d'alta quota o alpini</u>	36
<u>I corpi idrici fortemente modificati</u>	38
7) Trattamento dei campioni	41
<u>In campo</u>	41
<u>In laboratorio</u>	42
8) L'ambiente abiotico di un lago	51
<u>L'ambiente fisico</u>	51
<u>L'ambiente chimico</u>	52
<u>L'ambiente dei sedimenti</u>	54
9) Registrazione delle informazioni su supporto magnetico	56
10) Bibliografia	57
11) Siti internet consultati	63
12) Appendice	64

1) Obiettivi

Questa guida nasce dall'esigenza crescente a livello nazionale di fornire a coloro che si occupano direttamente del campionamento dei macroinvertebrati in ambiente lacustre, siano essi ricercatori alle loro prime esperienze, studenti od operatori delle Agenzie Ambientali, gli strumenti conoscitivi necessari per poter programmare al meglio l'attività di campo e di laboratorio e ottenere risultati standardizzati. L'adozione di un protocollo comune consente di ottenere la compatibilità delle informazioni provenienti da siti ed Enti diversi, la confrontabilità fra siti ed, all'interno dello stesso sito, fra stazioni e/o fra anni diversi. Per attuare quanto detto, si è fatto riferimento ad una vasta letteratura, volumi e singole pubblicazioni datate, non reperibili via internet e quindi non facilmente accessibili, soprattutto a persone che affrontano per la prima volta il campionamento e lo studio del benthos di un lago, senza provocare frustrazioni o dar luogo a risultati dubbi.

La guida prende dapprima in considerazione le principali tipologie lacustri riconosciute a livello nazionale, proponendo differenze di approccio e di programmazione a seconda dei diversi ambienti; passa poi in rassegna le strategie di campionamento adatte alle diverse tessiture di substrato, considerando anche l'ambiente terrestre ed aereo circostante la conca lacustre, per approfondimenti tassonomici; riassume le metodologie di trattamento dei campioni sul campo ed in laboratorio; ed infine considera anche altre variabili fisico-chimiche dell'acqua e dei sedimenti che possono risultare molto utili ai fini della descrizione dell'ambiente di studio e di una classificazione di qualità delle acque.

In conclusione, il fine generale di questo lavoro è la scelta di elementi di base per una corretta impostazione di un'attività di campo e per la soluzione dei numerosi problemi gestionali nel campo della limnologia, della pianificazione di attività di ricerca e monitoraggio, del controllo ecologico, della difesa della qualità dell'ambiente e della conservazione della natura. Attualmente, la normativa vigente è infatti carente dal punto di vista delle direttive scientifiche e pratiche, si è quindi pensato di organizzare tali informazioni, formulando proposte per rispondere ai problemi più comuni.

2) Distribuzione ed origine dei laghi in Italia

Prima di iniziare a parlare della distribuzione dei laghi e della loro origine, dobbiamo definire cosa è un lago, quali possono essere considerati laghi naturali e quali invasi, infine quali sono i limiti altitudinali che ci permettono una distinzione fra laghi d'alta e di bassa quota.

Per lago si intende generalmente un'estensione d'acqua permanente di diversa profondità, circondato dalla terra, con sorgenti e correnti proprie, che occupa una depressione del suolo e non comunica direttamente con il mare. Generalmente, il lago deve avere un immissario, o almeno un emissario che contribuiscano al ricambio d'acqua e ne determinino il carattere permanente.

Nel tempo, sono state proposte molte definizioni di lago, cercando di connettere la precedente accezione ad una visione dimensionale. La Legge n. 319 del 10/05/1976 (*Legge Merli* - Norme per la tutela delle acque dall'inquinamento), infatti, prevedeva il censimento dei corpi idrici italiani considerando come soglia per il loro censimento un'area di **0,2 km²**. In seguito, la Legge Merli è stata sostituita dal Decreto Legislativo n. 152 del 11/05/1999 (Testo Unico sulle Acque - Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento) che limitava il censimento dei laghi a quelli che avevano **superficie maggiore di 0,5 km²**. A livello europeo, il CEN (Comité Européen De Normalisation), comitato che sta mettendo a punto delle normative relative alla caratterizzazione idromorfologica degli ambienti lacustri (*Water quality - Guidance standard on assessing the hydromorphological features of lakes*), fa esplicito riferimento a **laghi di dimensioni superiori a 0,01 km² con una profondità massima, a livello medio dell'acqua, maggiore di 1 m**, inserendo quindi un'ulteriore caratteristica per separare i laghi naturali dalle pozze temporanee. Una tale profondità, infatti, evita che il lago naturale vada soggetto a scomparsa per evaporazione, qualora sia sottoposto a forte insolazione nel periodo estivo, trasformandosi quindi in un ambiente temporaneo.

In generale, non sono invece considerati laghi gli specchi d'acqua derivanti da attività estrattive, gli ambienti di transizione, quali sbarramenti fluviali o tratti di fiume in cui la corrente rallenta fino a un tempo di ricambio inferiore a una settimana, i corpi idrici in avanzato stato di interrimento e quelli alimentati esclusivamente da acque di falda (Tartari *et al.*, 2000).

Come si è detto, le acque contenute all'interno di una conca lacustre sono solitamente dolci, ma possono essere anche salmastre, in stretta dipendenza dalle condizioni meteo-climatiche locali che incidono su pluviometria ed evaporazione. Proprio le condizioni meteorologiche, molto diverse considerando l'estensione Nord-Sud dell'Italia, determinano una notevole differenza di distribuzione di laghi nelle aree alpine del nord Italia (definita come Ecoregione alpina dal Decreto

Ministeriale n. 131 del 16/06/2008 e situata al di sopra del 44° parallelo), rispetto alle aree centro-meridionali (Ecoregione mediterranea al di sotto del 44° parallelo).

Si può parlare di **laghi naturali** quando si è in presenza di laghi di origine naturale, di **invasi** quando si tratta di laghi artificiali costruiti interamente dall'uomo o quando si è in presenza di corpi idrici fortemente modificati (ossia ambienti lacustri derivati da fiumi che, con la costruzione di una diga, hanno cambiato tipologia o di laghi naturali ampliati, nel caso l'ambiente lacustre, precedentemente in condizioni naturali, sia stato ampliato grazie alla costruzione di un muro di contenimento delle acque) (Decreto Ministeriale n. 131 del 16/06/2008).

In Italia esistono migliaia di laghi, considerando sia i laghi naturali di bassa e d'alta quota, sia gli invasi, che secondo la Direttiva Quadro sulle Acque comprendono i corpi idrici fortemente modificati ed i laghi naturali ampliati. Vi si trovano, infatti, circa 500 laghi con superficie superiore a 0,2 km². Oltre a questi, sull'arco alpino, ci sono più di 4000 piccoli laghi che presentano un elevato valore ambientale.

I laghi di bassa quota o di pianura

A quote comprese tra i 2000-1500 m s.l.m. (Fig. 1) e la costa troviamo i laghi di bassa quota che a seconda della loro formazione possono avere forme circolari o allungate. Questi comprendono vari tipi di laghi, come qui di seguito elencati. I **laghi costieri** sono costituiti da acque salmastre e poco profonde, formatisi grazie alla costruzione di cordoni litorali ad opera dei fiumi che li nutrono o del mare, con cui spesso mantengono una connessione. I **laghi circumfluviali**, si sono formati dal percorso meandriforme di un fiume e sono dovuti all'abbandono di anse che si chiudono su loro stesse. I **laghi carsici** sono dovuti all'accumulo di acqua nelle doline, sforniti di tributari ed emissario, spesso soggetti a forti variazioni di livello causate dall'alternarsi di profondità della falda. I **laghi tettonici** sono situati in depressioni prodotte da movimenti di faglia (cioè, sprofondamenti di porzioni di superficie terrestre), tipici dell'orogenesi quaternaria. I **laghi vulcanici** (craterici e di caldera) del centro Italia sono inseriti in antichi vulcani o avvallamenti dovuti a forti esplosioni; presentano forma circolare o subcircolare e sono molto profondi, con sezione trasversale a cono. Nell'Italia settentrionale sono poi presenti i **laghi morenici**, formatisi allo sbocco di valli alpine in depressioni circondate da colline, costituite da materiali detritici accumulati dai ghiacciai nei loro spostamenti, ed i **laghi intermorenici**, sviluppatasi fra cordoni di un apparato morenico per effetto del ristagno di acque sul fondo impermeabile, costituito principalmente da argille glaciali. Questi ultimi sono generalmente poco profondi, mancano di

immissari ed emissari e si impaludano lentamente. I laghi **di sbarramento o di frana** si sono originati dallo sbarramento naturale di una valle fluviale, sbarramento dovuto all'accumulo di materiale di frana o di sedimenti trasportati da un corso d'acqua che scende da una valle laterale. Di solito, questi laghi sono poco profondi e hanno durata breve. Infine, i grandi **laghi marginali subalpini** sono molto profondi e di forma allungata, a ricordo delle vallate originarie colmate d'acqua in tempi storici; si sono formati in seguito ad eventi di modellamento glaciale e di escavazione fluviale.

I laghi d'alta quota o alpini

Con il termine **alpino** si definiscono due diverse categorie di laghi, i **laghi appartenenti alla catena delle Alpi** ed i **laghi situati oltre il limite della vegetazione arborea**. Ma, se la prima definizione è netta e comprensibile a tutti, la seconda è molto più vaga. Lungo la stessa catena alpina tale limite è infatti situato tra 2000 e 2500 m di altitudine nelle Alpi centrali, e tra 1500 e 2000 m nelle Alpi meridionali e nelle vallate marginali (Fig. 1). Inoltre, sui pendii rivolti a sud-ovest, le piante si spingono più in alto per una maggior irradiazione solare; viceversa, nelle regioni mediterranee, il limite di distribuzione delle piante scende perché a quote superiori l'aridità è tale da non permetterne lo sviluppo. Infine, il limite della vegetazione arborea non è fisso, ma tende ad innalzarsi, sia per l'abbandono dei pascoli di alta quota, che permette la crescita della vegetazione arborea, sia per effetto dell'aumento di temperatura, avvenuto nelle ultime decadi.

Attualmente, a livello europeo e con l'entrata in vigore della Direttiva Quadro sulle Acque (2000/60/CE; EU, 2000), la comune accezione per **lago d'alta quota** è quella di un **lago situato al di sopra dei 2000 m s.l.m.** Oltre a tale limite, si estende il piano alpino che raggiunge le vette montuose e che è caratterizzato da basse temperature, praterie magre, pareti rocciose, conoidi di frana, nevai e, solamente alle quote più alte, da ghiacciai. In questa sede, sono ospitati laghi che possono avere o meno un immissario definito o essere alimentati da acque di fusione di nevai e/o di ghiacciai, ma che solitamente hanno un emissario. Sono spesso quindi considerati un'interruzione al flusso d'acqua di ruscelli o torrenti disseminati sulle montagne. I laghi alpini possono avere diversa origine (anche se la maggior parte risale all'ultima glaciazione) e diversa profondità (variabile approssimativamente fra 2 e 70 m); possono essere soggetti a periodi molto diversi di copertura ghiacciata (fino a 8 mesi) e possono presentare o meno vegetazione emersa o sommersa. È facile quindi capire come mai alcuni di essi siano soggetti a forti variazioni di livello che tendono a

destabilizzarne le comunità che li abitano, rompendo equilibri importanti per il mantenimento di popolamenti vegetali ed animali.

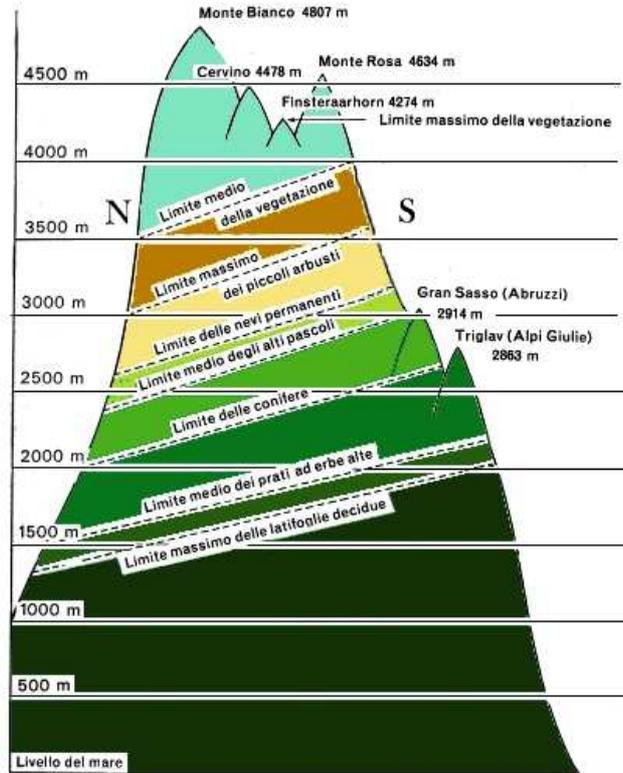


Fig. 1 – Distribuzione delle fasce altitudinali di copertura vegetale sulle Alpi e sugli Appennini (modificato da Landolt & Kauffmann, 1961).

Laghi poco distanti fra loro possono essere molto diversi a causa della differente origine e delle caratteristiche geologiche dell'area in cui sono insediati. Proprio questa difformità ha reso necessaria una tipizzazione degli ambienti lacustri basata su origine, morfologia e aspetti chimico-fisici delle loro acque, come richiesto della Direttiva Quadro sulle Acque. Secondo una prima classificazione, ambienti che manifestano caratteristiche analoghe e che appartengono quindi allo stesso tipo, dovrebbero ospitare le stesse specie di macroinvertebrati: i primi studi (Rossaro *et al.*, 2006, 2007), condotti su dati storici per verificare tale affermazione, sembrano invece negarla. Altri fattori sembrano essere più importanti nel determinare la composizione a macroinvertebrati delle acque di un lago, tra cui la concentrazione di ossigeno disciolto, la temperatura e lo stato trofico delle acque con il conseguente maggior o minor sviluppo fitoplanctonico e macrofitico.

I corpi idrici fortemente modificati

I corpi idrici fortemente modificati sono spesso confusi con i laghi artificiali, termine molto utilizzato nel linguaggio comune, che fa invece riferimento a laghi completamente creati dall'uomo, attraverso l'impermeabilizzazione del suolo in aree dove precedentemente non esistevano corpi idrici.

I corpi idrici fortemente modificati derivano da un precedente assetto fluviale del territorio naturale in seguito a sbarramento del corso d'acqua o da preesistenti laghi naturali ampliati. Sono costruiti per produzione di energia elettrica, rifornimento d'acqua a scopo irriguo o potabile, difesa dalle piene o dalle inondazioni, navigazione, pesca, oppure ad uso promiscuo. I laghi artificiali, invece, sono spesso costruiti come riserve di pesca o destinati alla piscicoltura. Entrambe queste tipologie di laghi forniscono benefici sociali ed economici al Paese e le modificazioni apportate ad essi dall'uomo sono permanenti. In questo testo, ci occuperemo dei soli corpi idrici altamente modificati e dei laghi naturali ampliati.

Tali corpi idrici sono principalmente distribuiti nell'Italia settentrionale a quota superiore ai 500 m s.l.m., ma inferiore a 2500 m con i più vasti e morfologicamente più complessi situati nell'area mediterranea. In base alla gestione delle loro acque, si distinguono **laghi a gestione idro-elettrica**, che accumulano e rilasciano acqua in tempo breve (spesso nell'arco della giornata), e **laghi a gestione idropotabile e irrigua**, che accumulano acqua nei mesi primaverili e la rilasciano in estate per mitigare gli effetti della siccità. Questi ambienti, soggetti come si è detto a forti variazioni di livello e che presentano un elevato grado di torbidità dell'acqua, sono abitati da una comunità molto uniforme. Infatti, l'ambiente litorale, stressato dai continui cambiamenti, non è in grado di sostenere popolamenti molto diversificati, ma spesso risulta "spopolato" o "sotto-popolato". La distribuzione spaziale sarà quindi fortemente influenzata dalla sedimentazione del particolato sospeso: laddove essa è maggiore, maggiore sarà anche la densità di popolazione di macroinvertebrati.

3) I macroinvertebrati

I macroinvertebrati sono un gruppo molto eterogeneo di organismi animali, senza precisa connotazione tassonomica, costituito da ordini diversi fra loro, ma tutti visibili ad occhio nudo. La maggior parte di essi è rappresentata dagli Artropodi, in particolare, larve (e pupe negli olometaboli) acquatiche di insetti che in acqua compiono parte del loro ciclo vitale (Coleotteri, Efemerotteri, Eterotteri, Megalotteri, Odonati, Plecotteri, Tricotteri, Tricladi, Ditteri Chironomidi, Culicidi, Limonidi, Muscidi, Tipulidi, ecc), ma ne fanno parte anche Molluschi, vermi Oligocheti, Irudinei, Isopodi, Idracarini, Poriferi, fino ad arrivare ad organismi di maggiori dimensioni: i Crostacei Decapodi.

I macroinvertebrati vengono così definiti in quanto sono invertebrati con dimensioni superiori a 0,5 mm (ISO 7828, 1985; Rosemberg & Resh, 1993), sebbene i primi stadi di sviluppo abbiano misure inferiori. Si distinguono quindi dai microinvertebrati che posseggono dimensioni inferiori a tale soglia (Protozoi, Rotiferi, Gastrotrichi, Tardigradi, Idracarinidi, Ostracodi).

I macroinvertebrati vivono all'interfaccia acqua-sedimento, dove si muovono attraverso e sopra i sedimenti costituendo la comunità bentonica (o **bentos**). Parte di essi è **sessile**, ossia vive ancorata al substrato (alcuni Molluschi dotati di bisso ed i Poriferi), mentre la maggior parte è **vagile**, e si muove di moto autonomo spostandosi all'interno del substrato (Molluschi, Oligocheti, alcuni Ditteri Chironomidi) e costituendo quindi l'**endobentos** o su di esso (i gruppi rimanenti) entrando a far parte dell'**epibentos**.

Alcune specie possono far parte, non solo della comunità bentonica, ma di comunità diverse, entrando a far parte del **pleuston** che vive associato al film superficiale d'acqua (interfaccia acqua-aria). Queste forme hanno solitamente una cuticola idrofobica che permette loro di muoversi sulla superficie acquosa (ad esempio gli Emitteri Eterotteri - **epipleuston**), dove "galleggiano" per effetto della tensione superficiale sul pelo dell'acqua, o di attraversarla (Coleotteri Girinidi). Esistono anche forme che possono portarsi al di sotto della superficie dell'acqua per trarre ossigeno direttamente dall'aria (Ditteri Culicidi - **ipopleuston**), mentre alcune altre forme (Ditteri Caoboridi) conducono anche vita **planctonica**.

Si tratta quindi di una comunità complessa che vive su di una superficie, ed è quindi soggetta non solo alle variabili ecologiche legate alle acque, ma anche a quelle legate ai sedimenti, variabili che cambiano notevolmente con la profondità. In generale, infatti, laghi distribuiti in un certo ambito geografico presentano variazioni delle caratteristiche fisiche (dimensioni, forma, profondità massima e quota) e chimiche, strettamente correlate alla geologia del territorio, all'esposizione della conca lacustre, alla presenza di un immissario o di risorgive sub-lacuali. Queste caratteristiche, nel

loro insieme, determinano anche la composizione faunistica delle comunità presenti nella conca lacustre. Proprio per questo e per la loro capacità di integrare informazioni di diversa provenienza, sin dalla fine degli anni '70, gli invertebrati bentonici sono stati utilizzati nel biomonitoraggio per verificare gli effetti prodotti da una sostanza tossica, o l'efficacia delle tecniche di gestione della risorsa idrica o delle misure di conservazione adottate. Ma il biomonitoraggio può risultare essenziale anche nel valutare l'emergere di un problema ambientale, o nel valutare la qualità dell'acqua. Tutti gli obiettivi, precedentemente citati, possono essere raggiunti attraverso misure di variazioni nella composizione della comunità o nelle densità dei diversi popolamenti, attraverso lo studio del bioaccumulo di sostanze tossiche, mediante test tossicologici condotti in campo o in laboratorio, ma anche attraverso i cambiamenti genetici eventualmente insorti a causa di forti stress. In pratica quindi, i macroinvertebrati sono senz'altro uno dei gruppi più utilizzati e raccomandati nella valutazione della qualità dell'acqua.

4) Scelta della strumentazione idonea

Campionatori e metodi per acque superficiali e per specie di grandi dimensioni

Per la cattura di specie di dimensioni relativamente grandi (Crostacei Decapodi o Molluschi) nella zona litorale si possono utilizzare le seguenti tecniche:

- campionamento manuale tramite censimento visivo;
- campionamento tramite substrati artificiali;
- campionamento con trappole e nasse;
- campionamento tramite elettrostorditori;
- campionamento con reti professionali.

