

Il monitoraggio dei corsi d'acqua con indicatori algali (diatomee)

Francesca CIUTTI

*Istituto Agrario di S. Michele all'Adige, Dipartimento Risorse Naturali e Ambiente,
Unità Operativa Biochimica e Tecnologie Innovative per la Valorizzazione dell'Ambiente,
S. Michele all'Adige (Trento)*

Riassunto. - Le diatomee sono uno dei gruppi di organismi più utilizzati nella valutazione della qualità biologica delle acque correnti in molti paesi europei, con l'applicazione di metodiche standardizzate a livello nazionale. L'analisi della composizione specifica delle comunità di diatomee epilittiche fornisce interessanti indicazioni sulla qualità biologica dei corsi d'acqua, poiché queste alghe mostrano una grande sensibilità nei confronti dei fattori eutrofizzanti e inquinanti. In Italia, con particolare riferimento alla zona centro-appenninica, è stato sviluppato un metodo di indagine (EPI-D - indice di eutrofizzazione/polluzione), basato sulla sensibilità delle diatomee nei confronti della sostanza organica, dei sali nutritivi e della mineralizzazione dell'acqua, più specificatamente dei cloruri. Vengono descritte le modalità di applicazione dell'EPI-D e le prospettive di diffusione e standardizzazione del metodo in Italia.

Parole chiave: diatomee epilittiche, EPI-D, indice diatomoico, monitoraggio dei corsi d'acqua.

Summary (*Use of diatoms for monitoring rivers*). - Diatoms are widely used for monitoring rivers in many European countries, where standard methods are applied. The study of specific composition of epilithic diatoms can give useful information on biological quality of rivers. In Italy a method (EPI-D eutrophication pollution index with diatoms) has been developed for Appennine watercourses, based on sensibility of diatoms towards organic pollution, mineralization of water and chloride. Sampling protocols for epilithic diatoms and determination of EPI-D are described, together with application perspectives in Italy.

Key words: epilithic diatoms, EPI-D, diatom index, river monitoring.

Le diatomee

Le diatomee (*Bacillariophyceae*) sono alghe unicellulari che comprendono specie le cui cellule sono riunite in colonie e altre in cui sono solitarie. Esse possiedono una particolare parete cellulare con depositi di silice che formano un guscio, il frustulo, caratterizzato dalla presenza di sculture dal grande valore sistematico. Il frustulo è formato da due valve (ipoteca ed epiteca). Ogni teca possiede una faccia valvare, sulla quale si trovano le sculture, ed una faccia commesurale che invece ne è priva. Al centro della teca è presente una fessura detta rafe, che si estende tra due nodi terminali.

Nei corsi d'acqua le diatomee vanno a costituire, assieme ad un'ampia varietà di organismi (batteri, funghi, protozoi ed organismi fotosintetici tra cui cianobatteri, alghe verdi e brune comprese nelle *Chrysophyta*, *Chlorophyta*, *Rhodophyta*, *Bryophytes*) la comunità del *periphyton*.

Nei corsi d'acqua le diatomee possono vivere adese a substrati duri (diatomee epilittiche), su macrofite (diatomee epifittiche) o sul sedimento (diatomee epipelliche).

Le diatomee come indicatori di qualità

Il monitoraggio tramite diatomee per la sorveglianza ecologica dei corsi d'acqua è in molti paesi europei una realtà consolidata [1-3]. Le diatomee sono considerate buoni indicatori in quanto comprendono un elevato numero di specie a differente valenza ecologica e differente sensibilità sia nei confronti dell'inquinamento di tipo organico che delle variazioni di salinità, con particolare riguardo al cloro ed all'eutrofizzazione. Oltre a ciò essendo caratterizzate da tassi di riproduzione piuttosto veloci e cicli vitali brevi, sono considerate buoni indicatori di impatti a breve termine.

L'analisi della composizione specifica e della diversità delle comunità di diatomee fornisce utili indicazioni sulla qualità biologica dei corsi d'acqua in cui esse vivono. Lo studio della componente algale dei corsi d'acqua, analizzando la produzione primaria autoctona, risulta un elemento fondamentale in quanto permette di valutare l'influenza diretta sulle comunità fluviali dei fattori eutrofizzanti e inquinanti. I risultati di tale indagine forniscono informazioni peculiari, che vanno ad integrare il giudizio di qualità risultante dall'analisi della componente dei macroinvertebrati.

