

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO**



**DIPARTIMENTO DI ECOLOGIA E SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE**

**DECOS**

**Le Diatomee come indicatori degli ecosistemi acquatici di transizione**

**CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA**

***ECOLOGIA E GESTIONE DELLE RISORSE BIOLOGICHE  
XXIII CICLO***

**s.s.d. BIO/07**

**Coordinatore:** Dott.ssa Roberta Cimmaruta

**Tutor:** Dott. ssa Laura Mancini

**Dottoranda:** Camilla Puccinelli

---

## Indice

|                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 Introduzione .....</b>                                                  | <b>4</b>  |
| 1.1 Scopo della tesi.....                                                    | 4         |
| 1.2 Acque di transizione .....                                               | 5         |
| 1.3 Normativa per la tutela degli ecosistemi acquatici di transizione .....  | 7         |
| 1.3.1 La Direttiva 2000/60/CE .....                                          | 7         |
| 1.4 Le Diatomee .....                                                        | 10        |
| 1.4.1 Biologia .....                                                         | 10        |
| 1.4.2 Sistematica .....                                                      | 12        |
| 1.4.3 Ecologia .....                                                         | 14        |
| 1.4.4 Diatomee e rischio per la salute umana .....                           | 15        |
| <b>2. Area di studio .....</b>                                               | <b>18</b> |
| 2.1 Fiumi .....                                                              | 18        |
| 2.1.1 Rio Santa Croce .....                                                  | 19        |
| 2.1.2 Fosso del Cavallo morto .....                                          | 20        |
| 2.1.4 Fosso dell’Incastro .....                                              | 21        |
| 2.1.5 Fosso di Pratica di Mare .....                                         | 22        |
| 2.1.6 Fosso del Pantanello .....                                             | 22        |
| 2.1.7 Fiume Arrone .....                                                     | 23        |
| 2.1.8 Rio Fiume .....                                                        | 24        |
| 2.1.9 Fiume Mignone .....                                                    | 24        |
| 2.1.10 Fiume Marta.....                                                      | 25        |
| 2.1.11 Torrente Arrone.....                                                  | 26        |
| 2.1.12 Fiumi dell’Isola D’Elba .....                                         | 26        |
| 2.2 Canali .....                                                             | 29        |
| 2.2.1 Canale di Torre S Anastasia.....                                       | 29        |
| 2.2.2 Fiume Sisto .....                                                      | 30        |
| 2.2.3 Rio Martino .....                                                      | 31        |
| 2.2.4 Canale delle Acque Alte .....                                          | 31        |
| 2.2.5 Collettore delle Acque Alte .....                                      | 32        |
| 2.3. Laghi costieri .....                                                    | 33        |
| 2.3.1 Lago Lungo.....                                                        | 33        |
| 2.3.2 I laghi costieri del Parco Nazionale.....                              | 34        |
| 2.3.3 Laguna di Orbetello.....                                               | 37        |
| <b>3. Materiali e Metodi .....</b>                                           | <b>40</b> |
| 3.1 Analisi della comunita’ diatomica .....                                  | 40        |
| 3.1.1 Substrato .....                                                        | 40        |
| 3.1.2 Campionamento .....                                                    | 40        |
| 3.1.3 Ossidazione del Campione .....                                         | 41        |
| 3.1.4 Determinazione sistematica .....                                       | 43        |
| 3.2 Parametri Ambientali .....                                               | 43        |
| 3.2.1 Analisi chimico-fisiche in situ .....                                  | 43        |
| 3.2.2 Analisi chimiche .....                                                 | 43        |
| 3.3 Test di valutazione della tossicità .....                                | 46        |
| 3.3.1. Microtox .....                                                        | 46        |
| 3.3.2 Cromatografia liquida associata a Spettrometria di Massa (LC-MS) ..... | 46        |
| 3.4 Analisi dei dati.....                                                    | 49        |