Campionamento manuale

Nel caso di Decapodi, questa tecnica di pesca viene effettuata di notte, basandosi sulle capacità visive e l'esperienza dell'operatore, con l'ausilio di torce elettriche. È adatta al campionamento delle classi di età in attività al momento del monitoraggio: risulta quindi essere l'unica tecnica efficace ai fini della cattura di esemplari giovani, entro i due anni di età.

Sfrutta il momento di maggiore attività di specie come gamberi e granchi (che escono dai rifugi per foraggiare ed eventualmente migrare durante le ore notturne, prevalentemente dopo il tramonto); si effettua percorrendo, a piedi e lentamente, il litorale lacustre, illuminando il fondo con una torcia elettrica e perlustrandolo per l'intera sezione bagnata dall'acqua. È una tecnica che presenta notevoli vantaggi: è rapida e facile da effettuare, non richiede una dotazione strumentale specifica e costosa, consente di sondare tutta l'area di studio ed è poco selettiva rispetto alle classi di taglia. Ha però anche un certo numero di svantaggi: può essere applicata solo in ambienti che siano percorribili a piedi e, operando durante le ore notturne, è considerata "scomoda". Il confronto della dimensione di popolazione tra siti diversi può essere effettuato applicando la tecnica della "cattura per unità di campionamento" (*catch per unit effort*), che consiste nel quantificare il numero di animali catturati a parità di sforzo (per esempio, a parità di tempo dedicato alla cattura). Un'altra tecnica adottata per monitorare le popolazioni di vari animali, soprattutto nel caso si vogliano studiare le dinamiche di popolazione di grossi crostacei, è quella della "cattura-marcatura-ricattura" (*mark-recapture*) (Nowicki *et al.*, 2008). Una volta cercati gli animali, questi vengono marcati in vari modi, per esempio praticando un piccolo foro in differenti parti del corpo dell'animale. All'uscita di campagna successiva si verifica il numero degli individui marcati ricatturati rispetto a quelli non marcati per poi applicare equazioni matematiche relativamente semplici che permettono di stimare le dimensioni della popolazione con un buon grado di approssimazione.

La stessa tecnica, adottata di giorno, risulta meno efficace, data la limitata attività di questi organismi nel periodo diurno e la loro abilità a nascondersi nelle tane da loro scavate (nel caso, per esempio, del Gambero rosso della Louisiana, *Procambarus clarkii*) fra la vegetazione, le radici e sotto le rocce.

La raccolta manuale diretta dei Molluschi viene adottata in quanto risultano inapplicabili tutte quelle tecniche utilizzate generalmente per animali di grosse dimensioni, che si avvalgono di trappole e di altri apparecchi atti alla cattura delle specie stesse. Grazie ad una buona conoscenza della biologia e della distribuzione delle varie specie, all'esperienza e alla conoscenza del territorio, si può arrivare ad una facile individuazione dei siti idonei e delle specie presenti, anche di quelle più rare.

La raccolta manuale diretta viene effettuata secondo svariate modalità (Stayer & Smith, 2003), che prevedono la raccolta alla superficie del sedimento camminando o nuotando, ma anche la ricerca accurata scandagliando il fondo usando una maschera da sub. Il primo tipo di raccolta è però poco rappresentativa, se non addirittura inappropriata, qualora si vogliano ottenere dati di densità, perchè è qualitativo e tende a sottostimare l'abbondanza dei diversi taxa, soprattutto nel caso di individui piccoli e di organismi che vivono molto sprofondati nel sedimento. Una ricerca dettagliata prevede invece la raccolta entro aree di dimensioni variabili fra 0,1 -1 m² o lungo transetti (1 m di larghezza x 10 m di lunghezza) per ottenere campioni quantitativi. Ci si avvale allora di "intelaiature" (Fig. 2a), che possono essere rettangolari, quadrate o cilindriche, che, appoggiate sul sedimento forniscono un'area nota di riferimento, all'interno della quale si procede alla raccolta degli organismi.

Anche in questo caso si può adottare la tecnica della *mark-recapture* per studi dimensionali di una popolazione ormai sviluppata, o per conoscerne il tasso di sopravvivenza, mortalità o migrazione.

Campionamento tramite substrati artificiali

Questa tecnica permette un campionamento standard e quindi il confronto tra campioni di siti diversi; è adatta a laghi con rive ripide o elevate profondità, che rendono inaccessibile l'uso di altre metodiche. Tali substrati, composti da fascine, tubi in PVC con diverso diametro o mattoni da costruzione forati, singoli o in file, impilati ed allineati, forniscono ai Decapodi protezione e rifugio da possibile predazione e cannibalismo. Vengono posizionati preferibilmente nelle zone ecotonali (per esempio, tra canneto e macrofite), durante il periodo primaverile-estivo, e devono essere

recuperati dopo almeno una ventina di giorni dal loro posizionamento. La cattura viene eseguita rimuovendo i mattoni e gli altri substrati e catturando gli animali ivi nascosti.

Campionamento con le nasse

È una tecnica molto diffusa per i Decapodi e praticabile tutto l'anno, sufficientemente economica, utilizzabile anche in acque più profonde di quelle percorse per la pesca manuale e/o torbide. Risulta però una tecnica impegnativa, che tende a selezionare gli animali catturati in base alle loro dimensioni (per esempio, la taglia minima dei gamberi catturati è di 4-5 cm di lunghezza totale), al sesso, con catture più abbondanti di maschi, che risultano di norma più vagili rispetto alle femmine, e allo stadio riproduttivo (le femmine ovigere risultano di norma meno vagili delle femmine non ovigere). Dipende inoltre dall'esca utilizzata ed è influenzata dalla morfologia dell'ambiente. Tale metodo andrà quindi in ogni caso abbinato al censimento visivo.

Le nasse (Cannaviello, 1927), dotate di telaio e maglie adeguate allo scopo, hanno una struttura allungata (Fig. 2b), provvista di una chiusura facilmente rimovibile che permette l'introduzione dell'esca e, alle due estremità, di un sistema di apertura ad imbuto dal quale gli animali, una volta entrati, non potranno uscire. Le trappole, innescate con pezzi di carne o pesce, sono normalmente posizionate al tramonto per poi essere recuperate all'alba.

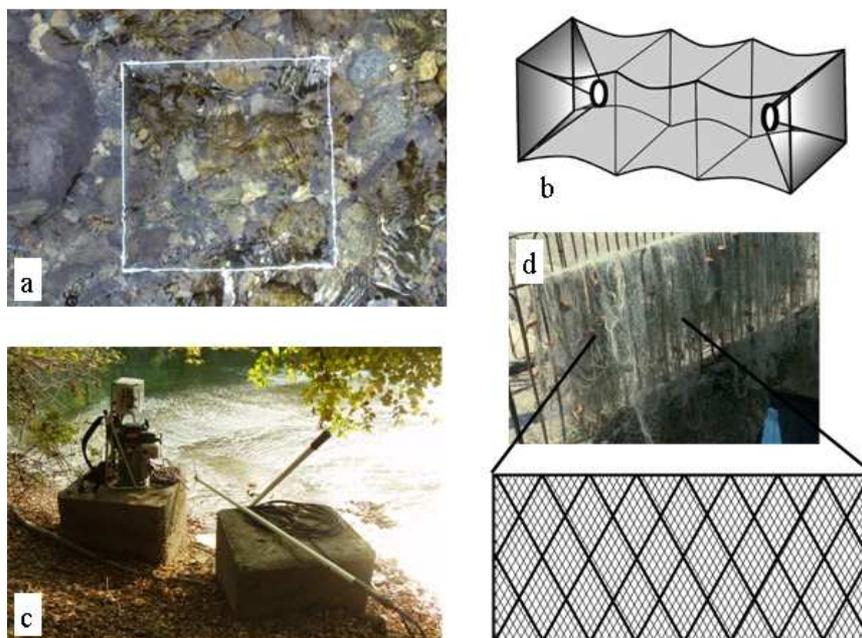


Fig. 2 – Metodi di campionamento da riva per specie di grandi dimensioni : a) intelaiatura quadrata; b) nassa; c) elettrostorditore; d) rete a Tremaglio.

Questa tecnica consente di operare in situazioni standardizzate; non sono influenzate dalle condizioni stagionali e presentano un'efficacia che si estende all'intero periodo di collocazione *in loco*. L'appoggio di un'imbarcazione per la posa ed il salpaggio delle trappole facilita lo studio della fascia litorale, ma soprattutto di quella sublitorale. Anche in questo caso esiste la possibilità di operare un confronto tra siti in base al *catch per unit effort*, dove lo "sforzo" consiste in questo caso nel tempo di posa delle nasse in acqua. Anche la tecnica del *mark-recapture* è attuabile con questa tipologia di pesca, in quanto i Decapodi, così come più in generale i macroinvertebrati, sono relativamente longevi e territoriali.

Oltre alle classiche nasse, sono oggetto di studio alcune varianti che possono evitare la cattura di altre specie, come anfibi o testuggini (in particolare l'indigena *Emys orbicularis*).

Campionamento tramite elettrostorditori

Nei laghi, la pesca elettrica dei Decapodi viene effettuata con elettrostorditori di grosse dimensioni (peso fino a 80 kg) e potenza elettrica elevata, che vengono calati da una imbarcazione (Fusi, 2004; Scardi *et al.*, 2007). Gli elettrostorditori (Fig. 2c) consentono di lavorare in sicurezza, sono molto efficaci, ma possono danneggiare i grandi crostacei, anche se non li uccidono. Tale tecnica non è selettiva, è facilmente attuabile, ma è inefficace nei confronti di animali nascosti nelle tane, raramente colpiti dall'effetto storditore; inoltre, l'attrezzatura necessaria è costosa, richiede personale esperto per poter essere utilizzata ed è applicabile ad ambienti piccoli e limitatamente a zone dotate di scarsa profondità.

L'elettrostorditore basa la sua efficacia sulla generazione in acqua di un campo elettrico, in grado di stordire per breve tempo la fauna acquatica in maniera proporzionale all'aumentare della differenza del potenziale prestabilito: lo stato di stordimento facilita la cattura. La pesca elettrica sfrutta le reazioni indotte negli animali dalla corrente che li attraversa, come conseguenza del campo elettrico che si forma immergendo in acqua un polo con carica positiva e uno con carica negativa. Gli animali che si trovano nel campo compreso tra i due poli vengono attirati da quello positivo, verso il quale si dirigono, per poi rimanere storditi.

La barca utilizzata deve essere mossa in maniera tale da consentire una buona copertura degli habitat, specialmente dove il fondo è ricoperto da vegetazione. Le procedure di pesca e l'equipaggiamento differiscono a seconda della profondità dell'acqua e del sito di campionamento. La selezione di onde *DC* (corrente diretta) o *PDC* (corrente diretta a impulsi) dipende dalla conducibilità dell'acqua, dalle dimensioni del corpo idrico e dalle specie oggetto di cattura. In generale, per migliorare l'efficacia della cattura in diverse condizioni ambientali, i moderni

elettrostorditori sono dotati di dispositivi interni che consentono la produzione delle due forme di onde elettriche: *DC* o *PDC*.

Campionamento tramite reti professionali

Tale tecnica di cattura dei Decapodi è utilizzabile nella seconda parte dell'anno (durante l'autunno e l'inverno), quando la posa delle nasse diviene difficoltosa. Sono consigliate reti da fondo a maglie di 26, 34 e 40 mm e reti da posta fisse, quali la rete a Tremaglio (o Tramaglio; Fig. 2d). È auspicabile la collaborazione con pescatori professionisti.

Il Tremaglio viene ancorato in modo fisso al fondale con pesi in piombo in modo da creare una copertura di reti distesa orizzontalmente: così posizionata, la rete non cattura la fauna ittica e può quindi rimanere *in loco* per più giorni. Il Tremaglio (Cannaviello, 1927) è formato da tre pezze di rete sovrapposte e collegate lungo il loro lato maggiore. Le due esterne, dette maglione, sono a maglie più grandi di quella interna e fanno sì che gli animali possano facilmente superarle. Una volta entrati a contatto con la seconda pezza di rete, gli animali trovano una specie di sacca e, nel tentativo di sfuggire, tendono ad impigliarsi sempre di più. Anche questa metodica può selezionare le catture sulla base delle dimensioni, anche se in minor misura rispetto alla cattura con nasse.

5) I sedimenti

La maggior parte dei macroinvertebrati sono bentonici, ossia trascorrono almeno parte della loro vita a contatto con i sedimenti o infossati in essi: quindi, i sedimenti rappresentano la loro sopravvivenza, costituendo un luogo di riposo, di acquisizione del cibo, di riproduzione e sviluppo, e di rifugio dai predatori o da condizioni inospitali.

I sedimenti vengono suddivisi in sedimenti duri e sedimenti molli sulla base della loro consistenza e composizione: queste due diverse categorie obbligano l'operatore a differenti metodologie di approccio e di campionamento. I primi vengono utilizzati dagli organismi perché offrono la loro superficie come punto di ancoraggio o di accumulo di alghe incrostanti, mentre i secondi vengono utilizzati nella loro interezza.

Quando si campionano i sedimenti si vuole ottenere un'accurata rappresentazione della natura del sedimento nell'area di studio e della fauna che in esso vive. Proprio per questo, il campione raccolto deve assomigliare quanto più possibile al materiale originario e conservare la struttura di popolazione caratteristica di quella determinata area. Disturbo o alterazione del campione possono ovviamente essere previsti quando si cerchi di compattare il sedimento, miscelarlo o ridurlo in frazioni. Sorgenti di disturbo possono essere dovute ai movimenti del campionatore su fondi bassi, prima o durante la raccolta, all'onda di pressione che anticipa l'arrivo dello strumento, alla resistenza alla penetrazione opposta dal campionatore stesso, alla sua inclinazione o ad eliminazioni e perdite durante la fase di recupero. Si deve inoltre tener conto delle correnti per evitare rotolamenti, inclinazioni o deviazioni dei campionatori; si deve evitare l'uso di cavi più lunghi del necessario e considerare il peso del campionatore, in modo che questo sia adeguato a controbilanciare le velocità di corrente e ad assicurare che il campionamento avvenga nel luogo desiderato o in area limitrofa.

Se però esistono solamente tre diverse metodiche di campionamento per i sedimenti duri, per i sedimenti molli esistono diverse metodiche e diverse tipologie di campionatori. Nel primo caso, si tratta di metodi manuali che possono coinvolgere anche personale subacqueo o che adottano retini immanicati, mentre nel secondo si utilizzano benne o draghe e carotatori. Le benne o draghe hanno capacità di penetrare fino a circa 10-15 cm nel sedimento e permettono di ottenere una visione spaziale superficiale dei sedimenti di fondo (con una distribuzione orizzontale dei parametri chimico-fisici e biologici di sedimento di deposizione recente), mentre i carotatori penetrano più in profondità (oltre i 15 cm e fino ad alcuni metri) attraverso sezioni trasversali con la possibilità di ottenere un quadro di distribuzione spaziale verticale. Altre metodiche di campionamento e

tipologie di campionatori, meno usate rispetto alle precedenti, vengono illustrate per completezza di informazione.

I sedimenti duri

Raccolta manuale diretta

La raccolta manuale diretta è prevista qualora il substrato non sia idoneo all'uso del retino immanicato, o quando si desiderano campionare organismi particolari, quali i Molluschi. Tale tecnica è stata descritta precedentemente nel dettaglio, si rimanda quindi al capitolo "Campionatori e metodi per acque superficiali e per specie di grandi dimensioni".

Raccolta manuale tramite subacquei

I subacquei possono eseguire una raccolta manuale sui fondali più profondi, dove non sarebbe possibile accedere senza l'attrezzatura da immersione, su substrati non idonei all'attrezzatura standard, quali pareti rocciose.

In alcuni casi, l'impiego dei sommozzatori risulta indispensabile anche quando si utilizzano degli strumenti specifici: infatti, se si utilizzano dei carotatori, i subacquei possono aiutare la penetrazione dello strumento, forzandolo dentro i sedimenti duri, o possono stabilizzare gli strumenti stessi o, nel caso di reti a slitta, verificarne il percorso.

I sommozzatori (Fig. 3a), generalmente subacquei sportivi o in forza ai Vigili del fuoco, previo idoneo *training* di formazione da parte di esperti biologi, raccolgono più repliche all'interno di un telaio quadrato di area fissa e le pongono in barattoli della capacità di 100 cc, ottenendo così campioni quantitativi. Una volta in superficie, i campioni vengono fissati e trattati come descritto nel seguito al capitolo "Trattamento dei campioni".

L'uso dei sommozzatori permette una visione approfondita ed estesa dei fondali, molto più dettagliata rispetto a qualsiasi immagine fotografica o filmato, ma, per motivi legati alla capacità delle bombole ad aria compressa, l'area visualizzata ad ogni immersione è limitata. Tale tecnica resta quindi limitata a monitoraggi ripetuti nel tempo di piccole aree, più che al mappaggio di aree estese. L'utilizzo di bombole ad aria compressa limita non solo il tempo di lavoro, ma anche la profondità che è possibile raggiungere. Scendere al di sotto dei 30 m di profondità è difficoltoso. Ulteriori aspetti negativi sono le forti correnti a cui i sommozzatori possono talora essere soggetti, soprattutto negli invasi, che apportano ulteriori limitazioni al tempo lavorativo, ed il rischio associato all'immersione, in particolare alla fase di decompressione.

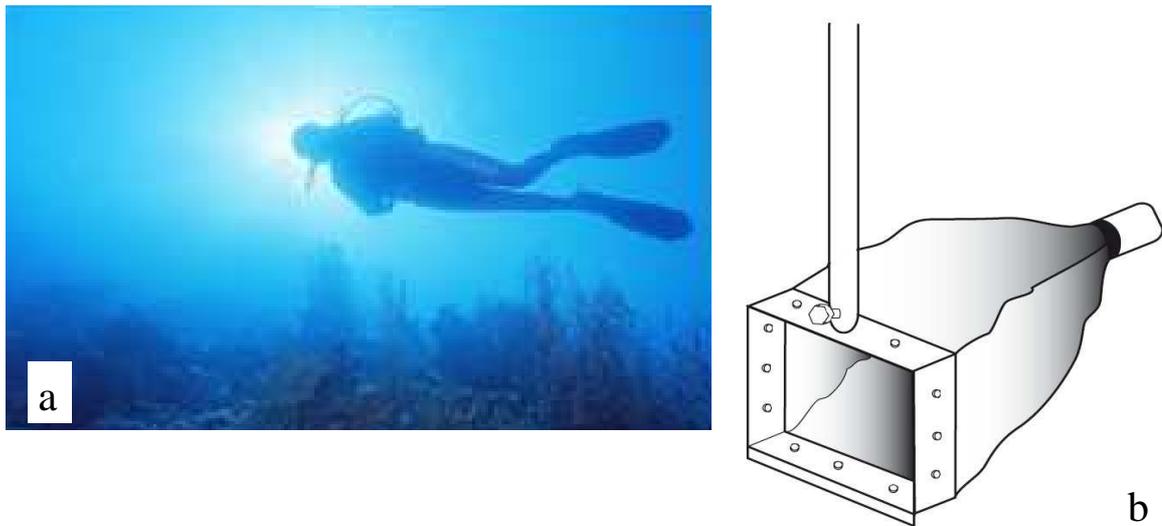


Fig. 3 - Metodi di campionamento per sedimenti duri: a) subacquei; b) retino immanicato.

Raccolta tramite retino immanicato

Il retino immanicato viene soprattutto utilizzato nel caso di habitat caratterizzati da profondità inferiori a 1-0,5 m con substrati costituiti da roccia nuda, massi, ciottoli, ghiaia, sabbia, ma anche nel caso di fondali fangosi e coperti di macrofite (Frost *et al.*, 1971; Storey *et al.*, 1991; Hauer & Resh, 1996).

Questo strumento è formato da un'intelaiatura rettangolare o a semicerchio di metallo (Fig. 3b), di acciaio sottile o di alluminio, con bordo inferiore piano, in modo da riuscire a mettere in contatto il bordo stesso con il substrato. All'intelaiatura è collegato, da un lato, un manico e, dall'altro lato, una rete e, a quest'ultima, un contenitore forato, dotato di rete con maglie uguali a quella del resto del retino. Nel contenitore vengono raccolti gli organismi. Il telaio deve essere abbastanza grande da consentire la raccolta di un campione adeguato, ma non deve essere troppo ampio per non opporre resistenza al movimento in acqua durante il campionamento.