L'indice di eutrofizzazione/polluzione (EPI/D)

In Italia, con particolare riferimento alla zona centro-appenninica, è stato sviluppato un metodo di indagine che prevede l'utilizzo dell'indice di eutrofizzazione/polluzione o EPI-D, che si basa sulla sensibilità delle diatomee nei confronti della sostanza organica, dei sali nutritivi e della mineralizzazione dell'acqua, con particolare riferimento ai cloruri. L'indice diatamico è in grado di integrare l'influenza dell'inquinamento organico biodegradabile e il grado di trofia, che rappresentano due dei principali fattori di degrado dei corsi d'acqua [4]. L'EPI-D è stato definito sulla base di analisi effettuate sul fiume Chienti, corso d'acqua appenninico. Ad ognuna delle specie di diatomee considerate è stato attribuito un indice di sensibilità specifico (Epi), che integra aspetti saprobici, trofici ed alobici.

Il campionamento delle diatomee epilittiche viene effettuato attraverso la raccolta di 4 o 5 massi o ciottoli nella zona centrale dell'alveo, avendo cura di escludere le zone in cui la corrente lenta (pozze laterali o lanche) potrebbe favorire il proliferare di alghe filamentose, che costituiscono il substrato preferenziale delle alghe epilitiche. I ciottoli vengono ripuliti con l'ausilio di uno spazzolino e lavati con acqua [5]. Il campione raccolto può essere immediatamente preparato in laboratorio; è comunque possibile aggiungere liquido conservante (soluzione di formalina).

Il campione fresco viene trattato in laboratorio fino alla completa ossidazione della sostanza organica presente, attraverso l'aggiunta di agenti ossidanti. Il campione eventualmente conservato con formalina va più volte risciacquato con acqua distillata e centrifugato prima di procedere all'ossidazione. L'elenco delle attrezzature da laboratorio ed i reagenti necessari per lo studio delle diatomee epilittiche è riportato in Tab. 1.

Uno dei metodi più utilizzati per la preparazione dei campioni prevede l'aggiunta di perossido di idrogeno (130 vol) a freddo e il proseguimento del processo di ossidazione a caldo con bicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$) tramite riscaldamento su piastra. L'aggiunta al termine del processo di acido cloridrico (HCl) può essere utile al fine di favorire il deposito di carbonati eventualmente presenti. Il campione, ridotto ad una quantità di circa 10 cc tramite bollitura, viene quindi centrifugato per eliminare l'acido cloridrico residuo. In alternativa a tale metodo, può essere utilizzato esclusivamente il perossido di idrogeno, inizialmente con procedimento a freddo ed in seguito accelerando la reazione a caldo su piastra. Al termine del processo si ottiene pertanto un preparato contenente i frustuli ossidati delle diatomee. Ulteriori centrifugazioni del preparato possono essere effettuate per eliminare l'eventuale deposito di materiale inerte presente sul fondo. Per ogni campione, opportunamente diluito, viene montato un vetrino permanente, con l'utilizzo di vetrini coprioggetto di forma rotonda e di resina ad alto potere di rifrazione (Naphrax).

L'osservazione al microscopio viene effettuata a 1000 ingrandimenti. La determinazione tassonomica viene effettuata fino al livello di specie con l'impiego di chiavi dicotomiche. L'utilizzo di un analizzatore di immagine collegato al microscopio (od in alternativa, la possibilità di effettuare microfotografie) risulta essere utile al fine di documentare le specie di cui è non certa la determinazione sistematica.

I testi di riferimento per la determinazione sistematica sono i volumi della collana Süßwasserflora von Mitteleuropa, che riportano un'ampia serie di immagini al microscopio ottico ed elettronico delle specie di diatomee considerate [6].

Ad ogni specie osservata nel conteggio del campione viene assegnato un valore di abbondanza relativa, utilizzando valori compresi tra 1 (specie presente) e 5 (specie dominante).

Il calcolo dell'indice EPI-D viene effettuato tramite l'uso della formula di Zelinca e Marvan [7] secondo il metodo proposto da Dell'Uomo [4]:

$$EPI-D = \sum a_j \times r_j \times i_j / \sum a_j \times r_j$$

dove:

a_j = abbondanza relativa della singola specie (valori da 1 a 5);

i_j = esprime la sensibilità globale della specie j ai sali nutritivi, alla materia organica in soluzione e alla mineralizzazione dell'acqua, in particolare ai cloruri (valori utilizzati: interi o decimali compresi tra 0 e 4);

r_j = affidabilità della singola specie (valori utilizzati: 5, 3, 1 nel senso di un'affidabilità decrescente).