Le dimensioni standard sono: se l'imboccatura del telaio è quadrata 25 x 25 cm, altrimenti 25 x 22 cm nel caso di un semicerchio. Il manico deve avere una lunghezza di almeno 150 cm (anche formato da più pezzi smontabili), mentre la rete annessa deve avere almeno maglie di 250 μ m e profondità di 60 cm. La rete è sicuramente la parte più importante dello strumento; è costituita da una tela che deve essere elastica e nello stesso tempo resistente alle abrasioni. Per questo motivo, si utilizzano generalmente materiali sintetici (nylon, seta) che abbiano sufficiente elasticità e che non si deteriorino facilmente. Il campionamento con retino immanicato viene eseguito utilizzando i

pie di (*kick sampling*) e le mani per smuovere il fondo, mentre il manico viene tenuto verticale. Il substrato deve essere scandagliato in entrambi i sensi di marcia, anche tra le grosse pietre e tra la vegetazione. Gli organismi che dovessero essere rimasti all'interno della rete possono essere raccolti manualmente e aggiunti al campione. Fra una stazione di raccolta e l'altra, la rete deve essere lavata accuratamente, sciacquata ed esaminata in modo da evitare contaminazioni dei campioni successivi. Nel caso in cui dovessero essere presenti alghe incrostanti, bisogna risciacquare più volte il retino per evitare l'intasamento della rete del contenitore e il traboccamento. Per ottenere dati di tipo quantitativo si campiona utilizzando una base temporale fissa (3-5 min).

Dimensione delle maglie

La dimensione delle maglie del retino dipende dagli obiettivi che ci si prefigge. Va ricordato che minore è l'ampiezza delle maglie, maggiore sarà il pericolo di ostruzione provocato dal detrito e dagli organismi stessi; se invece si ha una rete con maglie larghe, diminuisce la stima della ricchezza dell'abbondanza dei diversi taxa (sottostima). Il risultato sarà quindi in entrambi i casi una perdita di campione.

La scelta della dimensione delle maglie del retino è finalizzata agli scopi della ricerca e all'efficienza richiesta al campionamento (Jonasson, 1955, 1958; Storey & Pinder, 1985; ISO 9391, 1993). Se il tema principale è meramente descrittivo, ossia un elenco faunistico dell'ambiente di studio, non sarà necessario prelevare campioni dettagliati e che prendano in considerazione tutti gli stadi larvali di sviluppo. Per ridurre i tempi di lavorazione del campione, si potrà usare una rete a maglie larghe (500 µm). Ma se lo scopo della ricerca è mirato a raccogliere informazioni esaustive e relative all'autoecologia delle specie, alla produzione secondaria di un ambiente, alle dinamiche di popolazione o allo studio dei cicli riproduttivi degli organismi, allora sarà necessario utilizzare reti a maglia molto fine (250 µm), per raccogliere anche i primi stadi di sviluppo larvale degli insetti.

I sedimenti molli

Benne o draghe

Le benne o draghe sono strumenti di campionamento atte alla raccolta di sedimento superficiale che non permettono il mantenimento del campione integro per uno studio di dettaglio in strati significativi quali quelli evidenziati tramite campionamento con carotatori (Downing, 1984; Mudroch & MacKnight, 1994).

Generalmente, le benne consistono di un sistema di chiusura a cucchiaio (dotato di ganasce) che si chiude una volta toccato il fondo, con o senza l'aiuto di un messaggero. A questo proposito, si consiglia di portare sempre con sé un messaggero di riserva. Una volta raccolto il campione, le benne vanno riaperte all'interno di un contenitore di buona capacità per essere svuotate dal sedimento. Le misure delle benne riportate in Appendice si riferiscono alla strumentazione standard; qualora lo si desidera è possibile fare richiesta per dimensioni e materiale da costruzione diversi da quelli standard.

La scelta di una determinata draga dipenderà dallo studio e dagli obiettivi che ci si prefigge e dal tipo di substrato presente sul fondo.

Ekman-Birge

La draga di Ekman-Birge (Fig. 4a; Downing, 1984; Mudroch & MacKnight, 1994) è formata da una scatola a base quadrata, generalmente di acciaio inossidabile, dotata di due ganasce a molla che prelevano il campione e poi lo trattengono al loro interno.

Il mercato offre diverse misure di questa benna, tali da coprire volumi che vanno dai 3500 ai 28320 cm³. Questa benna funziona tramite messaggero. Una volta toccato il fondo, la chiusura delle ganasce impedisce qualsiasi perdita di sedimento. È utilizzata su sedimenti soffici a granulometria fine o composti da sabbia e limo.

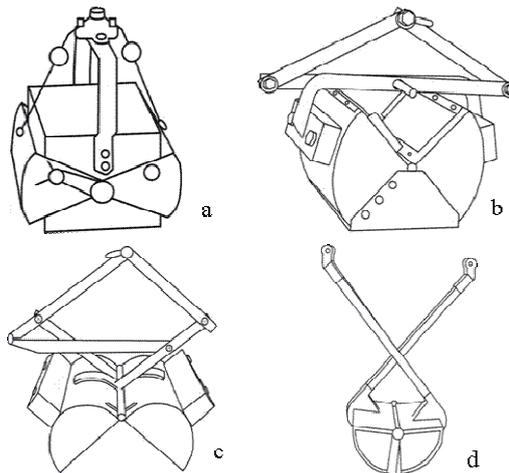


Fig. 4 – Metodi di campionamento per sedimenti molli.
Draghe: a) Ekman-Birge; b) Ponar, C) Petersen ; d) Van Veen.

Lo strumento deve essere abbassato delicatamente sul fondo per evitare perturbazioni del substrato, quando tocca il fondo, viene inviato un messaggero lungo il cavo che trattiene la draga e viene innescato il meccanismo che fa chiudere le ganasce. In caso di sedimenti molto soffici e con un forte contenuto d'acqua il campionario tende a penetrare troppo in profondità; questo può essere evitato lasciando andare il messaggero non appena lo strumento tocca il sedimento di fondo. Il campione deve poi essere recuperato immediatamente.

Tale draga, qualora abbia piccole dimensioni, è preferita a causa del suo minor peso, tuttavia in substrati sabbiosi o ricchi di detrito organico grossolano può non penetrare a sufficienza nel

sedimento e non chiudersi completamente. Per queste situazioni esistono modelli di draga appesantiti.

Ponar

Lo strumento consiste in una struttura a conchiglia (Fig. 4b) che si richiude una volta toccato il fondo, e trattiene il sedimento prelevato all'interno di una scatola. Questa draga viene calata tramite argano e non necessita di messaggero (Downing, 1984). È dotata di due ganasce di grandi dimensioni che si chiudono con un'azione a forbice tramite una serie di leve: una barretta posta trasversalmente mantiene aperte le ganasce mentre lo strumento viene calato con un cavo verso il basso. Una volta toccato il fondo, la tensione sulle barre viene a mancare e, quando la draga viene sollevata verso l'alto, le ganasce si chiudono. La chiusura delle ganasce è leggermente sovrapposta in modo da impedire perdite durante la risalita. La parte superiore delle ganasce è coperta da una rete a maglie sottili che permette il passaggio dell'acqua durante la discesa e attenua l'onda d'urto sul fondo. Questa draga è utilizzabile su diversi tipi di sedimento, da quelli soffici e a granulazione fine a quelli sabbiosi compatti, con l'eccezione di sedimenti argillosi duri.

La chiusura della draga è meno ostacolata dalla presenza di detrito rispetto alle altre, ma ha lo svantaggio di essere abbastanza pesante. I campioni prelevati, che presentino ganasce inceppate o tenute aperte da rami o pietre, devono essere eliminati. La forma del campione prelevato è semi-circolare per i campioni di fango e piatta per i campioni di ghiaia.

La draga Ponar è adatta per il campionamento qualitativo e quantitativo su fango e ghiaia con pietre di piccole dimensioni non superiori a 16 mm di lunghezza.

Petersen

Questa draga (Fig. 4c) è utilizzata per ottenere campioni di sedimento più consistenti rispetto alla precedente, come sabbia, ghiaia e argilla compatta. È dotata di piccole aperture laterali, nelle ganasce, che riducono l'onda d'urto frontale. Viene azionata manualmente. La draga Petersen riesce a mantenere una discesa pressoché verticale in qualsiasi condizione, ma può essere appesantita tramite pesi da aggiungere alle ganasce, che ne facilitano la penetrazione anche in substrati più compatti. Quando viene utilizzata su substrati molto grossolani o ricchi di conchiglie, alcuni frammenti possono bloccare la chiusura delle ganasce impedendo la raccolta dei campioni. Solitamente, dato il peso non indifferente di questa benna, i risultati denotano una perdita del sedimento più superficiale.

Van Veen

La draga di Van Veen (Fig. 4d) è utilizzabile su qualsiasi tipo di sedimento da quelli soffici e a granulometria fine a quelli sabbiosi, in acque profonde e con notevole corrente.

È reperibile in vari formati ed è stata progettata per prelevare grandi campioni: infatti, le lunghe braccia e gli spigoli di taglio delle palette permettono di tagliare il sedimento in profondità. Anche in questo caso, piccole aperture sulle ganasce permettono il passaggio dell'acqua consentendo una discesa pressoché verticale, anche in presenza di forti correnti, e riducendo l'onda d'urto sul fondo. Simile alle draghe Ponar e Petersen, se ne distingue per dimensioni e peso, tanto che è solitamente usata in ambiente marino, più che d'acqua dolce. Uno dei problemi frequenti in questo tipo di strumento è la predisposizione a dilavare il sedimento con perdita della frazione fine superficiale, spesso molto importante da un punto di vista ambientale.

Criticità d'uso ed accettabilità dei campioni da draga

Uno dei principali problemi che sorge, usando le comunità a macroinvertebrati come indicatori di qualità, sono le differenze naturali intrinseche alla struttura di comunità causate da fattori diversi dalla qualità dell'acqua, primo fra tutti la natura del substrato. Non tutti gli strumenti di campionamento sono infatti idonei per essere utilizzati sulle diverse tipologie di sedimenti e alle diverse profondità riscontrate in un lago (e.g. retini immanicati e reti a slitta). Nel caso in cui sia richiesto non solo un elenco di specie, ma anche il calcolo della densità e della biomassa di queste, il numero di campionatori utilizzabili in campo si riduce a quelli quantitativi, quali carotatori, draghe e benne. Questi campionatori presentano però difficoltà nel loro uso e, spesso, solamente un esperto riesce a condurre a buon fine una campagna di campionamento, riuscendo ad ottimizzare tempi di raccolta e sforzo di campionamento.

Dato il loro peso e l'uso del messaggero, è preferibile usare le draghe in condizioni di scarsa corrente in modo che possano penetrare perpendicolarmente alla superficie (Fig. 5 - 1). Inoltre, la scelta dell'uso di una delle diverse draghe citate si basa principalmente sulla compattezza del substrato. Tutte le draghe citate, infatti, sono preferibili in caso di sedimenti molli, in quanto la presenza di sassi o radici complica la chiusura dello strumento. Draghe più pesanti, quali quella di Petersen sono più idonee su substrati relativamente duri, caratterizzati da sassi e ghiaia, mentre draghe più leggere, quali la Ponar, sono generalmente ritenute idonee per fondali con substrati molli (fango) e ghiaia fine. Alcune, quali la draga di Ekman-Birge, sono poco idonee in presenza di substrati sabbiosi o ricchi di detrito organico grossolano dove possono non riuscire a penetrare nel sedimento e non chiudere. Il mal funzionamento di una draga può avvenire quando forti correnti o pendenze impediscono una discesa lineare della draga e/o del messaggero (Fig. 6). Quando la draga tocca il fondo, tende quindi ad inclinarsi, appoggiandosi su un lato, rendendo impossibile la buona riuscita del campionamento. Inoltre, pietre di piccole dimensioni possono rimanere tra le ganasce o particelle fini possono insinuarsi tra il lato della scatola e le ganasce, creando attrito ed impedendo la buona chiusura dello strumento, con conseguente parziale perdita di campione (Fig. 5 - 2).

In questi casi il campione deve essere eliminato e l'operazione deve essere ripetuta.

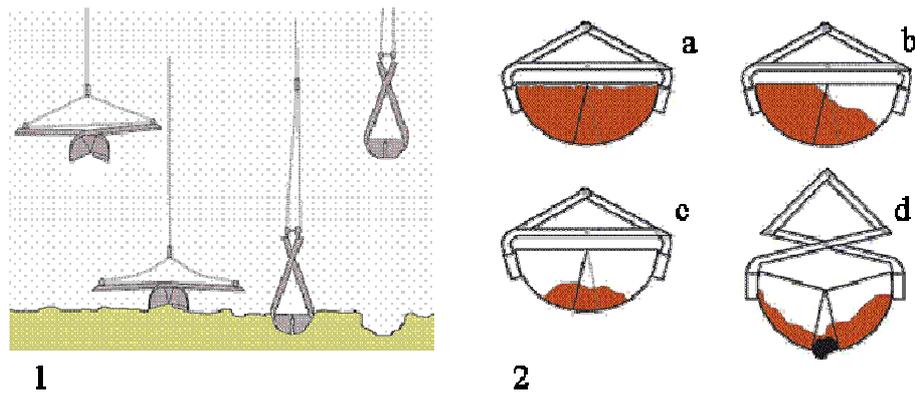


Fig. 5 – (1) Schema di funzionamento e (2) raccolta di un campione da draga: a) draga con campione integro accettabile; b) campione inaccettabile dovuto ad inclinazione della draga al momento della raccolta; c) campione inaccettabile per mancato sprofondamento nel sedimento; d) campione inaccettabile per inceppamento delle ganasce con pietre.

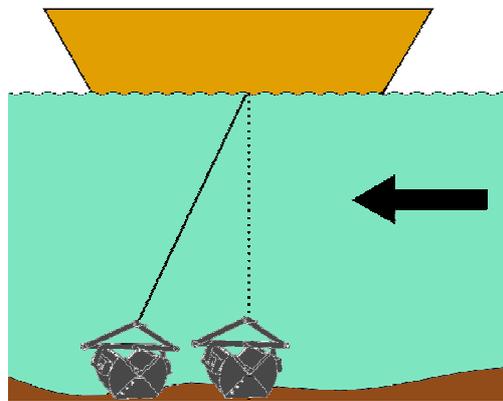


Fig. 6 – Spostamento della draga rispetto all'asse verticale nella sua discesa sul fondo.

Carotatori

I carotatori (detti anche carotieri) vengono utilizzati per campionare i sedimenti profondi e ottenere sezioni trasversali (così da riuscire ad avere una distribuzione verticale dei parametri chimico-fisici e biologici).

Sono formati da una camicia metallica che può avere peso variabile, all'interno della quale è presente un tubo (*liner*) in polietilene inerte, oppure in policarbonato trasparente, ma anche in PVC ed in acciaio inossidabile. Esistono molti tipi di carotatori, con diverse misure e diverse aree di campionamento.

All'estremità inferiore del tubo possono essere presenti alette o lamelle stabilizzatrici che hanno la funzione di agevolare l'ingresso del sedimento lungo il tubo in plexiglass. Inoltre, possono essere presenti lamelle convergenti con la funzione di trattenere il campione. Per migliorare la

penetrazione possono essere montati esternamente dei pesi, dei pistoni o un sistema che produce vibrazioni. I carotatori possono essere fatti scendere a velocità inferiori rispetto a quelle di una draga per ridurre l'onda d'urto, limitando il più possibile l'azione di disturbo del sedimento; i carotatori con maggior diametro riducono anche l'alterazione del campione per compressione.

I carotatori vengono utilizzati in substrati soffici (fondali di facile perforazione), costituiti prevalentemente da sedimenti fini come quelli limosi e limo-argillosi. Quando sono presenti substrati sabbiosi o limo-sabbiosi non si hanno buone penetrazioni. Inoltre, non sono adatti per campionare substrati a ghiaia o pietrosi (a struttura e grana grossa). In ambiente lacustre, gli strumenti più utilizzati sono i carotatori a gravità e quelli a pistone.

Carotatori manuali

Sono strumenti utilizzati generalmente per campionare sedimenti in bassi fondali. I campioni sono tipicamente inferiori a 1 m di lunghezza. I carotatori manuali (Fig. 7a) sono dotati di una valvola, che permette di far passare l'acqua quando si introduce lo strumento nel sedimento; la valvola si chiude quando invece il campione viene raccolto.

Carotatori a gravità

I carotatori a gravità sono utilizzati per il prelievo di campioni fino a 3 m di spessore, in sedimenti molli e fini (Downing, 1984). Sono strumenti formati da un tubo di acciaio per poter penetrare nel sedimento e vengono fatti scendere utilizzando la forza di gravità (Fig. 7b). Per raggiungere la profondità di penetrazione richiesta si utilizzano pesi di varie misure. Per la chiusura dello strumento all'estremità basale, viene inviato un messaggero, così da sigillare e conservare il campione quando lo strumento viene ritirato ed issato sulla barca.

Carotatori a pistone

Tali strumenti sono in grado di raggiungere maggiori profondità (fino a 20 m). Sono formati da una pesante testa stabilizzatrice (Fig. 7c), una barra con un tubo in plexiglass, un pistone, un centro "servitore", una testa con la funzione di taglio, ed un innesco meccanico. Sono simili ai precedenti, ma la presenza di un pistone all'interno del tubo campionatore facilita il recupero del campione. Mentre il carotatore penetra all'interno del sedimento, il pistone resta fermo sulla sua superficie, andando a creare un vuoto parziale che mantiene il sedimento all'interno del carotatore e impedisce l'entrata dell'acqua durante il recupero.

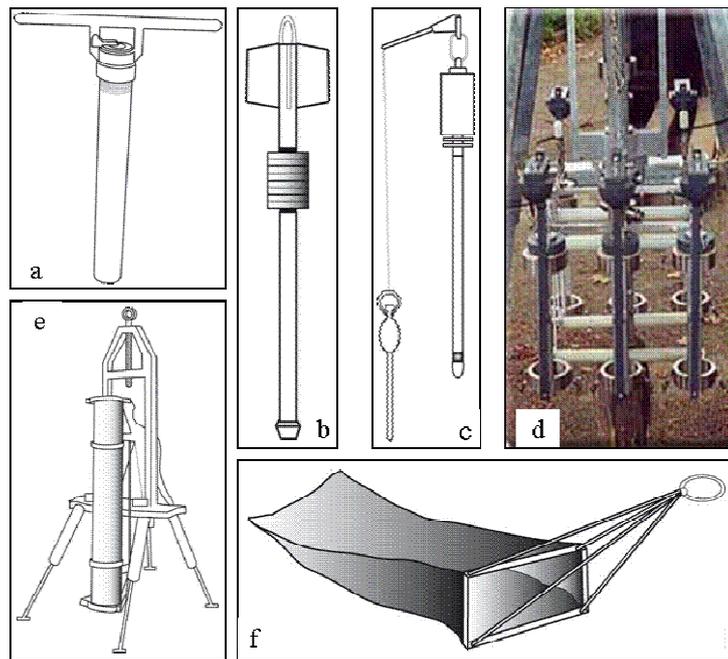


Fig. 7 – Metodi di campionamento per sedimenti molli.
Carotatori: a) manuale; b) a gravità; c) a pistone, d) multiplo; e) Jenkin ed f) rete a slitta.

Carotatori multipli

Sono strumenti composti da più carotatori singoli montati su un unico sistema di pesi (Fig. 7d; Hamilton *et al.*, 1970). Sono stati sviluppati per eseguire più replicati contemporaneamente in un solo sito, in modo da effettuare studi di tipo comparativo, valutare la precisione dei campionamenti e determinare l'eterogeneità del substrato in una piccola area (Mudroch & Macknight, 1994).

Carotatore Jenkin

Il carotatore Jenkin (Fig. 7e) è uno strumento utilizzato per raccogliere campioni pressoché indisturbati, che comprendono anche l'interfaccia sedimento-acqua. Non richiede messaggero; infatti, presenta un meccanismo automatico di chiusura per impedire la perdita del campione ed è in grado di penetrare nel sedimento per circa 10-15 cm. Ha una forma abbastanza compatta, quindi può essere calato da una barca di piccole dimensioni. Una particolarità di questo carotatore è quella di presentare dei fori nel tubo in *plexiglass*, che consentono l'estrazione di piccole parti di campione usate come saggio.

Rete a slitta

Gli strumenti finora descritti sono adatti a raccogliere organismi viventi, nei o sui sedimenti, ed a definirne la microdistribuzione, più che a fornire un'idea generale della loro distribuzione spaziale. Attraverso l'uso di una rete a slitta (Tonolli, 1962 - Fig. 7f) si ottiene, invece, una distribuzione in specie su più larga scala, anche se non quantitativa.

La rete a slitta è utile nei monitoraggi condotti preliminarmente ai campionamenti veri e propri, per determinare la tipologia di substrato e la fauna ad esso associata. In condizioni avverse, può essere l'unico strumento utilizzabile, soprattutto quando dispositivi più sofisticati e tecnologici non sono in grado di operare. È utilizzata soprattutto in acque poco profonde, ma può essere usata anche in acque profonde e dovunque il fondale sia coperto da vegetazione, purché questa non sia particolarmente fitta (Holme, 1971; Southwood & Henderson, 2000). Si impiega su substrati duri, non sassosi, perché i ciottoli potrebbero ostacolare l'avanzamento dello strumento, così come una vegetazione sommersa troppo fitta. Pesi e un galleggiante aiutano tale strumento a rimanere in assetto rispetto al piano di fondo. Le sue dimensioni si aggirano intorno a 45 x 20 cm, oppure 60 x 20 cm, con un peso variabile fra 9 e 15 kg. È formata da uno scheletro metallico rettangolare che sostiene una rete di raccolta di circa 35 cm di lunghezza. La rete è confezionata con maglie di dimensione variabili, che solitamente si aggirano intorno ai 250 µm. L'intelaiatura è inoltre collegata ad un cavo per il traino. La rete può essere trascinata sino a riva con l'utilizzo di una barca che si muove in direzione perpendicolare alla linea di costa ovvero parallelamente a riva, nel caso in cui si vogliano effettuare campionamenti separati a differenti profondità. La lunghezza del cavo può variare a seconda della natura del substrato: su sedimenti molli, la slitta può avere un traino più corto rispetto a quello utilizzato nel caso di un sedimento con grosse pietre. In quest'ultimo caso, lo strumento tende a rimbalzare sulle rocce; si deve quindi percorrere una distanza maggiore per avere un campione rappresentativo. In ogni caso, non dovrà mai essere inferiore a 1,5 volte la profondità scandagliata (Eleftheriou & Mc Intyre, 2005).

Il campione raccolto deve essere poi svuotato in un grande contenitore, facendo attenzione a trasferire nel recipiente tutti gli organismi presenti nella rete. Tra un campione ed il successivo la rete deve essere lavata accuratamente.

Per ottenere dati quantitativi la rete può essere dotata di flussometro per il calcolo del volume d'acqua filtrato, stabilendo un'unità di tempo. In ogni caso questa rete dovrebbe essere lasciata correre sul fondo per almeno 5-10 min.

Metodi a supporto dell'identificazione tassonomica

Retino da zooplancton per raccolta di exuviae

Nello studio delle popolazioni bentoniche risulta molto importante anche la raccolta delle exuviae degli insetti acquatici, lasciate dalle larve e dalle pupe al momento dello sfarfallamento. Queste si raccolgono tramite un retino da plancton (Fig. 8a; De Bernardi, 1984), che viene trascinato sulla superficie dell'acqua con imboccatura semi-sommersa, da un punto sotto vento lungo il perimetro della riva o da un'imbarcazione. Il retino è costituito da una rete conica terminante con un contenitore per la raccolta degli organismi. La scelta delle maglie della rete ha effetti sull'efficienza di filtrazione e di occlusione delle maglie stesse che, generalmente, sono costituite da una tela di nylon ad un filo, in quanto è un materiale che non subisce distorsioni durante l'uso, e si deteriora molto lentamente.

Retino verticale da zooplancton per catture notturne di organismi pelagici migratori

Campioni di questo tipo vanno raccolti circa 1 ora dopo il tramonto, preferibilmente in notti nuvolose, utilizzando un retino da zooplancton (Fig. 8a). Si consiglia un'imboccatura di 0,5 m² abbinata ad una rete con trama piuttosto lassa (500-800 µm). Questo tipo di campionamento è utile per catturare le larve di Ditteri Caoboridi e Crostacei Misidi (*Chaoborus* e *Mysis relicta*) (Rosemberg *et al.*, 2001). Di notte, quando sono meno visibili dai predatori, questi organismi tendono a risalire verso lo strato superficiale d'acqua, mentre di giorno restano nei pressi del fondo.

Una volta arrivati nelle diverse stazioni di campionamento, ci si ormeggia per evitare la deriva, a cui solitamente è soggetta un'imbarcazione, e si attende circa 1 min per massimizzare l'accuratezza della stima delle densità di popolazione. Si fa scendere la rete in modo che la bocca d'ingresso sia alla profondità voluta, questo permette di campionare la maggior parte della colonna d'acqua evitando di toccare il fondo. Qualora la rete dovesse toccare il fondo, bisogna estrarla dall'acqua e risciacquarla più volte internamente ed esternamente. È consigliabile salpare la rete ad una velocità di circa 0,25-0,5 m/sec, per una buona efficienza di campionamento, e sciacquarla senza immergere nuovamente la bocca, per permettere agli organismi catturati di essere convogliati tutti nella parte terminale della rete, evitando nuove catture. Successivamente, si introduce il campione in una bottiglia da 100 cc, si fissa con etanolo al 70% e si trascrive l'ora di campionamento, il transetto, la profondità, ecc. sull'etichetta della bottiglia. Fra un campione e l'altro si sciacqua molto bene la rete, per evitare di contaminare il campione successivo.

Retino da drift

L'uso del retino da *drift* è una tipica tecnica di pesca (Fig. 8b), dove le reti sono lasciate libere di essere trasportate dalla corrente in ambiente marino o in lago, usualmente adottato per campionare gli immissari e gli emissari. Il termine *drift*, o deriva, indica il trascinamento degli organismi verso valle, ed il retino, posizionato con l'imboccatura verso monte e parzialmente sommersa, permette la raccolta sia delle exuviae degli insetti, che galleggiano sul pelo dell'acqua, sia degli organismi sottostanti, trascinati verso valle dalla corrente. Il materiale raccolto verrà esaminato successivamente per determinarne la composizione e l'abbondanza. Questi strumenti vengono utilizzati singolarmente in ambienti a sezione piccola, o in gruppo, qualora il corso d'acqua presenti un alveo di maggiori dimensioni, uniti alla stessa fune e posizionati lungo un unico asse trasversale alla corrente.

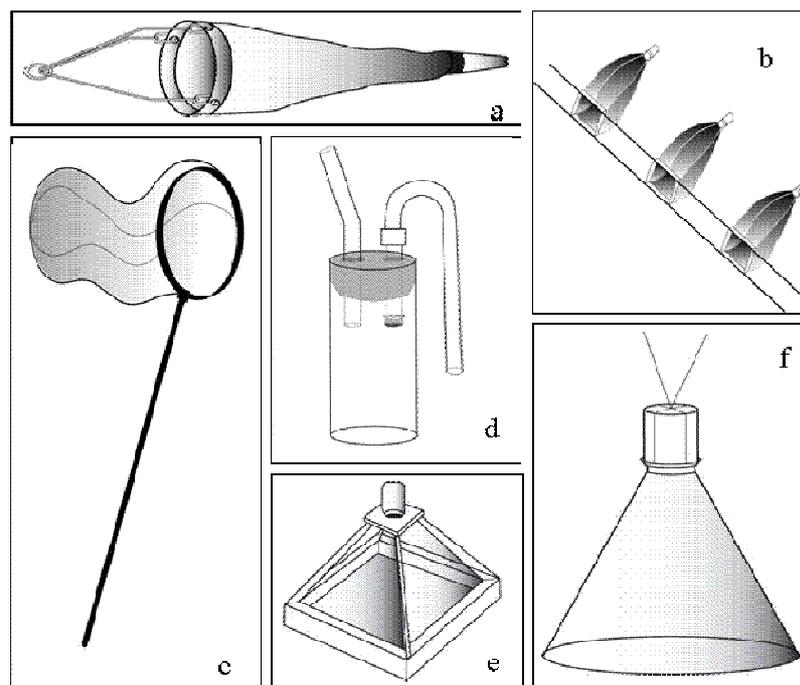


Fig. 8 - Metodi di campionamento per raccolte a supporto della tassonomia: a) retino da zooplankton per la raccolta di exuviae all'interfaccia acqua-aria e di organismi pelagici migratori; b) retini da *drift* in serie; c) retino da sfalcio e d) aspiratore entomologico per la raccolta di adulti lungo le rive; e) trappola ad emergenza galleggiante ed f) sommersa per la raccolta di adulti sfarfallanti.

L'imboccatura può essere rettangolare (dimensioni 30x40 cm), quadrata (30x30 cm) o rotonda (Ø 20 cm) per 1 m di lunghezza, mentre la rete ha maglie di 250 µm. L'intelaiatura del retino (in materiale inossidabile) mantiene aperta l'imboccatura, mentre delle funi ne permettono l'ancoraggio

a sassi o vegetazione rivierasca, impedendone la perdita. Nella sua parte terminale la rete è collegata ad un contenitore, dotato di filtro sul fondo, per la raccolta degli organismi.

I campioni raccolti vengono passati in bottiglie etichettate e fissati con alcool (70%) o formalina (5%).

Retini entomologici da farfalle e da sfalcio

La fauna macroinvertebrata bentonica in un lago è composta principalmente da insetti, soprattutto lungo la fascia litorale, dove la fauna è solitamente più diversificata. Spesso la cattura degli adulti è utile per la determinazione a livello di specie, non sempre possibile a livello lavale (es. Ditteri). La cattura degli adulti può essere fatta attraverso l'uso di retini entomologici (Fig. 8c). Ne esistono due modelli principali: uno più leggero, con rete sottile (tulle) ed intelaiatura in alluminio con manico telescopico e smontabile, detto da farfalle; un secondo, con sacco di iuta molto spesso e resistente, ideale per sfalciare fra i canneti e le erbe alte, con intelaiatura più pesante. Entrambi questi retini hanno bocca rotonda di diametro variabile fra 20 e 50 cm, dotata di un sacco a rete profondo 40-50 cm con forma conica oppure arrotondata sul fondo.

Il censimento deve essere attuato a diverse altezze per prendere in considerazione specie differenti, con l'operatore posto di fronte al sole (Zangheri, 1981). La tecnica di campionamento consiste nel "falciare" il terreno o tra le canne, facendo in modo che la propria ombra non venga proiettata in avanti, perché gli insetti non mettano in atto la tanatosi, comportamento antipredatorio che prevede il lasciarsi cadere e mostrarsi morti, rendendo meno proficua la cattura. Gli insetti immobili a terra, sono più difficili da catturare con un retino di questo tipo, introducendo un fattore di rischio di sottostima del popolamento. Al termine della falciatura, l'operatore cattura gli organismi presenti nel retino tramite un aspiratore (Fig. 8d). L'aspiratore è costituito da un contenitore in plastica con due fori sul tappo: da entrambi i fori fuoriescono dei tubicini, sempre in plastica, uno dei quali (quello per la cattura) lungo 8-10 cm, l'altro lungo 30-60 cm. L'operatore appoggia il tubicino per la cattura sull'insetto da catturare e aspira, appoggiando la bocca al secondo tubicino, dotato internamente all'aspiratore, di una garza, onde evitare che gli insetti possano raggiungere la cavità orale. Il vuoto prodotto nel contenitore permette l'aspirazione dell'insetto all'interno del contenitore.

La cattura con questi sistemi è considerata standardizzata qualora si fissi un'unità di misura di tempo o di spazio.

Trappole per insetti emergenti

Le trappole per insetti emergenti (Davies, 1984), poste appena sopra la superficie dell'acqua, hanno la funzione di catturare gli insetti al momento dello sfarfallamento, permettendo loro di portare a termine il loro ciclo di sviluppo, una volta giunti all'interno della trappola. In questa maniera possono essere recuperati gli adulti, gli stadi giovanili e le exuviaie.

Le trappole galleggianti (Fig. 8e, 8f) racchiudono un'area di lago all'interno di una intelaiatura coperta, costruita in legno o metallo. Le strutture delle trappole sono leggere e le coperture sono formate da plastica trasparente o rete. La copertura di plastica (celluloide, film di polietilene o tela acrilica) protegge il campione raccolto dai danni provocati dal vento o dalla pioggia.

La rete ha maglie con dimensioni di 250 μm per trattenere anche gli insetti più piccoli. Per rimuovere il campione, la trappola viene tirata fuori dall'acqua e gli insetti vengono raccolti a mano o con un aspiratore. In alcuni modelli, questo procedimento non viene fatto, in quanto presentano un contenitore rimovibile nel quale gli insetti restano intrappolati. Le trappole galleggianti hanno il vantaggio di raccogliere un gran numero di organismi, perché sono di grandi dimensioni. Gli svantaggi sono dati dall'ingombro, dal facile danneggiamento ad opera del vento, delle onde, ecc. Le trappole sommerse risentono in misura minore dei danni provocati dalle onde, anche se questo dipende dal modo in cui sono sospese. Siccome lo sfarfallamento delle pupe e delle ninfe è ristretto allo spazio aereo del barattolo campionario, la raccolta degli insetti e delle exuviaie può essere fatta con la semplice rimozione e chiusura del barattolo stesso, tenendolo rovesciato sotto la superficie dell'acqua. Uno svantaggio delle trappole sommerse è dato dal rapido svilupparsi di alghe e dall'accumulo di detrito nella trappola, e dalla tendenza del barattolo ad essere ostruito dalla crescita algale.

6) Programma di campionamento

Svolgere un esaustivo programma di campionamento significa non solo organizzare le campagne di campionamento, predisporre le metodiche relative ai diversi habitat considerati rispettando le modalità di sviluppo dei diversi gruppi faunistici che abitano un lago, ma prevedere anche un attento studio delle componenti abiotiche. Il problema si pone quando si considerano quei gruppi che conducono parte della loro vita in acqua e parte nell'ambiente subaereo: gli insetti. Questi invertebrati, infatti, allo stadio larvale si portano in alcuni periodi dell'anno in prossimità della superficie dell'acqua e qui, dopo aver subito un'ultima trasformazione, sfarfallano. Si deve quindi prevedere di campionare il lago in periodo antecedente lo sfarfallamento per non incorrere in errori nella valutazione della composizione del popolamento. Il programma di campionamento contemplato dal protocollo messo a punto a livello nazionale per l'implementazione della Direttiva sulle Acque (Bazzanti *et al.*, 2007) prevede infatti un campionamento di minima, ossia un campionamento svolto in almeno due periodi stagionali: in primavera, corrispondente al periodo di circolazione delle acque nella maggior parte dei nostri laghi, ed in autunno, nel periodo successivo all'instaurarsi della stratificazione estiva a causa delle elevate temperature raggiunte in superficie. Qualora, invece, il monitoraggio dovesse essere effettuato con maggior dettaglio, si deve procedere a un campionamento più fitto nel tempo, che consideri tutte le stagioni dell'anno.

La Direttiva Quadro sulle Acque prevede, inoltre, tre diversi tipi di monitoraggio: (1) di sorveglianza, (2) operativo e (3) di indagine. Il monitoraggio di **sorveglianza** viene effettuato per almeno un anno per ottenere una valutazione dello stato ecologico delle acque di ciascun bacino. Per tale tipo di monitoraggio è necessario valutare tutti gli elementi biologici di qualità, la qualità idromorfologica ed i parametri di qualità fisico-chimica, le sostanze prioritarie immesse e tutte le sostanze inquinanti che si suppone possano essere scaricate in quantità significativa. Si tratta di un tipo di monitoraggio per cui è in genere richiesta la raccolta di informazioni molto dettagliate.

Il monitoraggio **operativo** (a regime) viene adottato, successivamente al monitoraggio di sorveglianza, in quei laghi classificati a rischio di non rientrare in una classe di qualità buona con lo scopo di verificare gli effetti delle azioni mirate al loro recupero. Per valutare l'entità della pressione cui sono esposti tali corpi idrici, viene effettuato il monitoraggio degli elementi di qualità indicativi delle pressioni cui il corpo idrico è esposto.

Il monitoraggio d'**indagine** (o investigativo) è previsto per quei corpi idrici il cui stato ecologico al momento del monitoraggio è inferiore a buono senza averne individuato le cause che non permettono loro di rientrare negli obiettivi richiesti dalla Direttiva stessa. Il monitoraggio investigativo avrà come obiettivo specifico quello di identificare le possibili cause degli impatti

osservati sulle comunità biologiche per pianificare adeguate azioni di recupero. In particolare, tale tipo di monitoraggio è indicato nella valutazione dell'entità degli impatti di un inquinamento accidentale.

Differenze nell'approccio di campionamento e di programmazione delle attività

Laghi naturali e invasi sono corpi idrici simili per quanto riguarda la biologia di base ed alcuni processi fisici; infatti, possono ospitare la stessa fauna e la stessa vegetazione acquatica, raggiungono la stratificazione termica nel periodo estivo e presentano habitat analoghi. Si riscontrano però alcune e importanti differenze tra questi due tipi di corpi idrici: le dimensioni del bacino imbrifero degli invasi sono generalmente maggiori e gli invasi possono avere superfici maggiori, maggiori profondità massime e medie, tempi di residenza dell'acqua inferiori e un gradiente longitudinale a partire dalla zona rivierasca (a carattere più spiccatamente lotico) fino alla zona profonda, in prossimità della diga (la zona a carattere lentico più simile a quella di un lago naturale).

Queste differenze mettono quindi in evidenza la necessità di analizzare laghi naturali e invasi, compresa la gestione delle loro acque, prima di affrontare un qualsiasi tipo di studio su questi corpi idrici. Tali differenze rendono quindi chiaro che anche le metodiche di campionamento dovranno adeguarsi al tipo di ambiente indagato.

Qui di seguito riportiamo un'analisi dettagliata di tre diverse tipologie di laghi presenti sul territorio italiano e delle metodiche relative al campionamento, dalla scelta del campionario alle zone da campionare, per evidenziare le problematiche che un loro studio può implicare.

I laghi di bassa quota o di pianura

Nei laghi, le variazioni di luce, temperatura, tipologia di sedimento e condizioni chimiche, che si determinano sulla colonna d'acqua e con l'aumentare della profondità, pongono dei limiti allo sviluppo di macrofite e macroinvertebrati. Questo crea una serie di zone che si susseguono con la profondità, caratterizzate da una morfometria e da una composizione chimica delle acque e dei sedimenti molto diverse.

Le tecniche di studio sono quindi molto diverse alle diverse profondità e rispetto a quelle adottabili per i piccoli laghi di montagna e i corpi idrici fortemente modificati. La strumentazione è diversa e più complessa nel suo utilizzo. Inoltre, i laghi di pianura, soprattutto quelli di maggiori dimensioni, richiedono un dispendio di forze uomo non indifferenti.

Senz'ombra di dubbio, una delle criticità presentate da questi laghi per chi si accinge per la prima volta a campionarli, è la selezione dei punti di campionamento e il posizionamento dei transetti (nel caso di laghi di grandi dimensioni), è quindi una delle scelte più difficili. La scelta deve innanzitutto tenere conto delle zonazioni verticali del lago (litorale, sublitorale e profonda) e del tipo di sedimento (limoso, sabbioso, pietroso, ecc) che con la concentrazione di sostanza organica, di ossigeno, e con la presenza di macrofite nella fascia litorale determina la composizione della comunità bentonica.

Nei trattati di limnologia sono riportate numerose definizioni per la zona litorale (Tab. 1). In questo contesto, si è però deciso di adottare la definizione che segue perchè risponde alle richieste europee di confrontabilità con altre realtà, anche molto differenti rispetto a quella nazionale.

Tab. 1 - Definizione delle zone di un lago secondo Wetzel (1975), Jørgensen & Löffler (1990) ed i rispettivi sinonimi attribuiti a ciascuna zona.

Definizione della Zona	Nome	Sinonimi
<i>Zona sopra il livello dell'acqua non influenzata dallo spray delle onde</i>	Epilitorale	---
<i>Zona sopra il livello dell'acqua ma soggetta allo spray delle onde</i>	Supralitorale	---
<i>Zona compresa tra il più alto e il più basso livello stagionale; spesso corrisponde alla zona dove si infrangono le onde</i>	Eulitorale	---
<i>Zona caratterizzata dalla presenza di vegetazione emersa radicata</i>	Alto Infralitorale	Litorale <u>Litorale</u> (Ekman 1915; Thienemann 1925; Lundbeck 1926; Lenz 1928; Eggleton 1931) <u>Sublitorale</u> (Sernander 1917; Naumann 1931; Rüttner 1940)
<i>Zona caratterizzata dalla presenza di vegetazione radicata galleggiante</i>	Medio Infralitorale	
<i>Zona caratterizzata dalla presenza di vegetazione macroscopica sommersa o radicata</i>	Profondo Infralitorale	<u>Litorale</u> (Eggleton, Lenz, Lundbeck, Naumann, Thienemann) <u>Macrolitorale</u> (Naumann, Thomasson 1925) <u>Sublitorale</u> (Ekman, Rüttner)
<i>Zona di transizione. Forme fotosintetiche se presenti solitamente sparse, formate da monere e alghe erpobentoniche; occasionale sviluppo massivo di alghe blu verdi</i>	Litorale profondo	<u>Sublitorale</u> (Eggleton, Lundbeck, Thienemann) <u>Microlitorale</u> (Naumann, Thomasson) <u>Euprofunda</u> (Lenz)
<i>Zona caratterizzata da fango fine, spoglia</i>	Profondo	<u>Profondo</u> (dalla maggioranza degli autori)

Zona litorale (costiera o neritica, Fig. 9): strato d'acqua superficiale (epilimnio) dove arriva la radiazione luminosa (zona eufotica), compreso tra la linea dell'acqua (0 m) ed alcuni metri di profondità. In genere, coincide con il limite inferiore di sviluppo delle macrofite sommerse. Presenta substrato molto variabile a seconda dell'influenza del

moto ondoso che può o meno eroderlo. Nel contesto nazionale, questa zona si estende da un minimo di 5-7 m a un massimo di 20-25 m.