I valori finali di EPI-D risultano essere dei numeri compresi tra 0 e 4. I valori sono raggruppati in 8 intervalli, ad ognuno dei quali corrisponde un giudizio di qualità (Tab. 2).

In linea generale l'analisi delle diatomee epilittiche va effettuata almeno in due periodi dell'anno, corrispondenti al regime idrologico di magra e di morbida. Per studi più specifici la frequenza dei campionamenti può essere aumentata.

Stato dell'arte in Italia

La metodica di definizione della qualità biologica basata sullo studio delle diatomee epilittiche è stata sviluppata sulla base di studi effettuati in corsi d'acqua della zona dell'Appennino centrale [4, 8-13].

Fino al 1999 applicato prevalentemente in ambito appenninico, l'EPI-D ha avuto maggior diffusione a seguito del corso di formazione "Biomonitoraggio delle acque correnti mediante impiego di indicatori algali". Il corso, organizzato nel settembre 1999 a S. Michele all'Adige dall'Istituto Agrario di S. Michele all'Adige, dall'Agenzia Provinciale per l'Ambiente di Trento e dall'Agenzia Nazionale per la Protezione

Tabella 1. - Materiale necessario per lo studio delle diatomee

Campionamento	Laboratorio	Microscopia	Calcolo dell'EPI-D
Spazzolino	Cappa chimica Centrifuga	Microscopio ottico	Archivio o database
Vaschetta	Piastra termostata	Obiettivo 100 x ad immersione	Foglio elettronico per il calcolo dell'EPI-D
Contenitori	Beaker, reagenti, vetrini portaoggetto e coprioggetto	Camera lucida o analizzatore di immagini	
Conservante (formalina)	Resina Naphrax	Testi per determinazione tassonomica	

Tabella 2. - Intervalli di valori di EPI-D e relativo giudizio di qualità

Valori dell'indice	Giudizio di qualità
0,0 < EPI-D ≤ 1,0	Qualità eccellente
1,0 < EPI-D ≤ 1,5	Qualità buona
1,5 < EPI-D ≤ 1,8	Qualità abbastanza buona
1,8 < EPI-D ≤ 2,0	Inquinamento leggero
2,0 < EPI-D ≤ 2,2	Inquinamento moderato
2,2 < EPI-D ≤ 2,5	Inquinamento forte
2,5 < EPI-D ≤ 3,0	Inquinamento molto forte
3,0 < EPI-D ≤ 4,0	Ambiente completamente degradato

dell'Ambiente in collaborazione con il Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale, aveva lo scopo di preparare operatori provenienti da tutta Italia sull'applicazione del metodo EPI-D. I partecipanti hanno avuto la possibilità di effettuare i campionamenti, di preparare i vetrini permanenti in laboratorio e di apprendere i principi relativi alla determinazione tassonomica delle specie in microscopia. Al termine del corso è stato effettuato il calcolo del valore di EPI-D e la corrispondenza al relativo giudizio di qualità delle stazioni oggetto di indagine. A seguito del corso è iniziata l'applicazione della metodica in ambiti territoriali differenti da quello appenninico, come ad esempio i corsi d'acqua dell'ecoregione alpina [14, 15].

Diatomee ed indici in Europa

A tutt'oggi, non esiste un vero e proprio uso routinario di indici diatomici a scala nazionale, ad eccezione del metodo Lange-Bertalot in Austria. Comunque in Francia e Gran Bretagna gli indici sono applicati su larga scala. In Francia l'IBD (*indice biologique diatomées*) [16] è diffusamente applicato nei principali bacini. Nello stesso

tempo sono state predisposte delle strutture in grado di assistere nella fase di determinazione e sono stati sviluppati strumenti pratici per aiutare gli enti preposti al monitoraggio biologico, che dovrebbero progressivamente introdurre l'applicazione routinaria dell'IBD. Una evoluzione simile ha avuto in Gran Bretagna il *trophic diatom index* (TDI) [17], che diventerà la forma corrente di sorveglianza da parte dei biologi della Environmental Protection Agency in molte parti del paese.

L'interesse relativo all'utilizzo delle diatomee e delle alghe in genere per lo studio dei corsi d'acqua in Europa è testimoniato da una serie di appuntamenti internazionali che si sono svolti proprio con l'obiettivo di stabilire lo stato relativo allo sviluppo di indicatori algali. I tre convegni principali hanno prodotto degli atti che documentano il lavoro effettuato in molti paesi europei per la definizione di indici che siano adatti alle differenti aree considerate [1-3].