Zona sublitorale: compresa fra epilimnio ed ipolimnio; presenta attenuazione della luce incidente. Quando il lago si trova nella condizione di massima stratificazione, corrisponde al metalimnio. Nei laghi con buona trasparenza, la zona sublitorale è situata sotto la fascia litorale ed è delimitata dallo sviluppo delle macrofite sommerse. Presenta un substrato prevalentemente uniforme per deposito di materiale dalla zona litorale dovuto al moto ondoso. Spesso coincide con la profondità limite per i molluschi ed è quindi zona di deposito di conchiglie (*shell zone*).

Zona profonda o bentonica: compresa fra metalimnio e le massime profondità. Costituisce la zona ipolimnica di un lago. Non si ha penetrazione della radiazione luminosa ed è in genere costituita da substrato uniformemente fine.

Anche la distribuzione e la scelta del numero di transetti da posizionare può creare problemi all'operatore. Per lo studio dei macroinvertebrati lacustri, l'EPA (*U.S. Environmental Protection Agency*, 1997, 1998) propone delle linee guida che forniscono un utile supporto alla scelta del numero di transetti da posizionare in un lago. I transetti sono linee immaginarie tracciate lungo la superficie di un lago che uniscono due o più punti posti a diversa profondità e che partono dalla linea di costa spingendosi verso il fondo. Possono variare in numero e posizione, ma sono sempre caratterizzati da un numero di stazioni di campionamento pari a tre, corrispondente alle tre fasce principali, in cui è suddivisa una conca lacustre in sezione trasversale.

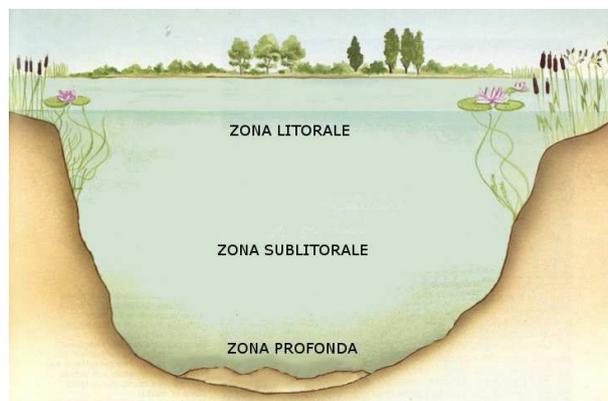


Fig. 9 – Distribuzione delle tre diverse fasce batimetriche in un lago che presenta sviluppo di macrofite acquatiche.

Il numero di transetti da posizionare in un lago è strettamente correlato all'estensione del lago stesso (Tab. 2), alla possibile diversificazione degli habitat e del substrato, alla morfologia del lago, all'estensione della linea di costa e alla presenza di impatti antropici.

Tab. 2 – Relazione fra numero di transetti da posizionare, stazioni e replicati e area superficiale di un ipotetico lago.

Superficie km ²	N. transetti	N. stazioni	N. campioni
<0,6	1	3	9
0,7-2,9	2	6	18
3,0-6,5	3	9	27
>6,6	4	12	36

Ovviamente, in laghi poco profondi (Fig. 10), dove, a causa della totale copertura di macrofite, non si riesca ad evidenziare una zona profonda o addirittura una zona sublitorale, non si deve operare tramite transetti, ma campionare distribuendo le stazioni di campionamento in modo casuale all'interno della conca lacustre, tenendo sempre in considerazione la presenza di immissari e/o emissari e la diversa composizione a macrofite o del substrato (qualora si evidenziassero delle differenze). Oppure, si può decidere di operare campionando l'area maggiormente rappresentativa, ossia, nel caso in cui la copertura a macrofite sia all'80% costituita da una sola specie, posizionando il proprio transetto in quest'area, anche se ridotta alla sola fascia litorale o alle prime due fasce di profondità (con la conseguenza quindi di raccogliere un minor numero di campioni).

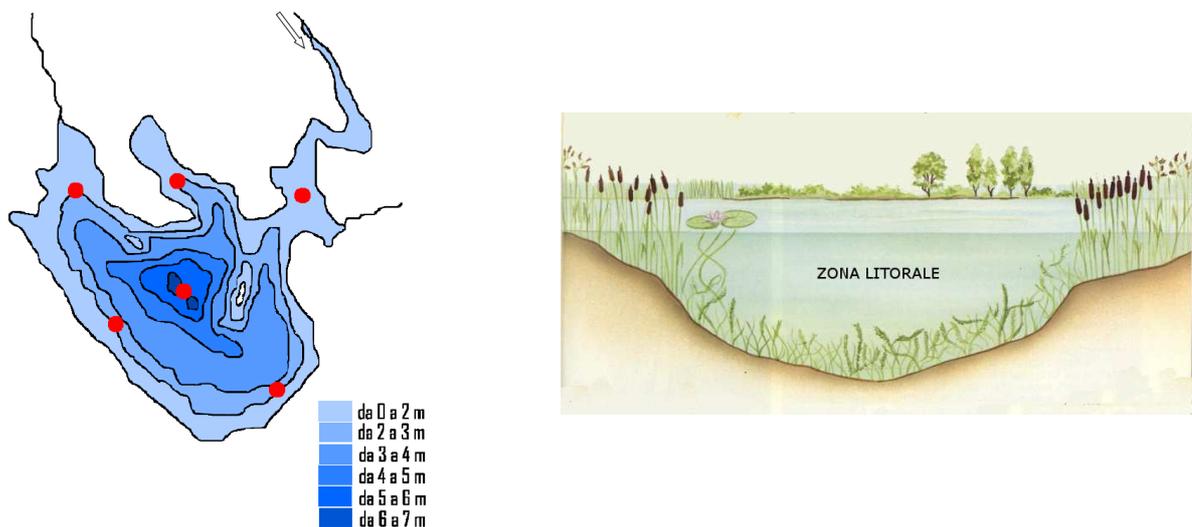


Fig. 10 – Distribuzione delle stazioni di campionamento in un piccolo lago poco profondo di bassa quota.

In un lago di maggiori dimensioni, la distanza che deve intercorrere fra un transetto e l'altro è correlata all'estensione del lago, alla tipologia del substrato e alla composizione della comunità a

macrofite. È buona norma decidere sulla carta, dopo aver creato una griglia a maglie proporzionate all'area della conca lacustre (Fig. 11), dove posizionare i transetti sulla base delle criticità emerse da uno studio *a priori* di dettaglio dell'ambiente e sulla base delle prescrizioni fornite dall'EPA (1997, 1998) e presentate precedentemente. Una volta in campo, si deciderà se il numero prescelto di transetti è adeguato ovvero sotto- o sovra-stimato, in base alla variabilità della granulometria di fondo e alla presenza/assenza e tipologia di macrofite.

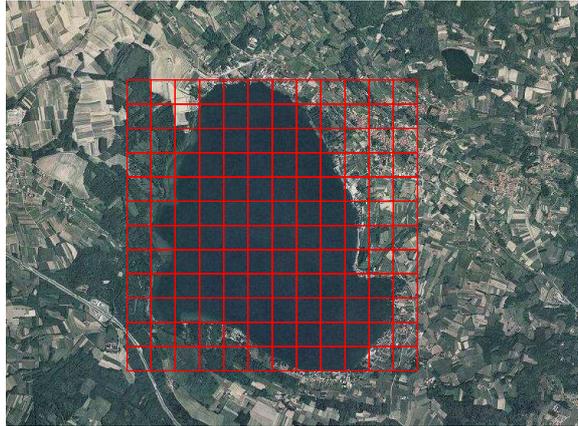


Fig. 11 – Creazione di una griglia, distribuita su foto aerea di un lago subalpino, con maglie proporzionali all'area del lago.

In ambienti lacustri molto ampi (Fig. 12), dove è impossibile riuscire a condurre ricerche a scala dettagliata per il notevole sforzo richiesto, si adotterà un monitoraggio a scala più ampia, attenendosi a coprire con transetti rappresentativi i principali sottobacini, per ottimizzare lo sforzo lavorativo, sia in campo sia in laboratorio.

Nei laghi di bassa quota non si tiene conto del contributo delle acque tributarie alla comunità lacustre, quindi generalmente non si campionano gli ambienti di acque correnti ad essi legati. Questo infatti, viene considerato più come una contaminazione della comunità di acque lentiche e quindi, nel campionare i laghi ci si terrà il più possibile discosti dalla linea di influenza delle acque lotiche. Fondamentale risulta invece il contributo fornito dalla raccolta delle exuviae condotta tramite retino da zooplancton (Ruse, 2002). Tale tecnica può essere effettuata lungo le rive del lago oppure trascinando il retino da un'imbarcazione, tenendo l'imboccatura immersa per metà nell'acqua durante il percorso seguito per raggiungere il punto di campionamento. Ovviamente non si potrà risalire a quale profondità del lago appartengano le exuviae, ma il campionamento sarà in ogni caso molto utile per approfondire la tassonomia.

Il numero di campioni minimo, statisticamente accettabile, è pari a tre per stazione (litorale, sub-litorale e profonda), altrimenti, qualora si utilizzino campionatori di dimensioni inferiori (Es: carotatori) bisognerà considerare la raccolta di almeno 5 campioni replicati.

Le criticità presentate da questi ambienti sono per lo più dovute alle loro dimensioni (nel caso di ampi laghi) e quindi alle modalità di campionamento, che prevedono non solo la sicurezza di chi opera, ma anche l'uso appropriato della draga.

Nel primo caso, infatti, l'operatore è obbligato a lavorare su mezzi di trasporto veloci tramite argano a motore per salpare la draga in uso. L'operatore deve quindi attenersi a semplici regole di sicurezza, sia durante la navigazione sia durante le soste per il campionamento (dotarsi di casco anti-urto e scarpe adeguate con copertura rinforzata, di guanti per evitare ferite dovute all'uso del cavo in acciaio dell'argano, ecc).

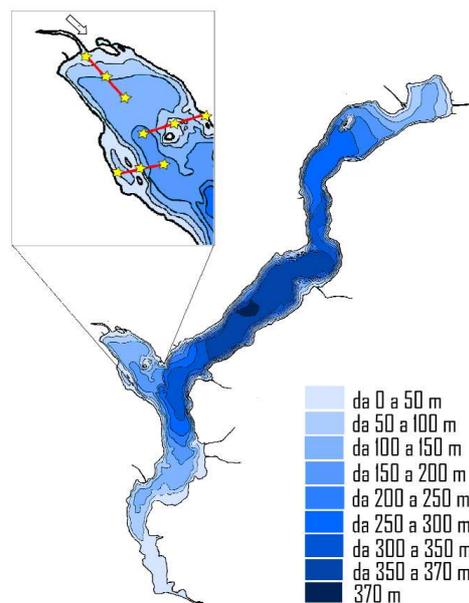


Fig. 12 – Particolare della distribuzione delle stazioni di campionamento in un lago subalpino grande e molto profondo.

Inoltre, nel far scendere la draga a grandi profondità, l'operatore deve tenere a mente che il cavo dell'argano subisce un naturale spostamento rispetto alla posizione della barca, vuoi per la deriva a cui la barca stessa è soggetta e vuoi per la presenza di correnti di fondo. Quindi, l'uso di un messaggero risulta inadeguato, in quanto la sua discesa è rallentata dallo scorrimento diagonale (Fig. 6) e la sua potenza ne risulta ridotta. Infine, spesso, sponde scoscese e ripide, impediscono un buon funzionamento della draga che tende a rotolare, impedendo la riuscita del campionamento o

riducendone l'efficienza. L'uso di un ecoscandaglio permette di ovviare, almeno in parte, a tali inconvenienti, facilitando la ricerca di punti più pianeggianti.

In tutti i casi, è consigliabile, una volta scelto lo strumento da utilizzare per campionare un lago, mantenere lo stesso strumento per tutti i transetti e per tutte le stazioni, in modo da ridurre al minimo gli errori dovuti a differenze nelle metodiche di campionamento.

I laghi d'alta quota o alpini

I laghi alpini possono essere considerati casi particolari rispetto ai più tipici laghi di pianura, questo perché generalmente non hanno profondità tali da permettere l'instaurarsi di una stratificazione termica stabile, inoltre i venti che solitamente battono le zone di quota, tendono a mantenere frequentemente in movimento la superficie delle acque lacustri favorendo il mescolamento delle acque fin sul fondo della cuvetta.

In alta quota, quindi, il campionamento si distribuisce prevalentemente lungo la zona litorale (Fig. 13) in quanto è la più diversificata come habitat e dove, di conseguenza, è presente la maggior parte dei gruppi faunistici. In alcuni casi, può comunque essere utile prelevare campioni anche in profondità, nonostante questa fascia, per condizioni termiche, trofiche e di illuminazione impedisca un'ampia e diffusa presenza di specie. Infine, è opinabile, ma fortemente consigliato, considerare gli immissari e l'emissario, in quanto tramite essi possono essere introdotte o fuoriuscire specie nuove colonizzatrici o exuviae larvali e pupali utili per la successiva identificazione tassonomica.

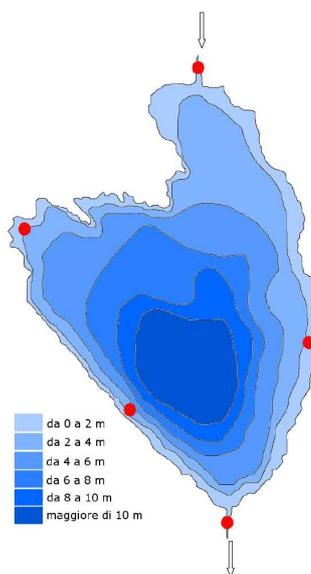


Fig. 13 - Distribuzione delle stazioni di campionamento in un lago alpino.

Le piccole dimensioni di questi ambienti fanno sì che l'ingresso di nuove specie possa essere considerato come un vero e proprio contributo alla diversità faunistica, mentre il breve tempo di residenza delle loro acque ne facilita la perdita attraverso l'emissario, soprattutto al momento del disgelo o dopo forti piogge.

I campioni vengono prelevati utilizzando la tecnica del *kick sampling* (Frost *et al.*, 1971; Storey *et al.*, 1991) su un tracciato lungo 10-30 m (o comunque proporzionale al perimetro totale del lago) in modo da facilitare l'ingresso degli organismi presenti nel retino immanicato. Il retino, dotato di maglie di 250 µm, viene in seguito passato e ripassato sopra l'area smossa in modo da catturare gli organismi, ricoprendo il maggior numero di habitat possibili (ciottoli, macrofite, sabbia, ecc). Al fine di standardizzare il metodo, il periodo di tempo di cattura è di circa 2-5 min e il campionamento viene effettuato senza replicati perché gli ambienti di studio sono poco estesi (Fjellheim *et al.*, 2000; NIVA, 1987, 1995, 2010). Tale tecnica fornisce campioni in grado di evidenziare differenze nella composizione dei popolamenti fra siti di studio e fra annate diverse (Bradley & Ormerod, 2002).

Il campionamento delle exuviae larvali e pupali, condotta tramite l'uso di retini da *drift*, è opzionale, ma raccomandato per il notevole aiuto che esse forniscono all'identificazione a livello di specie (Ruse, 2002). I retini vanno posizionati e lasciati *in loco* il più a lungo possibile. È quindi opportuno posizionarli non appena arrivati sul lago, quindi effettuare il campionamento lungo le rive del lago, l'immissario e gli emissari, e, prima di concludere, ritirare i retini posizionati all'arrivo (Fjellheim *et al.*, 2000).

Questi corpi idrici presentano due criticità per la messa a punto del loro monitoraggio: la loro limitata accessibilità e il breve periodo di tempo in cui sono liberi da ghiacci, mentre per quanto riguarda il prelievo in profondità, una delle criticità è rappresentata dal peso e dal volume occupato dalla strumentazione che obbligano alla presenza di portatori o all'uso di un elicottero.

La selezione dei siti da considerare per il monitoraggio dipende dai fattori di *stress* che si vogliono prendere in considerazione (cambiamenti climatici, trasporto di contaminanti, introduzione di specie alloctone, ecc). Un campionamento condotto annualmente durante il periodo estivo, coincidente con la massima produttività lacustre, può essere sufficiente per avere una buona stima dell'evoluzione a cui questi laghi sono sottoposti. In qualche caso, può essere utile procedere al campionamento nel periodo autunnale, o meglio prima della ricomparsa del ghiaccio sulla loro superficie, abbinandolo al campionamento dell'idrochimica lacustre. In questo periodo, infatti, gli organismi sono presenti in abbondanza e presentano relativamente grandi dimensioni, in quanto

sono pronti ad entrare in diapausa per poter superare la stagione invernale. Inoltre, l'analisi chimica delle acque riassume gli eventi avvenuti nei periodi precedenti, fornendo quindi una stima annuale della composizione chimica delle acque (massima stabilità) piuttosto che una valutazione specifica di un preciso periodo dell'anno.

Qualora poi l'intento fosse quello di evidenziare l'influenza sulla fauna acquatica delle sostanze accumulate nella copertura nevosa presente al suolo, il campionamento deve essere previsto al momento del disgelo primaverile, tenendo conto del fatto che, con il sopraggiungere di una grande quantità d'acqua in ambienti spesso di piccole dimensioni, gli organismi possono essere fortemente soggetti a *drift*. La fauna lacustre ne risulta impoverita in termini di specie, non a causa degli effetti delle sostanze inquinanti trattenute dalla neve, ma per motivi secondari di aumentato afflusso d'acqua. In ogni caso, il campionamento deve essere previsto nei punti più agevoli da raggiungere.

I corpi idrici fortemente modificati

I corpi idrici fortemente modificati sono stati costruiti a partire dai primi decenni del '900, questo influisce notevolmente sul loro stato e sulla distribuzione e presenza di sedimenti nella zona profonda. Sono infatti laghi molto giovani che non hanno avuto il tempo di ricevere forti quantitativi di particellato dal bacino imbrifero e che hanno anche scarsi *input* dalla conca lacustre dove la flora e la fauna insediatesi contribuiscono alla creazione di sedimento, solamente durante i periodi dell'anno di maggior fioritura.

Anche in questa categoria di laghi, soprattutto in quelli di origine fluviale, si può riconoscere una zonazione, ma questa si differenzia da quella dei laghi naturali per essere distribuita più in senso longitudinale che in senso verticale (Fig. 14) (Kennedy *et al.*, 1985):

Zona fluviale o lotica (*upper riverine zone*): è caratterizzata dalla presenza di un substrato a materiale grossolano (ciottoli, sassi), da una buona corrente, molto simile a quella dell'immissario, forte torbidità delle acque e quindi luce limitata.

Zona intermedia (*transition o mixing zone*): presenta un notevole rallentamento del flusso d'acqua e una prima sedimentazione del particellato, sempre povero rispetto a un lago naturale.

Zona profonda (*pool zone*): coincide solitamente con la presenza dello sbarramento. Presenta un carattere più lentico, costituendo quindi l'unica delle tre fasce con caratteristiche simili a quelle naturali, una maggior sedimentazione con accumulo cospicuo di particellato, acque limpide e buona penetrazione della luce.

Alcuni di questi corpi idrici possono avere forma lineare, ma altri hanno ampi perimetri, numerosi bacini e parecchi corsi d'acqua tributari, con un aspetto generale molto ramificato.

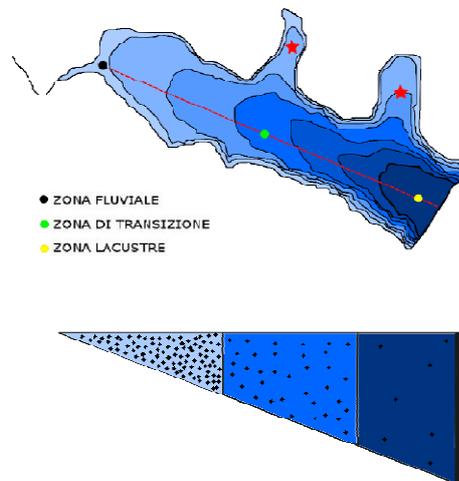


Fig. 14 – Distribuzione delle stazioni di campionamento in un corpo idrico fortemente modificato con più tributari e diversificazione di habitat nei tre punti di campionamento. Zona fluviale con acque più torbide per rimescolamento e trasporto solido, zona intermedia e zona profonda con acque più limpide per marcata sedimentazione.

Nel predisporre un piano di campionamento di questi ambienti si deve tenere conto innanzitutto dello sfruttamento delle loro acque, che nell'ecoregione mediterranea è intensivo nel periodo estivo, in corrispondenza di più elevate temperature, più intensa evaporazione e lunghi periodi di siccità. Dovendo quindi mantenere un campionamento biennale, il periodo di circolazione delle acque coincide grossolanamente con quello dell'ecoregione alpina (leggermente anticipato per le più miti temperature), mentre il periodo di stratificazione, decisamente protratto nel tempo (da Aprile a Novembre), si sovrappone all'emunzione d'acqua per uso irriguo e/o potabile. Non si può quindi aspettare la fine di questo periodo per effettuare il campionamento, in quanto la scarsità d'acqua riduce notevolmente la profondità del corpo idrico, ma il campionamento dovrà necessariamente essere effettuato in periodo antecedente le forti riduzioni di volume.

Solitamente, in un corpo idrico fortemente modificato si posiziona un unico transetto che consideri le tre profondità prima menzionate. Quando tale ambiente ha forma pressoché lineare e l'immissario è unico, il transetto deve essere predisposto secondo l'asse lacustre maggiore: la prima stazione sarà posta in corrispondenza dell'entrata dell'immissario, l'ultima in corrispondenza dello sbarramento, in area protetta, mentre la seconda in un punto intermedio fra i due. Se invece la forma è complessa e sinuosa, sicuramente il corpo idrico è dotato di più tributari; si deve quindi considerare un transetto in corrispondenza dell'asse maggiore, più una serie di punti corrispondenti all'entrata di ciascuno dei tributari (Fig. 14). Qualora il corpo idrico avesse profondità

ragguardevoli (superiori a 5-7 m) anche lungo gli assi secondari, i punti di campionamento per ogni asse (corrispondente a un tributario o sottobacino) dovranno essere due (Cooke *et al.*, 1986). Il campionamento per le analisi chimiche deve essere effettuato negli stessi punti considerati per le analisi faunistiche.

Anche il campionamento di questi ambienti presenta criticità, in particolare l'assoluta sicurezza dell'operatore e la modalità di campionamento. Nel primo caso, l'Ente gestore del corpo idrico fornisce agli operatori una mappa delle zone pericolose (esempio: eventuali presenze di centri abitati rimasti coperti dall'acqua al momento dello riempimento dell'invaso, in particolare campanili; l'area antistante la diga, qualora l'emunzione avvenga con creazione di vortici e mulinelli). Nel secondo caso, la ricerca del punto di campionamento è in molti casi difficile, perché i laghi, soprattutto se derivati da sbarramenti fluviali, sono troppo giovani per aver accumulato sufficiente sedimento, in particolar modo nelle prime due fasce ed in presenza di sponde ripide. Si deve quindi essere dotati di ecoscandagli che permettano di rilevare l'alveo fluviale, dove si raccoglie la maggior parte del sedimento, e qui tentare di mantenere l'imbarcazione il più ferma possibile e far scendere la draga.

Inoltre, si deve tenere conto delle pratiche di rimozione del sedimento a cui tali ambienti possono essere sottoposti, qualora il trasporto solido sia significativo in relazione alle caratteristiche fisiche del corpo idrico, alla erodibilità delle aree che alimentano il bacino imbrifero e allo stato di dissesto idrogeologico del bacino, pratiche che sono regolate a livello nazionale dal Decreto Legislativo n. 152 del 11/05/1999. Nel caso di corpi idrici di piccole dimensioni e poco profondi, questa tecnica ha il vantaggio di impedirne l'evaporazione completa con conseguente perdita del corpo idrico, ma tali interventi per recuperare capacità di invasore, non sono molto frequenti nei serbatoi che forniscono acqua per uso idroelettrico, perché le operazioni sono costose e risultano economicamente convenienti solo per i piccoli bacini destinati alla modulazione giornaliera o settimanale. Inoltre, la rimozione del sedimento riporta nuovamente in sospensione il particellato sedimentato per periodi di durata variabile, liberando nutrienti e sostanze tossiche, e provocando la distruzione degli organismi bentonici, fonti primarie di cibo per i pesci. Una volta che il sedimento di fondo è completamente rimosso, ci vogliono almeno 2-3 anni per un recupero dal punto di vista faunistico; qualora invece venga rimosso solamente in modo parziale, il recupero può essere pressoché immediato (ILEC, 1999). Nel caso in cui, al posto della tecnica dello svuotamento tramite dragaggio, venga utilizzato lo svuotamento con successiva rimozione del sedimento tramite bulldozer, il risultato sarà ancora più distruttivo per la fauna bentonica.

7) Trattamento dei campioni

In campo

Subito dopo il prelievo si risciacqua ciascun campione all'interno di un retino a base quadrata dotato di rete a maglie uguali a quelle utilizzate per il campionamento (qualora si sia usato un retino immanicato). Il risciacquo in campo elimina il sedimento fine in eccesso, riducendo i quantitativi di fissativo richiesti, e facilitando la penetrazione di quest'ultimo all'interno degli organismi. Il risciacquo viene effettuato fuori bordo, muovendo il retino in acqua, in senso verticale ed orizzontale, impedendo alla bocca del retino di essere immersa in acqua, fino a quando la maggior parte del sedimento è eliminata. In condizioni meteorologiche avverse, il risciacquo può essere eseguito all'interno di un secchio colmo d'acqua. Tale metodica risulta inoltre consigliabile per non rovinare gli organismi più delicati, evitando il risciacquo sotto il getto diretto dell'acqua.

I campioni vengono poi posti in contenitori (sacchetti o barattoli), e, non potendo essere tutti sciacquati e smistati in campo, vengono conservati in formalina stabilizzata (concentrazione finale ~10%) o alcool (al 70-80%), a seconda, rispettivamente, della maggior o minor presenza di sostanza organica per arrestare l'attività biologica ed impedire la degradazione e la lisi cellulare. In genere, l'uso della formalina è preferito all'alcool, anche perché essendo più potente e più rapida nel penetrare all'interno dei tessuti, permette di utilizzare una minor quantità di fissativo (Callieri & Stockner, 2002). La formalina preserva le colorazioni degli organismi e conserva bene anche parti molto delicate (Ferrarese & Rossaro, 1981), pur comportando l'irrigidimento dei tessuti, rendendoli fragili. L'alcool, invece, ha scarsa capacità di penetrazione, soprattutto in presenza di elevate quantità di sostanza organica, quindi alcuni organismi delicati come gli Oligocheti, rimangono fragili e si spezzano rendendone poi impossibile il conteggio e l'identificazione. L'alcool inoltre, facilita la decolorazione del tegumento degli organismi, talvolta molto utile per la successiva identificazione tassonomica.

Il campione fissato viene etichettato e portato in laboratorio. Su ogni etichetta dovranno essere riportati: il nome del corpo idrico, il numero di identificazione del campione, nome o numero della stazione, profondità, data, ed altre informazioni utili come il numero della replica, il transetto, il nome dell'operatore, ecc. Si raccomanda di usare inchiostro di china o matite a grafite e non penne a sfera per scrivere le etichette, in quanto l'inchiostro delle penne a sfera si cancella facilmente in presenza di solventi come l'alcool.

In laboratorio

Risciacquo

Una volta in laboratorio, l'operatore dapprima risciacqua nuovamente il campione utilizzando lo stesso retino usato in campo oppure setacci con maglie di ampiezza diversa, per rimuovere il sedimento eventualmente ancora presente e per facilitare il successivo smistamento. L'uso dei setacci facilita lo smistamento in quanto si ottengono frazioni separate sulla base delle dimensioni del materiale organico grossolano, ma contemporaneamente può rovinare o distruggere quegli organismi che tendono a disporsi "a cavallo" delle maglie stesse.

In ogni caso, qualora venga usata la formalina come fissativo, si raccomanda di eseguire il risciacquo usando una cappa aspirante così da eliminare, oltre al detrito fine, anche il fissativo stesso che è tossico e cancerogeno. E' opportuno inoltre, che le acque di lavaggio contenendo formalina siano smaltite in appositi contenitori e non versate nella rete domestica delle acque di scarico. Si raccomanda in ogni caso l'opportunità di lasciar passare il minor tempo possibile tra la raccolta ed il lavaggio dei campioni; ciò consente di ridurre la quantità di formalina necessaria alla conservazione dei campioni e le conseguenti necessarie misure di sicurezza. Durante questa operazione, si deve eliminare anche tutto il materiale grossolano (organico o meno) presente nel campione (come sassi, pezzi di legno o foglie), sciacquandolo all'interno del retino per evitare perdite di organismi. Nell'eseguire il risciacquo in laboratorio, il retino contenente il campione viene posizionato in un contenitore e mosso delicatamente, facendo attenzione a non immergere la bocca del retino da risciacquo nel contenitore stesso, evitando quindi la perdita di organismi. Il campione viene poi spostato in un *becker* contenitore per procedere all'eventuale suddivisione del campione in sottocampioni ed allo smistamento.

Sottocampionamento

Il sottocampionamento viene utilizzato soprattutto quando si hanno campioni molto ricchi di organismi, nei quali un processo di smistamento di tutti gli organismi risulterebbe molto oneroso, in termini sia di tempo che di costi. Questa procedura risulta vantaggiosa anche quando si hanno campioni ricchi di materiale organico, nei quali l'individuazione dei macroinvertebrati risulta laboriosa con il conseguente impiego di molto tempo per effettuare lo smistamento (King & Richardson, 2002). Il sottocampionamento tuttavia non è consigliato, se non in casi particolari. La scelta dipenderà infatti dal tipo di studio che si vuole affrontare e dalla disponibilità di tempo. L'uso

del sottocampionamento è stato, ed è tuttora, molto dibattuto, perché spesso offre stime errate della biodiversità di un ambiente.

Attualmente, esistono due metodiche di sottocampionamento molto diffuse: quella definita a frazione fissa, in cui si sottocampiona il campione *in toto*, e quella del conteggio fisso, in cui si limita il conteggio a un numero fisso di organismi.

Metodo a frazione fissa

Questo metodo prevede che una porzione standard di campione venga scelta dal campione intero come rappresentativa (per esempio: la metà o un quarto). Nella maggior parte dei casi si considera il volume o l'area occupata dal campione intero, quindi la dimensione della porzione standard (es. 10%, 20%, 25%, ecc) viene valutata come percentuale su volume o su area dell'intero campione (Barbour & Gerritsen, 1996; Baker & Huggins, 2005). In altri casi, si può condurre il sottocampionamento prelevando una percentuale in peso del campione intero.

Uno dei vantaggi dell'uso del metodo a frazione fissa è che produce una stima della ricchezza in specie basata su una unità che può essere il volume, l'area o il peso, permettendo il calcolo delle rispettive densità e rendendo quindi i campioni confrontabili fra loro (Hurlbert, 1971; Barbour and Gerritsen, 1996; Courtemanch, 1996).

Metodo del conteggio fisso

Il sottocampionamento basato sul conteggio fisso consiste nella selezione di un numero fisso di individui (solitamente 200-300). Con questa tecnica, si riesce ad individuare il numero di specie presenti nel campione, valutandone le abbondanze relative.

Per i sottocampionamenti a conteggio fisso viene utilizzata una bacinella suddivisa da una griglia, che permette una semplice selezione del numero fisso di organismi scelti dal campione intero (Fig. 15).

Il campione viene messo sulla griglia e disperso in maniera uniforme sul fondo. Vengono scelte delle celle casuali della griglia all'interno delle quali si raccolgono gli organismi fino a quando il loro numero si avvicina o supera in numero standard (solitamente 200-300). E' buona norma non analizzare solamente un sottocampione, ma utilizzare un minimo di quattro o più frazioni. Si deve prestare attenzione a raccogliere tutti gli organismi di una cella, senza soffermarsi solamente sugli organismi più grossi e ben visibili, discriminando gli organismi più piccoli e meno visibili.

		3		5					10
11									
		23		25			28		30
					36				
41		43	44			47			

Fig. 15 - Sottocampionatore a griglia di 50 celle: i campioni sono scelti in modo casuale per lo smistamento ed il conteggio, protratto fino al raggiungimento del numero prefissato di organismi.

Questa tecnica, nata per lo studio dello zooplancton, è successivamente stata adattata per l'analisi degli organismi bentonici (Hilsenhoff, 1988), rivista e modificata da Plafkin (Plafkin *et al.*, 1989).

Lo smistamento e l'identificazione tassonomica di ampi campioni non è una soluzione praticabile per molte Agenzie che operano nel settore. Alcuni lavori indicano che il sottocampionamento può essere adottato con cautela addirittura senza un calo di qualità dei dati. Sfortunatamente, però, molti lavori condotti sull'effetto del sottocampionamento non sono sufficienti a determinare se è possibile utilizzare questa metodica nel campo del monitoraggio ambientale dei macroinvertebrati (Doberstein *et al.*, 2000).

Smistamento dei campioni

La separazione degli organismi bentonici dal sedimento (*sorting*) richiede molto tempo, soprattutto se si è interessati anche alla raccolta di stadi giovanili. Nel tempo, si sono quindi ideati diversi metodi per semplificare e velocizzare le operazioni di smistamento. La prima, facilmente adottabile, è quella di separare il surnatante e gli organismi ad esso associati tramite un colino a maglia fine. Dopo questa prima operazione si rovescia in un *becker* il campione e lo si fa ruotare delicatamente in senso orario facendo decantare il materiale organico e concentrandolo in un *becker* separato. Questa fase va ripetuta più volte, fino a quando tutto il materiale organico non sia stato separato dalla frazione minerale. A questo punto, da un campione ne sono stati ottenuti 3 a diversa pezzatura e più facilmente lavorabili. Nella frazione minerale, infatti, non dovrebbero essere rimasti organismi e può quindi essere eliminata, dopo vaglio allo stereomicroscopio di almeno 5 capsule

Petri consecutive, senza alcun ritrovamento. Nelle altre due frazioni, invece, gli organismi saranno molto concentrati e più facilmente visibili.

Altri metodi adottati sono la flottazione con soluzioni ad alta densità di solfato di magnesio (Beak, 1938; Ladell, 1936), cloruro di sodio (Lyman, 1943) o zucchero (Anderson, 1959; Caverness & Jensen, 1955). Quest'ultima è largamente utilizzata per la capacità di separare gli organismi dal detrito organico. Non viene invece adottata in presenza di scarso detrito, in quanto gli organismi intrappolati in esso non riescono a liberarsi. Birkett (1957) e Whitehouse & Lewis (1966) consigliano la flottazione con tetracloruro di carbonio che ha significativi risultati per campioni composti principalmente da sabbia e ghiaia, mentre gli organismi restano con il detrito organico e devono poi essere smistati a mano. La separazione manuale rimane il metodo maggiormente utilizzato ed il più preciso.

I campioni possono essere lavorati in vasche a fondo bianco, utilizzando eventualmente lenti d'ingrandimento 2x, oppure in vasche a fondo scuro per avere un maggior contrasto con gli organismi che presentano tinte poco appariscenti. Alcuni ricercatori utilizzano Rosa Bengala, proposto in America a partire dagli anni '60 senza indicazioni su una concentrazione definita (Engineering Sciences Incorporated, 1963), per aumentare il contrasto fra organismi e colorazione della vasca di fondo e facilitare il riconoscimento degli stessi, soprattutto degli organismi di più piccole dimensioni, dal resto della sostanza organica. Tale tecnica è però poco accettata dai tassonomi, che vedono l'uso del colorante come una copertura alla normale colorazione dell'organismo che ne complica la successiva identificazione tassonomica. Nel caso degli Oligocheti, tale colorazione può anche interferire con il successivo uso di coloranti, che servono a mettere in evidenza caratteri diagnostici fondamentali per l'identificazione.

Suddivisione in gruppi tassonomici

Al termine dello smistamento, si può procedere con la suddivisione dei vari organismi nei diversi gruppi tassonomici. In questa fase, il campione va mantenuto in acqua per evitare il disseccamento degli organismi stessi, rabboccandola ed evitandone la completa evaporazione. Tutte queste operazioni vanno eseguite al microscopio stereoscopico (con ingrandimenti fino a 100 x), con piccole parti di campione poste in una capsula Petri.

Si prosegue lo smistamento fino alla raccolta di tutti gli organismi. È consigliabile eseguire più passaggi sullo stesso campione per evitare perdite di materiale. Gli organismi, prelevati con una pinzetta o un ago immanicato, vengono contati e suddivisi nei diversi gruppi tassonomici inserendoli in fiale gruppo-specifiche contenenti alcool (è sufficiente una concentrazione pari al

50%). All'interno di ogni fialetta si inserisce un'etichetta che riporta, oltre a quanto scritto sulla bottiglia, anche il nome del gruppo di organismi. Le fialette vengono poi chiuse con cotone idrofilo ed inserite in bottiglie di vetro o in barattoli di plastica, che vengono etichettati e riempiti di alcool. Il cotone idrofilo evita la fuoriuscita degli organismi, permettendo al contempo un continuo ricambio con il fissativo esterno. Con il passare del tempo, è necessario controllare il livello raggiunto dall'alcool, per evitare il disseccamento del campione.

Determinazione tassonomica

Una volta smistati tutti i campioni, si procede con l'identificazione tassonomica attraverso la preparazione di vetrini e l'uso di microscopi ottici, qualora si tratti di parti di organismi piccoli, mentre l'organismo intero verrà osservato allo stereo-microscopio. Nel caso di Ditteri Chironomidi e di Oligocheti si dovranno allestire preparati microscopici che ingrandiscano il capo o il solo apparato boccale, le setole, gli organi riproduttivi, ossia tutti quegli organi o parti del corpo utili per una loro successiva identificazione. Per la preparazione dei vetrini permanenti o semi-permanenti di Ditteri Chironomidi è utile fare riferimento a Lencioni *et al.* (2007; 2011, in prep.), per gli Oligocheti a Campaioli *et al.* (1999) e Sambugar & Giacomazzi (2011, in prep.). Per l'identificazione di altri ordini di macroinvertebrati si suggerisce di utilizzare le chiavi tassonomiche specifiche (AA.VV., 1977-1985; Lencioni *et al.*, 2011, in prep.), per arrivare alla specie. Infatti, un livello tassonomico approfondito è quanto richiesto per la messa a punto degli Indici di valutazione della qualità delle acque (Rossaro *et al.*, 2009) come richiesto dalla Direttiva Quadro sulle Acque. È quindi necessario dettagliare approfonditamente il livello conoscitivo per ciascuno dei laghi italiani in esame, per riuscire ad identificare la presenza o meno di taxa sensibili e/o tolleranti. Infatti, aggregando i taxa in unità superiori si ottengono gruppi che includono al loro interno taxa sia tolleranti sia sensibili. In generale, è accezione comune ritenere che la macrofauna risponda a stress idraulici, chimici e tossici, ma che tali risposte siano, in alcuni casi, specie-specifiche. Ciò nondimeno, sino ad oggi, è stata data poca importanza alla tassonomia ed all'influenza dei fattori naturali nel determinare la struttura di comunità e quindi al valore assunto dalle specie. È quindi necessario conoscere la risposta dei singoli taxa ai diversi fattori se si vogliono separare l'effetto dell'inquinamento da quello dei fattori naturali sulla struttura di comunità. L'uso di gruppi tassonomici ampi, e di conseguenza più generici, è giustificato da ragioni pratiche. In realtà, tale procedura genera gruppi molto eterogenei come nei Ditteri Chironomidi, all'interno dei quali sono presenti specie che appartengono a uno stesso genere, che hanno risposte ecologiche nettamente diverse. Si suggerisce, quindi, un maggior dettaglio tassonomico per

distinguere le diverse risposte ecologiche; solo in questo modo è possibile produrre modelli previsionali che mettano in relazione la risposta delle singole specie ai parametri ambientali. L'uso di exuviae larvali e pupali, e degli adulti facilita notevolmente il compito del tassonomo.

Conteggio

Al momento dell'identificazione, condotta al più basso livello possibile, i diversi taxa vengono contemporaneamente conteggiati. Quindi per ogni replica raccolta in ogni stazione considerata per ogni fascia di profondità nel lago oggetto di studio si devono conteggiare i singoli organismi trovati per ognuno dei taxa identificati. I valori ottenuti per ogni singola replica andranno mantenuti separati fra loro ed utilizzati in seguito per il calcolo del valore medio di abbondanza di ciascuna specie.

Si sottolinea che il totale degli esemplari contati deve essere suddiviso in:

numero degli individui appartenenti alle specie a, b, c, ecc. (es. *Tubifex tubifex* 5 ind.), numero degli individui appartenenti al genere o alla famiglia A, B, C, ecc (es. *Tubifex* sp. 6 ind. oppure Tubificidi 6 ind.), numero degli individui non identificati (es. Tubificidi immaturi con chete capillari 400 ind. oppure Chironomini juveniles/indeterminati 35 ind.). Con il termine juveniles si definiscono gli stadi giovanili di qualsiasi gruppo tassonomico, che, in quanto tali, risultano non determinabili.

Con le diverse diciture citate sopra si vuole intendere:

Tubifex tubifex è una specie ben identificata, *Tubifex* sp., così come *Chironomus* sp. o *Micropsectra* sp. appartengono ad un genere certo, ma non è stato possibile determinare la (sp.) o le (spp.) specie, mentre Tubificidi immaturi (TIM) con chete capillari e Chironomini juveniles/indeterminati definiscono che non è possibile una identificazione più approfondita perché gli individui sono troppo giovani (juveniles) oppure in pessime condizioni di conservazione (indeterminati).

Dal conteggio delle singole specie appartenenti alle diverse famiglie ed ai diversi ordini, si ottiene il valore degli individui totali appartenenti alla dragata in esame.