La Francia ha compiuto numerosi sforzi per rendere i metodi basati sulle diatomee applicabili su larga scala. Con lo sviluppo del metodo IBD è stato prodotto un manuale di applicazione del metodo che riporta, fra le altre cose, una iconografia delle specie di facile ed immediata consultazione, disponibile anche su CD-Rom (allegato al manuale). Oltre a ciò sempre in Francia è stato sviluppato, da CEMAGREF e da Agence de l'Eau Artois-Picardie, il software OMNIDIA che costituisce soprattutto un utile database per l'archiviazione dei risultati delle analisi ma che permette anche il calcolo automatico di numerosi indici diatomici europei (compreso l'EPI-D) e contiene, per le specie di diatomee, importanti informazioni relative all'autoecologia delle stesse [18-20].

Evoluzione del metodo EPI-D e prospettive

In generale un'ampia applicazione degli indici diatomici in Italia trova numerosi ostacoli, principalmente riferibili all'assenza di metodologie standardizzate, alla

manca di manuali di determinazione che risultino accessibili ai biologi addetti alla sorveglianza ecologica dei corsi d'acqua ed all'assenza di strumenti informatici specifici in grado di calcolare gli indici e archiviare i risultati.

In Italia, in particolare, a seguito del corso organizzato a S. Michele, i ricercatori dell'Istituto Agrario hanno iniziato ad applicare la metodica su corsi d'acqua di tipologia alpina. I primi risultati delle indagini hanno già portato alla modifica dei valori di "i" ed "r" di alcune specie; oltre a ciò, la compilazione di elenchi floristici per i corsi d'acqua dell'ecoregione alpina ha consentito di aggiornare l'elenco delle specie presenti in Italia. È in fase di verifica la possibilità di adeguare la stima dell'abbondanza relativa ai metodi correntemente utilizzati in Europa, attraverso il conteggio di 400 valve per ogni campione analizzato anziché utilizzare la stima qualitativa (abbondanza da 1 a 5), al fine di ottenere un dato di campo confrontabile con altre realtà.

Al fine di una applicazione diffusa su tutto il territorio nazionale degli indici diatomici le azioni da svolgere sono ancora molte. È indispensabile uno studio a livello nazionale delle comunità delle diatomee dei corsi d'acqua nelle due ecoregioni (mediterranea e alpina) e nei differenti tipi di corsi d'acqua, al fine di acquisire informazioni sull'autoecologia delle specie presenti in Italia. La costituzione di un database nazionale potrà consentire di standardizzare la metodica EPI-D. L'acquisizione del dato attraverso il conteggio, che viene già svolta in numerosi paesi europei e che è riportata anche in norme standard europee in fase di definizione, consentirà inoltre di disporre di dati comparabili con altri indici europei.

Oltre a ciò, si ritiene di sottolineare la necessità di operare una codifica dei giudizi di qualità secondo le 5 classi standard, trasferibili in una mappa di qualità con i 5 colori corrispondenti

In conclusione, la definizione di un protocollo di indagine e la ripresa dei corsi di formazione, con l'istituzione di un punto di riferimento permanente per gli operatori, come già effettuato in Francia, potrebbe essere indubbiamente lo strumento per la diffusione e l'ampia applicazione del metodo EPI-D in Italia.

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 3 ottobre 2005.