Statistica di base

A partire dai valori di abbondanza esistono alcune misure basilari utili per descrivere popolazioni e comunità: fra di esse ricordiamo la densità, la frequenza, la biomassa e la diversità. Si parla di densità quando si intende riferire l'abbondanza di una specie all'unità di area, di frequenza quando si vuole evidenziare il numero di repliche in cui compare la stessa specie, di biomassa quando si considera il peso degli individui di una popolazione o di un taxon espressi per unità di area, utile nel visualizzare la struttura trofica di una comunità.

Densità totale degli individui di una specie riferita all'unità di area, espressa generalmente come ind m⁻² (individui per metro quadrato).

La densità viene calcolata applicando la seguente formula:

$$D = N / A * 10000$$

dove:

D = densità degli individui di un determinato taxon da calcolare

N = numero di individui di ciascun taxon (specie, genere o famiglia a seconda di quanto si è riusciti ad approfondire l'identificazione tassonomica) presente in un campione (pari alla somma degli individui di quel taxon presenti nel replicato in studio)

A = superficie utile del campionatore utilizzato, espressa in cm²

10000 = valore di conversione da cm² a m²

Ciò che si ottiene è un elenco in specie (generi, o famiglie a seconda di quanto si è riusciti ad approfondire l'identificazione tassonomica) a cui corrisponde il relativo numero di individui riscontrato, a cui a sua volta corrisponde il rispettivo valore di densità. Dalla somma delle singole densità si ottiene il valore di densità totale della dragata.

Per ogni taxon si procede poi al calcolo delle densità medie ottenuto dalla media delle densità dei tre replicati campionati per fascia di profondità. Data la distribuzione a macchia della fauna a macroinvertebrati, si ricorda che in alcuni casi può succedere che una dragata non presenti fauna al suo interno. La media deve comunque essere calcolata sulle tre dragate raccolte.

Frequenza possibilità di trovare una determinata specie all'interno di un campione.

La frequenza viene calcolata tramite la formula:

$$F = j/k$$

dove:

F = frequenza di un determinato taxon da calcolare

j = numero di campioni in cui è stato trovato il taxon

k = numero totale di campioni prelevati

Biomassa peso degli individui di un determinato taxon per unità di area, generalmente espressa in mg m⁻² (milligrammi al metro quadrato).

La biomassa viene calcolata attraverso la seguente formula:

$$B = \Sigma P / A * 10000$$

dove:

B = biomassa degli individui di un determinato taxon da calcolare

P = peso degli individui di ciascun taxon (specie, genere o famiglia a seconda di quanto si è riusciti ad approfondire l'identificazione tassonomica) presente in un campione

A = superficie utile del campionatore utilizzato, espressa in cm²

10000 = valore di conversione da cm² a m²

Per i macroinvertebrati il peso viene solitamente inteso come peso fresco. Le pesate dei taxa vengono effettuate su bilancia analitica di precisione dopo aver asciugato gli organismi su carta. Purtroppo misure accurate di peso fresco sono difficili da ottenere su animali morti o fissati, perché il fissativo tende a disidratare gli organismi permettendo solo una stima del reale valore di peso. Per gli Oligocheti, il peso reale andrebbe calcolato dopo aver eliminato il contenuto stomacale di detrito, ma poiché questa parte solitamente rappresenta una piccola percentuale del peso totale, può essere tralasciata.

La diversità in specie è espressione della struttura di comunità e comprende sia il numero di specie (ricchezza), sia la distribuzione dei singoli individui fra le specie (*evenness*). Generalmente, una elevata diversità di specie è indice di una comunità complessa perché sono possibili maggiori interazioni fra entità diverse, mentre il suo valore decresce in presenza di impatti antropici, ma anche con l'altitudine, per la scomparsa delle specie più sensibili ed il prevalere di quelle più tolleranti. Da segnalare che la bassa diversità presentata da un lago d'alta quota può essere legata alle condizioni ambientali rigide a cui l'ambiente è sottoposto ed alla scarsità di nutrienti che limitano il numero di specie in grado di sopravvivere.

La più semplice misura di diversità è rappresentata dal numero delle specie, ossia la ricchezza in specie. Ricordiamo l'Indice di **Margalef** (1957):

$$D = \frac{s-1}{\log N}$$

dove:

D = Indice di diversità di Margalef da calcolare

s = numero delle entità tassonomiche trovate

N = numero di individui di ciascun taxon (specie, genere o famiglia a seconda di quanto si è riusciti ad approfondire l'identificazione tassonomica) presente in un campione

L'Indice di diversità di **Simpson** (1949) considera non solamente il numero delle specie ed il numero totale degli individui, ma anche l'abbondanza relativa di ogni specie, diviene quindi una misura di dominanza. Il suo *range* è compreso fra 0 e 1, dove valori prossimi a 1 indicano una bassa diversità in specie, e rappresenta la probabilità che due organismi appartengano alla stessa specie.

$$l = \frac{\sum n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

dove:

l = Indice di diversità di Simpson da calcolare

n_i = abbondanza di ogni entità tassonomica trovata

N = numero di individui di ciascun taxon (specie, genere o famiglia a seconda di quanto si è riusciti ad approfondire l'identificazione tassonomica) presente in un campione

L'Indice di diversità di **Shannon** (Shannon & Weaver, 1949):

$$H = -\sum p_i \log p_i$$

dove:

H = Indice di diversità di Shannon da calcolare

p_i = abbondanza relativa di ogni entità tassonomica trovata

L'ultimo indice considerato, l'indice di uguaglianza o di equitabilità di **Pielou** (1966), varia fra 0 e 1, dove valori prossimi a 1 indicano uniformità di distribuzione delle specie, mentre valori prossimi allo 0 indicano il prevalere di alcune specie su altre.

$$e = \frac{H}{\log s}$$

dove:

e = Indice di diversità di Pielou da calcolare

H = Indice di diversità di Shannon

s = numero delle entità tassonomiche trovate

Infine, possono essere calcolati indici di qualità basati sui macroinvertebrati per classificare gli ambienti lacustri. Fra di essi ricordiamo gli indici di Wiederholm (1980) e Lafont (1991) basati sull'uso di specie indicatrici di Chironomidi ed Oligocheti, l'indice messo a punto da Sæther (1979) basato sul valore indicatore dei soli Chironomidi oppure l'indice di Lang (1990) basato sugli Oligocheti, fino ad arrivare all'ultima proposta di indice effettuata da Rossaro *et al.* (2011). Quest'ultimo tiene conto della composizione tassonomica e della diversità del sito in studio, delle abbondanze relative delle singole specie e del loro valore indicatore. In accordo con quanto prescritto dalla Direttiva Quadro europea sulle Acque 2000/60, le acque superficiali potranno così essere classificate in 1) elevata, 2) buona, 3) moderata, 4) scarsa e 5) pessima qualità.

8) L'ambiente abiotico di un lago

Per caratterizzare un ambiente lacustre e per comprendere quali forze sono quelle strutturanti la comunità biologica, è utile condurre analisi sull'ambiente nel suo complesso, considerando quindi sia il comparto biologico che quello abiotico. Ciò permetterà di capire se i cambiamenti eventualmente insorti nell'ecosistema possono influenzare o meno la presenza/assenza di singole specie chiave o la naturalità e l'integrità delle comunità.

La caratterizzazione di un lago dal punto di vista fisico e chimico, e non solamente biologico, può inoltre essere usata per descrivere quantitativamente il suo livello trofico, anche attraverso l'uso di indici. I risultati ottenuti possono essere di conseguenza utili alle Amministrazioni pubbliche che devono prendere decisioni sulla gestione o sul recupero del corpo idrico in esame, fornire utili informazioni sulla condizione presente rispetto a quella passata, o permettere di predire le condizioni future del lago in seguito a un cambiamento nei carichi in ingresso in fosforo, nella clorofilla o nella trasparenza delle acque.

Quindi, per un appropriato monitoraggio di un ambiente lacustre è di grande utilità prevedere la raccolta iniziale di informazioni sull'ubicazione e sulla morfologia della conca lacustre per capire quanti transetti posizionare ed in quali punti, ma anche le caratteristiche fisiche e chimiche delle acque e dei sedimenti (Hayworth, 2004).

L'ambiente fisico

Molti sono i parametri che caratterizzano un ambiente lacustre dal punto di vista fisico. Una volta acquisiti, questi vengono utilizzati per definire l'appartenenza del corpo idrico ad una determinata tipologia, ma anche per confrontare ambienti diversi fra loro o per stabilire se un lago possa essere, oppure no, considerato sito di riferimento.

Molti si ottengono da carte geografiche o attraverso rilievi GPS, tra cui: area del lago, profondità, lunghezza della linea di costa, area del bacino imbrifero, geologia e utilizzo del suolo nel territorio circostante il lago. Altri parametri necessitano invece, di rilievi di campo (Lake Habitat Survey; Rowan *et al.*, 2006; Rowan, 2008). Tra questi, il regime idrologico, rappresentato dal livello dell'acqua e dalle sue fluttuazioni, dalle dinamiche di flusso, dal tempo di residenza delle acque del lago e dalle connessioni con le acque sotterranee. Anche informazioni morfologiche, quali le variazioni nella profondità massima e nella struttura e nelle condizioni delle rive, sono importanti aspetti da valutare per caratterizzare un lago. Quando possibile, le misure devono essere effettuate in campo, ma in alcuni casi possono essere ottenute attraverso fonti storiche.

Sempre sulle rive, percorrendole a piedi o, qualora fosse impossibile, da un'imbarcazione che si muove lungo la linea di costa è inoltre importante valutare la presenza e l'estensione di eventuali impatti antropici (come darsene, porti, ormeggi ad elevata densità, pontili, aree destinate a scopo ricreativo, presenza di campeggi, arginature, ecc). Anche la presenza e la stima della copertura relativa di macrofite sommerse, emerse e flottanti, e la loro diffusione sono importanti parametri che possono influenzare la struttura della comunità bentonica in ogni sito di campionamento. Tali valutazioni devono essere effettuate nel periodo di maggior sviluppo della vegetazione (Giugno-Agosto).

Tra i parametri fisici più importanti da misurare vi è la temperatura dell'acqua che può essere ottenuta tramite quattro modalità: i) lungo l'intero profilo sulla colonna in centro lago; ii) nel caso di ambienti profondi, a 4 profondità (in superficie, nei primi 5 m di profondità, a profondità media e sul fondo), nel caso di ambienti più piccoli, a 3 profondità diverse (superficie, profondità media e sul fondo); nel caso estremo di laghi molto profondi (come nei laghi: Maggiore, Garda, Como, Iseo e Lugano) in un numero di punti lungo la colonna che sia proporzionale alla profondità della massa d'acqua; infine iii) nelle singole stazioni di campionamento della fauna bentonica (misurazioni puntiformi). Questo parametro permette di capire quando si instaurano i periodi di circolazione e di stratificazione termica.

Altro fattore da considerare è la trasparenza dell'acqua, misurata tramite disco di Secchi, ossia un disco metallico collegato ad una fune e colorato di bianco su un lato. L'operatore misura la profondità di scomparsa e di riapparizione del disco e dalla media fra i due valori ottiene il valore di trasparenza dell'acqua espresso in cm. Tale misura permette di evidenziare l'estensione della zona fotica.

L'ambiente chimico

Nei laghi d'alta quota, i campioni vanno prelevati dallo strato superficiale d'acqua (0,1-1 m) o all'emissario (NIVA, 1995, 2010). Campioni discreti prelevati a metà dello strato epilimnico o un campione integrato dello strato epilimnico possono fornire dati attendibili. Se si usa una bottiglia per campionare, questa deve essere testata per i contaminanti, soprattutto nel caso in cui si intendano fare prelievi per evidenziare la presenza di metalli pesanti.

Le acque dei laghi d'alta quota sono generalmente a contenuto ionico molto basso; bisogna quindi essere dotati di strumenti e di metodi capaci di procedere con le analisi necessarie. Anche in questo caso, sia la bottiglia utilizzata per il campionamento sia le bottiglie usate per lo stoccaggio

devono essere prive di contaminanti, e costituite da materiale che non assorba o rilasci sostanze di alcun tipo (es. Polietilene). Nel passaggio d'acqua fra la bottiglia di campionamento e quella di stoccaggio si deve ricordare di sciacquare le bottiglie di stoccaggio prima di procedere al loro riempimento. Inoltre, si deve porre attenzione a riempire completamente le bottiglie per lo stoccaggio, evitando l'intrappolamento d'aria, semplicemente schiacciando le pareti della bottiglia al momento della chiusura con il contro-tappo. In questo modo si eviteranno scambi con l'ambiente aereo. I campioni vanno prelevati, stoccati al buio a 4 °C e analizzati il prima possibile.

Nel caso di prelievi per l'analisi di metalli, i campioni vanno fissati utilizzando acido nitrico. I campioni devono essere prelevati mensilmente, nel periodo compreso fra il disgelo e la nuova copertura ghiacciata. Invece, un campionamento di minima prevede la raccolta di due campioni: uno al disgelo ed uno in autunno, quando il lago è soggetto a circolazione delle acque.

Se i campioni sono prelevati all'emissario, l'apertura della bottiglia andrà tenuta contro-corrente e al di sotto della superficie dell'acqua. Si deve dapprima sciacquare con acqua dell'ambiente di studio e poi procedere al suo riempimento (NIVA, 1995, 2010). Anche in questo caso, si può procedere secondo due modalità: una frequenza di campionamento mensile nel periodo libero da ghiacci, oppure una frequenza che dipenda dall'idrologia prevalente dell'emissario. Si seguono quindi i cambiamenti di flusso, assicurando la raccolta in periodi con flusso standard, durante eventi di pioggia e al momento del disgelo, particolarmente utile quando si voglia valutare il trasporto annuale delle sostanze nel bacino.

Nei laghi di bassa quota, i campioni per le analisi chimiche devono essere abbinati alla raccolta dei campioni biologici, per quanto riguarda sia la distribuzione spaziale sia la frequenza di campionamento. Anche in questi ambienti, valgono le stesse prescrizioni definite per gli ambienti alpini e relative alle metodiche di campionamento, frequenza e trattamento dei campioni, anche se le analisi da realizzare riguardano principalmente l'ossigeno disciolto, il pH, la temperatura, la conducibilità ed i nutrienti. Nei laghi naturali, la caratterizzazione fisico-chimica viene svolta nel punto di massima profondità del lago, descrittivo delle condizioni medie delle acque lacustri. La stazione di campionamento deve essere posizionata centralmente rispetto alla superficie lacustre (se l'ambiente è di piccole dimensioni), in modo da non essere influenzata da quanto avviene nella zona litorale. Qualora tale punto fosse troppo vicino alla sponda, è consigliabile scegliere una stazione più centrale.

Nei corpi idrici fortemente modificati, invece, si considera come punto centrale quello a massima profondità nei pressi dello sbarramento, badando a che questo non sia sottoposto ad influenza di opere di prelievo e/o di immissione.

Qualora invece si preferisca far riferimento a campioni prelevati in abbinamento ai campioni bentonici, questi devono essere distribuiti nella zona litorale (o fluviale per i corpi idrici fortemente modificati), sub-litorale (o di transizione per i corpi idrici fortemente modificati) e ad un metro dal fondo.

In questi ambienti, si farà uso di bottiglia a strappo dotata di termometro a rovesciamento. Per ogni misura, si memorizzano profondità e temperatura. In laghi poco profondi si possono prendere misure ogni metro di profondità fino ad un metro sopra il sedimento di fondo, per non contaminare l'ultimo campione.

L'ambiente dei sedimenti

I sedimenti vanno dapprima descritti misurando accuratamente la loro tessitura, determinando la frequenza di distribuzione delle varie classi dimensionali e dandone una descrizione che caratterizzi adeguatamente il campione ai fini della sua influenza sulla struttura di comunità.

Questo tipo di analisi va effettuata *a priori* rispetto alla scelta delle stazioni da campionare, in quanto solo in questo modo si è sicuri di campionare habitat diversi fra loro, nel caso di sedimenti che, ad un primo colpo d'occhio, appaiano simili. Il campionatore utilizzato generalmente è lo stesso (benna, carotatore) che viene poi usato per il campionamento faunistico per l'analisi di comunità.

Una volta prelevati i campioni, per ognuno di essi è utile definire nell'immediato il colore e l'odore (se presente). I campioni, trasportati in laboratorio, vengono separati in due aliquote. Una viene analizzata per conoscere il contenuto d'acqua, di sostanza organica e di carbonati, mentre la seconda aliquota viene analizzata per la granulometria.

L'aliquota usata per la determinazione del contenuto in acqua, sostanza organica e carbonati, viene ulteriormente suddivisa in due sub-aliquote: una parte viene sottoposta ad analisi del contenuto in acqua, tramite pesate condotte prima e dopo un trattamento in stufa a circa 60 °C. Il risultato fornisce una stima del contenuto in acqua. La seconda sub-aliquota parte viene analizzata per le concentrazioni di sostanza organica e carbonati, espresse come percentuale di peso secco, misurando la differenza in peso dopo calcinazione in muffola a 500 e poi a 900 °C. Il procedimento utilizzato è il metodo della perdita in peso per calcinazione, LOI (*Loss On Ignition*) (Bengtsson & Enell, 1986; Heiri *et al.*, 2001).

I risultati di questo tipo di analisi sono molto sensibili al modo in cui i campioni vengono raccolti, maneggiati e conservati (Poppe *et al.*, 2003). I sottocampioni vanno conservati in

contenitori appropriati per le successive analisi. Solitamente vengono utilizzati contenitori inerti in plastica, piuttosto che in metallo, in quanto questi ultimi potrebbero contaminare il campione. Le analisi successive devono essere condotte in un tempo ragionevolmente breve (<2 mesi) per evitare reazioni che potrebbero instaurarsi all'interno del campione stesso, modificandone la granulometria, soprattutto in presenza di elevata sostanza organica. Più a lungo si conserva il campione, infatti, più è facile che si creino alterazioni correlate allo stoccaggio: è quindi sempre opportuno conservare i campioni al freddo per ridurre questa possibilità.

9) Registrazione delle informazioni su supporto magnetico

Al giorno d'oggi sono necessarie sempre maggiori e più approfondite conoscenze sugli ecosistemi acquatici e sui metodi necessari per il loro monitoraggio, gestione, protezione e recupero. Questo è di vitale importanza, non solo a fini ricreazionali, ma anche per la salute umana e per lo sviluppo economico del Paese. La fase finale di qualsiasi programma di monitoraggio deve quindi prevedere la costruzione di un database, ossia di un archivio informatico, che raccolga tutte le informazioni ottenute dal monitoraggio, perché queste possano essere messe a disposizione degli Enti preposti per gli utilizzi finali.

Il database deve assicurare l'accuratezza del dato inserito, l'accumulo, l'aggiornamento ed il recupero dei dati presenti per le esigenze degli operatori e degli utenti finali. Bisogna inoltre prevedere standard qualitativi, che riguardino il processo stesso di archiviazione dei dati, cercando di evitare banali errori di trascrizione, prevedere una crescita esponenziale della quantità dei dati ed infine considerare che le caratteristiche e le necessità di archiviazione si incrociano sempre più con la necessità di mantenere una ragionevole "fruibilità" da parte di coloro che ne costituiscono i naturali *target*. La banca dati deve infatti assicurare la possibilità di estendere il database a seconda delle esigenze, di manipolare il dato grezzo per eventuali interpretazioni e divenire così un autentico archivio di dati storici. Deve contenere sia le informazioni base relative ai singoli laghi appartenenti ai diversi bacini idrografici delle singole Regioni, sia informazioni relative alle comunità ed ai popolamenti che li abitano, alla tipologia di sedimenti in cui essi vivono, alle informazioni chimiche delle stazioni in studio suddivise per parametro chimico e per anno di campionamento.

I dati biologici devono essere disponibili sia come dati grezzi, sia come dati aggregati per comunità delle singole stazioni espressi come numero di individui per specie, come densità per taxon o per gruppo tassonomico, o per gruppo funzionale, come diversità per stazione, per transetto e per lago e, qualora lo si ritenga necessario, come biomassa. In questo modo si può risalire alla struttura di comunità della stazione, del transetto o dell'intero popolamento lacustre. Devono inoltre essere contemplati i principali indici per il calcolo della qualità ambientale, previsti all'interno dei diversi decreti legislativi nazionali.

A prescindere dalla necessità di elaborare linee guida condivise a livello nazionale, è importante identificare la direttrice di sviluppo dell'attuale archiviazione ed i principi che ragionevolmente dovrebbero ispirare le soluzioni sul tema. L'archiviazione dei dati è, quindi, un compito che richiede sempre più competenze specifiche, che, almeno nella fase iniziale di compilazione, devono assicurare la tutela e la riservatezza relativa ai dati contenuti negli archivi.

10) Bibliografia

- AA.VV. 1977-1985. *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane*, Collana del C.N.R. Progetto Finalizzato "Promozione della qualità dell'ambiente", Verona, 29 volumi.
- Anderson, R.O. 1959. A modified flotation technique for sorting bottom fauna samples. *Limnol. Oceanogr.*, 9: 223-225.
- Andreani, P., M. Battegazzore, C. Belfiore, S. Bernabei, A. Buffagni, N. Casino, S. Ciadamidaro, G. Damiani, S. Erba, B. Floris, M. Le foche, L. Mancini, C. Martone, A. Morisi, G. Pace, R. Pagnotta & M. Siligardi. 2007. *Protocollo di campionamento dei macroinvertebrati bentonici dei corsi d'acqua guadabili*. APAT, Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici: 15 pp.
- Baker, D.S. & D.G. Huggins. 2005. Sub-sampling techniques for macroinvertebrates, fish and benthic algae sampled in biological monitoring of stream and rivers. *Kansas Biological Survey Report*, 132: 25 pp.
- Barbour, M.T. & J. Gerritsen. 1996. Subsampling of benthic samples: a defense of the fixed-count method. *Journal of the North American Benthological Society*, 15: 386-391.
- Bazzanti, M., A. Boggero, V. Lencioni, L. Mastrantuono, B. Rossaro & A. Solimini. 2007. *Protocollo di campionamento e analisi dei macroinvertebrati negli ambienti lacustri*. APAT, Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici: 18 pp.
- Beak, T.W. 1938. Methods of making and sorting collections for an ecological study of a stream. Progress Rep. III Avon., *Biol. Res.*, Ann. Rep. 1936-1937, 5: 42-46.
- Bengtsson, L. & M. Enell. 1986. *Chemical analysis*. Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology, B.E. Berglund : 423-433.
- Birkett, L. 1957. Flotation technique for sorting grab samples. *J. Conseil, Conseil Perm. Intern. Exploration Mer.*, 22: 289-292.
- Bradley, D.C. & S.J. Ormerod. 2002. Evaluating the precision of kick-sampling in upland streams for assessments of long-term change: the effects of sampling effort, habitat and rarity. *Arch. Hydrobiol.*, 155: 199-221.
- Burton, W. & J.F. Flannagan. 1976. An improved river drift sampler. Fisheries and Marine Service, Research Development. *Technical Report*, 641: 8pp.
- Callieri, C. & J.G. Stockner. 2002. Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *J. Limnol.*, 61: 1-14.
- Campaioli, S., P.F. Ghetti, A. Minelli & S. Ruffo. 1999. *Manuale per il riconoscimento dei macroinvertebrati delle acque dolci italiane*. Vol I-II. Ed. Provincia Autonoma di Trento.
- Cannaviello, E.F. 1927. *Attrezzi per la pesca nelle acque dolci d'Italia*. Ed. Ministero dell'Economia Nazionale: 88 pp.
- Caverness, F.E. & H.T. Jensen. 1955. *Modification of the centrifugal-flotation technique for the isolation concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue*. Proc. Helm. Soc. Wash., 22: 87-89.
- Cooke, G.D., E.B. Weich, S.A. Peterson & P.R. Newroth. 1986. *Lake and reservoir restoration*. Buttlerworths Ed., Boston.

- Courtemanch, D.L. 1996. Commentary on the sub-sampling procedures used for rapid bioassessments. *J. North Am. Bent. Soc.*, 15: 381-385.
- Davies, I.J. 1984. Sampling aquatic insect emergence. In: Downing J.A. & F.H. Rigler (Eds), *A manual on method for the assessment of secondary productivity in fresh waters*. Ed. Blackwell Scientific Publications, Handbook, 17: 161-227.
- De Bernardi, R. 1984. Methods for the estimation of zooplankton abundance. In: Downing J.A. & F.H. Rigler (Eds), *A manual on method for the assessment of secondary productivity in fresh waters*. Ed. Blackwell Scientific Publications, Handbook, 17: 59-86.
- Doberstein, C.P., J.R. Karr and L.L. Conquest. 2000. The effect of fixed-count sub-sampling on macroinvertebrate biomonitoring in small streams. *Freshwater Biology*, 44: 355-371.
- Downing, J.A. 1984. Sampling the benthos of standing waters. In: Downing J.A. & F.H. Rigler (Eds), *A manual on method for the assessment of secondary productivity in fresh waters*. Ed. Blackwell Scientific Publications, Handbook, 17: 87-130.
- Eggleton, F.E. 1931. A limnological study of the profundal bottom fauna of certain fresh-water lakes. *Ecol. Monogr.*, 1: 231-331.
- Ekman, S. 1915. Die Bodenfauna des Vättern, qualitativ und quantitativ untersucht. *Int. Revue ges. Hydrobiol. Hydrogr.*, 7: 146-204.
- Eleftheriou, A. & A. McIntyre. 2005. *Methods for the Study of Marine Benthos*. Blackwell Science, Oxford: 418 pp.
- Engineering Sciences Incorporated. 1963. *Comprehensive study on protection of water resources of Lake Tahoe Basin through controlled waste disposal*. Engineering Sciences, Inc. Arcadia, California: 157 pp.
- EPA, 2001 - Chapter 2: *Sediment Monitoring and Assessment Study Plans*. In: Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. Office of water Washington, DC, United States.
- EPA, 2001 - Chapter 3: *Collection of Whole Sediments*. In: Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. Office of water Washington, DC, United States.
- EU. 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*: 72 pp.
- Ferrarese U & Rossaro B., 1981 - *Chironomidi 1 (Diptera, Chironomidae: Generalità, Diamesinae, Prodiamesinae)*. In: Guide per il riconoscimento della specie animali della acque interne italiane, Vol.12. Ed. Consiglio nazionale delle ricerche: 97 pp.
- Ferrarese, U. & B. Rossaro. 1981. *Chironomidi 1 (Diptera, Chironomidae: Generalità, Diamesinae, Prodiamesinae)*. In: Guide per il riconoscimento della specie animali della acque interne italiane, Vol.12. Ed. Consiglio Nazionale delle Ricerche: 97 pp.
- Fjellheim, A., G.G. Raddum & Øyvind A.S. 2000. EMERGE 06. Protocol for the sampling of contemporary invertebrates. 3 pp.
- Frost, S., A. Huni & W.E. Kershaw. 1971. Evaluation of a kicking technique for sampling stream bottom fauna. *Canadian Journal of Zoology*, 49: 167-183.

- Fusi, E. 2004. *Monitoraggio della fauna nei siti di importanza comunitaria (SIC) proposti per la costituzione della rete europea Natura 2000 (Direttiva CEE 92/43)*. Classe: Pesci (Osteichthyes). Ed. Provincia di Sondrio, Settore Risorse Ambientali: 23 pp.
- Hamilton, A.L., W. Burton & J.F. Flannagan. 1970. A multiple corer for sampling profundal benthos. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 27: 1867-1869.
- Hauer, F.R. & V.H. Resh. 1996. Benthic macroinvertebrates. In: Hauer F.R. & G.A. Lamberti (Eds), *Methods in stream ecology*. Ed. Academic Press: 339-369.
- Hayworth J.D. 2004. A Proposed Lentic Benthic Bioassessment Procedure for California (Protocol Brief for Biological Sampling in Lakes, Reservoirs, and Ponds) - Draft Technical Report. San Francisco Estuary Institute, Oakland, CA.
- Hayworth, J.D. 2004. *A Proposed Lentic Benthic Bioassessment Procedure for California* (Protocol Brief for Biological Sampling in Lakes, Reservoirs, and Ponds). Draft Technical Report. San Francisco Estuary Institute, Oakland, CA.
- Heiri, O., A.F. Lotter & G. Lemcke. 2001. Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. *Journal of Paleolimnology*, 25: 101-110.
- Hilsenhoff, W.L. 1988. Rapid field assessment of organic pollution with family-level biotic index. *Journal of the North American Benthological Society*, 7: 65-68.
- Holme, N.A. 1971. Macrofauna sampling. In: Holme N.A. & A.D. McIntyre (Eds), *Methods for the study of marine benthos*, Blackwell Scientific Publications, Oxford & Edinburgh, IBP Handbook, 16: 80-130.
- Hurlbert, S.H. 1971. The non concept of species diversity: a critique and alternative parameters. *Ecology*, 52: 577-586.
- ILEC, 1999. Guidelines of lake management. Vol. 9. Reservoir water quality management. 229 pp.
- ISO 7828. 1985. *Water quality. Methods of biological sampling. Guidance on handnet sampling of aquatic benthic macro-invertebrates*: 8 pp.
- ISO 9391. 1993. *Water quality. Sampling in deep waters for macro-invertebrates. Guidance on the use of colonization, qualitative and quantitative samplers*: 13 pp.
- Jonasson, P.M. 1955. The efficiency of sieving techniques for sampling freshwater bottom fauna. *Oikos*, 6: 183-207.
- Jonasson, P.M. 1958. The mesh factor in sieving techniques. *Verh. Int. ver. Limnol.*, 13: 860-866.
- Jørgensen, S.E. & H. Löffler. 1990. *Guidelines of lake management*. International Lake Environment Committee, United Nations Environmental Programme: 167 pp.
- Kennedy, R.H., K.W. Thornton & D.E. Ford. 1985. Characterization of the reservoir ecosystem. In: Gunnison D. (Ed.), *Microbial processes in reservoir*. The Hague, Netherlands, Junk Publishers.
- King, R.S. & C.J. Richardson. 2002. Evaluating sub-sampling approaches and macroinvertebrate taxonomic resolution for wetland bioassessment. *Journal of the North American Benthological Society*, 21: 150-171.
- Ladell, W.R.S. 1936. A new apparatus for separating insects and other arthropods from the soil. *Ann. Appl. Biol.*, 23: 862-879.

- Lafont, M., J. Juget & G. Rofes. 1991. An environmental index based on lacustrine oligochaete. *Rev. Sci. Eau*, 4: 253-268.
- Landolt, E. & G. Kauffmann. 1961. *La nostra flora alpina*. Ed. Club Alpino Svizzero, Lugano: 256 pp.
- Lang, C. 1990. Quantitative relationships between oligochaete communities and phosphorus concentrations in lakes. *Freshwat. Biol.*, 24: 327-334.
- Lencioni, V., B. Rossaro, A. Boggero & L. Marziali (Eds). 2011. I macroinvertebrati lacustri – morfologia, tassonomia, ecologia e biomonitoraggio. *Quaderni del Museo Tridentino di Scienze Naturali*, 5: in prep.
- Lencioni, V., Marziali L. & B. Rossaro. 2007. I Ditteri Chironomidi: morfologia, tassonomia, ecologia, fisiologia e zoogeografia. *Quaderni del Museo Tridentino di Scienze Naturali*, 1: 175 pp.
- Lenz, F. 1928. Zur Terminologie der Limnischen zonation. *Arch. Hydrobiol.*, 19: 748-757.
- Lundbeck, J. 1926. Die Bodentierwelt norddeutscher Seen. *Arch. Hydrobiol.*, Supp. 7: 473 pp.
- Lyman, F.E. 1943. A pre-impoundment bottom-fauna study of Watts Bar Reservoir area (Tennessee). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 86: 221-223.
- Mac Isaac, E.A. & J.G. Stockner. 1993. Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence microscopy. In: Kemp, P.F., B.F. Sherr, E.B. Sherr & J.J. Cole (Eds), *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publ.: 187-197.
- Margalef, R. 1957. La teoria de la informacìon en ecologia. *Mem. R. Acad. Cien. Artes*, 32: 373-449.
- Mudroch A. & J.M. Azcue. 1995. *Manual of aquatic sediments sampling*. Ed. Lewis Publishers, Ann Arbor, USA: 219 pp.
- Mudroch, A. & S.D. Macknight. 1994. *Handbook of techniques for aquatic sediments sampling*. Ed. Lewis Publishers, Ann Arbor, United States of America: 236 pp.
- Naumann, E.. 1931. Limnologische Terminologie. In: Abderhalden, E. (Ed.), *Handbuck der Biologischen Arbeitsmethoden*. Abt. IX, Berlin & Wein: 776 pp.
- NIVA. 1987. *International cooperative programme for assessment and monitoring of acidification of rivers and lakes: programme manual*. Programme Centre, NIVA: 23 pp.
- NIVA. 1995. International cooperative programme for assessment and monitoring of acidification of rivers and lakes. *Preliminary: programme manual*. Programme Centre, NIVA: 34 pp.
- NIVA. 2010. International cooperative programme for assessment and monitoring effects of air pollution on rivers and lakes. *ICP Waters programme manual*. Programme Centre, NIVA Report 105/2010: 91 pp.
- Nowicki, P., T. Tirelli, R. Mussat Sartor, F. Bona & D. Pessani. 2008. Monitoring crayfish using a mark-recapture method: potentials, recommendations, and limitations. *Biodiversity and Conservation*, 17: 3513-3530.
- Pielou, E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.*, 13: 131-144.

- Plakfin, J.L., M.T. Barbour, K.D. Porter, S.K. Gross & R.M. Hughes. 1989. *Rapid bioassessment protocol for use in stream and river: benthic macroinvertebrates and fish*. EPA/440/489/001. Office of Water, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Poppe, L.J., A.H. Eliason, J.J. Fredericks, R.R. Rendigs, D. Blackwood & C.F. Polloni. 2003. Grain-size analysis of marine sediments - methodology and data processing, Chapter 1. In: Poppe L.J. & C.F. Polloni (Eds), *USGS East-Coast Sediment Analysis: Procedures, Database and Georeferenced Displays*. U.S. Geological Survey Open-file Report 00-358, 1 DVD-ROM.
- Rosenberg, D.M. & V.H. Resh. 1993. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman & Hall, N.Y., London: 488 pp.
- Rossaro, B., A. Boggero, V. Lencioni & L. Marziali. 2009. Indice per la valutazione della qualità ecologica dei laghi italiani basato sulla comunità bentonica. In: Oggioni A., A. Boggero, M. Ciampittello, A. Marchetto, G. Morabito & P. Volta (Eds), *Indici per la valutazione della qualità ecologica dei laghi*. Report CNR-ISE, 02.09: 75-90.
- Rossaro, B., A. Boggero, V. Lencioni & L. Marziali. 2011. Indice per la valutazione della qualità ecologica dei laghi italiani basato sulla comunità bentonica. In: Oggioni A., A. Boggero, M. Ciampittello, A. Marchetto, G. Morabito & P. Volta (Eds), *Indici per la valutazione della qualità ecologica dei laghi*. Report CNR-ISE, 03.11: 83-100.
- Rossaro, B., A. Boggero, V. Lencioni, L. Marziali & A. Solimini. 2006. A Benthic Quality Index for Italian Lakes. *J. Limnol.*, 65: 41-51.
- Rossaro, B., A.C. Cardoso, A. Solimini, G. Free, L. Marziali & R. Giacchini. 2007. A biotic index using benthic macro-invertebrates for Italian lakes. *Ecological Indicators*, 7: 412-429.
- Rowan, J.S. 2008. Lake Habitat Survey in the united Kingdom. Field survey guidance manual. Project WFD 99, Version 4: 64 pp.
- Rowan, J.S., R.W. Duck, J. Carardine, A.R. Bragg, M.E.J. Cutler & I. Soutar. 2006. *Development of Technique for Lake Habitat Survey (Phase 2)*. Lake Habitat Survey for the United Kingdom. Field survey guidance manual. Scottish and Northern Ireland Forum for Environmental Research (SNIFFER). WFD Contract 42. Available for download from <http://www.sniffer.org.uk/search.asp>
- Ruse, L. 2002. Chironomid pupal exuviae as indicators of lake status. *Archiv Hydrobiol.*, 153: 367-390.
- Rüttner, F. 1940. *Grundriss der Limnologie*. Gruyler, Berlin: 332 pp.
- Sæther, O.A. 1979. Chironomid communities as water quality indicators. *Holarctic Ecol.*, 2: 65-74.
- Sambugar, B & F. Giacomazzi. 2011. Gli Oligocheti. In: Lencioni, V., B. Rossaro, A. Boggero & L. Marziali (Eds), *I macroinvertebrati lacustri – morfologia, tassonomia, ecologia e biomonitoraggio*. *Quaderni del Museo Tridentino di Scienze Naturali*, 5: in prep.
- Scardi, M., L. Tancioni & C. Martone. 2007. *Protocollo di campionamento e analisi della fauna ittica dei sistemi lotici*. APAT, Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici: 27 pp.
- Sernander, R. 1917. De Nordeuropeiska Hafvens Växtregioner. *Svensk. bot. Tidskr.*, 11: 72-124.
- Shannon, C.E. & W. Weaver. 1948. The mathematical theory of communication. Univ. Illinois Press, Urbana.
- Simpson, E.H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688.

- Southwood, T.R.E. & P.A. Henderson. 2000. *Ecological methods*. Ed. Blackwell Science Ltd., 578 pp.
- Storey, A.W. & L.C.V. Pinder. 1985. Mesh-size and efficiency of sampling of larval Chironomidae. *Hydrobiologia*, 124: 193-197.
- Storey, A.W., D.H.D. Edward & P. Gazey. 1991. Surber and kick sampling: a comparison for the assessment of macroinvertebrate community structure in streams of south-western Australia. *Hydrobiologia*, 211: 111-121.
- Strayer, D.L. & D.R. Smith. 2003. A guide to sampling freshwater mussel populations. *American Fishery Society*, Monograph 8: 103 pp.
- Tartari, G., A. Marchetto & D. Copetti. 2000. *Qualità delle acque lacustri della Lombardia alle soglie del 2000*. Fondazione Lombardia per l'Ambiente, Ricerche e Risultati, 44: 226 pp.
- Thienemann, A. 1925. Die Binnengewässer Mitteleuropas. *Binnengewässer*, 1: 255 pp.
- Thomasson, H. 1925. Methoden zur Untersuchung der Mikrophyten der limneschen Litoral- und Profundalzone. *Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden*, Abt. IX: 681-712.
- Tonolli, V. 1962. Nuovi strumenti per la raccolta e la separazione dei popolamenti bentonici. *Pubbl. staz. Zool. Napoli*, 32: 20-29.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1997. Environmental Monitoring and Assessment Program Surface Waters: Field Operations Manual for Lakes. EPA-620/R/97/001. U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1998. Lake and Reservoir Bioassessment and Biocriteria: Technical Guidance Document. EPA-841/B/98/007. U. S. Environmental Protection Agency Office of Water, Washington D.C.
- Wetzel, W.B.G. 1975. *Limnology*. Saunders Co., Philadelphia: 743 pp.
- Whitehouse, J.W. & B.G. Lewis. 1966. The separation of benthos from stream samples by flotation with carbon tetrachloride. *Limnol. Oceanogr.*, 11: 124-126.
- Wiederholm, T. 1980. Use of benthos in lake monitoring. *Journal Water Pollution Control Federation*, 52: 537-547.
- Zangheri, P. 1981. *Il naturalista: esploratore, raccoglitore, preparatore, imbalsamatore*. Ed. Hoepli: 508 pp.

11) Siti internet consultati

<http://epa.gov/waterscience/cs/library/ch3.pdf>

<http://www.epa.gov/owow/monitoring/tech/chap07.html>

<http://www.icram.org/nav1/strumentazione.htm>

<http://www.eman-rese.ca/eman/ecotools/protocols/freshwater/benthics/fig1abc.html>

<http://www.eman-rese.ca/eman/ecotools/protocols/freshwater/benthics/introduc.html>

<http://lter.limnology.wisc.edu/>

<http://pubs.usgs.gov/of/2000/of00-358/>

<http://www.sniffer.org.uk/Resources/WFD99/>

12) Appendice

Caratteristiche tecniche e prestazioni dei diversi tipi di campionatori (le dimensioni riportate in tabella si riferiscono a dimensioni standard, ma esistono in commercio anche multipli e sottomultipli).

Caratteristiche	Ekman-Birge	Ponar	Petersen	Van Veen	Carotatore a gravità	Carotatore a pistone	Carotatore Jenkin	Rete a slitta	Retino immanicato	Retino zooplancton	Trappole per insetti emergenti
Area utile/Dimensioni (cm)	23 x 23	23 x 23	30 x 30	35 x 70	Ø 6-14	Ø 8-14	Ø 5-6	46x19x35 61x20x35	25 x 25	Ø 25	40
Profondità (cm)	23	15	15	15	fino a 3 m	fino a 20 m	10	/	/	/	/
Volume (cm ³)	13300	7250	9450	18000	/	/	/	/	/	/	/
Peso (dipende dal materiale utilizzato) (Kg)	~ 13	~ 23	~ 35	~ 30	/	/	/	9 - 15	/	/	/
Dimensione maglie (µm)	/	/	/	/	/	/	/	250	250	80-100	250
Vegetazione	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	/	/
Acque poco profonde	SI (con palo)	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	/	/
Acque profonde	SI (con corda)	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	/	/
Substrati molli	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	/	/
Substrati duri	SI *	NO	SI	SI	NO	NO	NO	SI	SI	/	/
Substrati sassosi	NO	uso limitato	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	/	/
Analisi Qualitativa	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Analisi Semi-quantitativa	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO
Analisi Quantitativa	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO
* per particelle < 16 mm											