BIBLIOGRAFIA

- Whitton BA, Rott E, Friedrich G (Ed.) *Proceedings of International Symposium. Use of algae for monitoring rivers*. Düsseldorf, Germany 26-28 May 1991. Institut für Botanik, Universität Innsbruck; 1991.
- Whitton BA, Rott E (Ed.). *Proceedings of International Symposium. Use of algae for monitoring rivers II*. Innsbruck, Austria 17-19 September 1995. Institut für Botanik, Universität Innsbruck; 1996.
- Prygiel J, Whitton BA, Bukowska J. (Ed.). *Proceedings of International Symposium: Use of algae for monitoring rivers III*. Douai, France, 29 September-1 October 1997. Douai, France: Agence de l'Eau Artois-Picardie; 1999.
- Dell'Uomo A, Pensieri A, Corradetti D. Diatomées épilithiques du fleuve Esino (Italie centrale) et leur utilisation pour l'évaluation de la qualité biologique de l'eau. *Cryptogamie Algol* 1999;20(3):253-69.
- Kelly MG, Cazaubon A, Coring E, Dell'Uomo A, Ector L, Goldsmith B, Guasch H, Hürlimann J, Jarlman A, Kawecka B, Kwadrans J, Laugaste R, Lindstrøm EA, Leitao M, Marvan P, Padisák J, Pipp E, Prygiel J, Rott E, Sabater S, van Dam H, Vizinnet J. Recommendations for routine sampling of diatoms for water quality assessment in Europe. *J Appl Phycol* 1998;10:215-24.
- Krammer K, Lange-Bertalot H. Süßwasserflora von Mitteleuropa. In: Ettl H, Gerloff J, Heynig H, Mollenhauer D. (Ed.): *Bacillariophyceae. Naviculaceae. 2/1; Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. 2/2; Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. 2/3; Achnathaceae, 2/4*. (English and French translation of the keys 2/5). Stuttgart, New York: Fisher Verlag: 1986-1991.
- Zelinka M, Marvan P. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Arch Hydrobiol* 1961;57:389-407.
- Dell'Uomo A. Assessment of water quality of an Apennine river as a pilot study for Diatom-based monitoring of Italian watercourses. In: Whitton BA, Rott E (Ed.). *Proceedings of International Symposium. Use of algae for monitoring rivers II*. Innsbruck, Austria 17-19 September 1995. E. Rott, Institut für Botanik, Universität Innsbruck. 1996. p. 65-72.
- Dell'Uomo A, Tantucci C. Impiego delle Diatomee nel monitoraggio biologico del fiume Musone (Marche). In: *Atti del VII Congresso della Società Italiana di Ecologia*. Napoli, 11-14 settembre 1996. Parma: S.It. E; 1996. (Atti S.It.E. 1996, p. 499-502).
- Grandoni P, Dell'Uomo A. Biomonitoraggio dell'alto corso del fiume Potenza (Marche) mediante impiego di Diatomee. *Riv Idrobiol* 1996;35:71-85.
- Dell'Uomo A, Grandoni P. Diatomee e qualità dell'acqua: biomonitoraggio del Fiume Sentino (Bacino del Fiume Esino, Marche). In: *Atti del VIII Congresso della Società Italiana di Ecologia*. Parma, 10-12 settembre 1997. Parma: S.It. E; 1997. (Atti S.It.E. 1997, p. 445-8).
- Dell'Uomo A. Use of algae for monitoring rivers in Italy: current situation and perspectives. In: Prygiel J, Whitton BA, Bukowska J. (Ed). *Proceedings of International Symposium. Use of algae for monitoring rivers III*". Douai, France, 29 September-1 October 1997. Douai, France: Agence de l'Eau Artois-Picardie; 1999. p. 17-25.
- Torrizi M, Dell'Uomo A. Les diatomées benthiques des parties rhithrales et potamales des cours d'eau de l'Apennin central (Italie) et leurs significations écologique. *Algological Studies* 2001;102:35-47.
- Ciutti F, Cappelletti C, Monauni C, Siligardi M, Dell'Uomo A. Qualità biologica e funzionalità del torrente Fersina (Trentino). *Dendronatura* 2000;20(2):12-22.
- Cappelletti C, Ciutti F, Torrizi M. Diatomee epilithiche e qualità biologica del torrente Noce (Trentino). In: Baldaccini GN, Sansoni G (Ed.). *Atti del seminario di studi "I nuovi orizzonti dell'ecologia"*. Trento, 18-19 aprile 2002. Reggio Emilia: Ed. CISBA; 2003. p. 177-81.

16. Lenoir A, Coste M. Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the French Water Board network. In: Whitton BA, Rott E (Ed.). *Proceedings of International Symposium. Use of algae for monitoring rivers II*. Innsbruck, Austria 17-19 September 1995. Institut für Botanik, Universität Innsbruck; 1996. p. 29-45.
17. Kelly MG, Whitton BA. The trophic diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *J Appl Phycol* 1995;7: 433-44.
18. Van Dam H, Mertens A, Sinkeldam J. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherland. *Netherlands J Aquat Ecol* 1994;28:117-33.
19. Lange-Bertalot H. Pollution tolerance of diatoms as a criterion for water quality estimation. *Nova Hedwigia* 1979;64:285-304.
20. Hofmann G. *Aufwuchs-Diatomeen in Seen und ihre Eignung als Indikatoren der Trophie*. *Bibliotheca Diatomologica*. Berlin-Stuttgart: J. Cramer; 1994.