---

|                                                                              |            |
|------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.4.1 Analisi delle componenti principali .....                              | 49         |
| 3.4.2 Analisi della Correlazione Canonica .....                              | 49         |
| 3.4.3 Classificazione o “Cluster Analysis” .....                             | 50         |
| 3.4.4 Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS).....                        | 50         |
| <b>4. Risultati.....</b>                                                     | <b>51</b>  |
| 4.1 Comunità diatomiche .....                                                | 51         |
| 4.1.1 Fiumi .....                                                            | 53         |
| 4.1.2 Canali.....                                                            | 55         |
| 4.1.3 Laghi Costieri.....                                                    | 56         |
| 4.2 Parametri Ambientali .....                                               | 58         |
| 4.3 Diatomee potenzialmente tossiche .....                                   | 65         |
| 4.3.1 Identificazione.....                                                   | 65         |
| 4.3.2 Isolamento.....                                                        | 66         |
| 4.3.3 Protocollo per l’isolamento di una specie da campione ambientale ..... | 67         |
| 4.3.4 Caratterizzazione strumentale .....                                    | 70         |
| 4.3.5 Caratterizzazione tossicologica.....                                   | 73         |
| <b>5. Discussioni .....</b>                                                  | <b>76</b>  |
| <b>6. Conclusioni .....</b>                                                  | <b>81</b>  |
| <b>Bibliografia .....</b>                                                    | <b>83</b>  |
| <b>Ringraziamenti .....</b>                                                  | <b>94</b>  |
| <b>Appendice 1 .....</b>                                                     | <b>96</b>  |
| <b>Appendice 2 .....</b>                                                     | <b>105</b> |

---

# 1 Introduzione

## 1.1 Scopo della tesi

Le diatomee che colonizzano gli ecosistemi acquatici di transizione della costa Tirrenica sono stato oggetto di studio e sperimentazione di questa tesi di Dottorato.

Sono alghe unicellulari, presenti in tutti gli ambienti acquatici e, per le loro caratteristiche di bioindicatori, sono uno degli elementi biologici richiesti dalla Direttiva 2000/60/CE (Unione Europea, 2000) per la valutazione dello stato ecologico di tutti i corpi idrici.

Tra i corpi idrici della Direttiva 2000/60/CE, sono riportate le acque di transizione, ambienti salmastri che caratterizzano le coste del Mediterraneo e che hanno da sempre costituito una preziosa risorsa per le popolazioni locali. Nonostante questi ecosistemi siano molto diffusi, la scarsità di conoscenze che li caratterizza ha finora inciso negativamente sulla conservazione, la gestione e gli interventi di ripristino.

Gli ambienti di transizione sono popolati da specie tipiche degli ecosistemi di acqua dolce e marine e soprattutto da specie che solo in questi trovano il loro habitat ottimale.

*Primo obbiettivo di questa tesi è stato quello di ampliare le conoscenze della componente floristica, attraverso lo studio delle comunità diatomiche.*

Lo stato di arricchimento di nutrienti di origine naturale dovuto all'idrodinamismo e alla sedimentazione peculiare degli ambienti di transizione, rendono inadatte le metodologie, gli indicatori ed indici sviluppati per fiumi, laghi o acque costiere per la valutazione del loro stato ambientale (Viaroli *et al.*, 2004).

*Secondo obbiettivo è stato quello di mettere a punto metodologie di analisi per queste comunità e valutare la loro impiego come indicatori biologici (Kelly *et al.*, 2006; Prygiel & Coste, 1999), attraverso le loro relazioni e sensibilità nei confronti dei parametri ambientali propri di questi ecosistemi.*

Oltre all'aspetto di valutazione dello stato di qualità ambientale, lo studio delle diatomee e dei principali fattori che influenzano la loro crescita in acque salmastre, è legato alla capacità di alcuni generi di produrre tossine in determinate condizioni ambientali (Luhdholm *et al.*, 2004; Zingone *et al.*, 2005).

---

*Terzo obbiettivo di questa tesi è stato quello di determinare la presenza di queste specie potenzialmente patogene nei siti oggetto di studio.*

## **1.2 Acque di transizione**

Gli ecosistemi di transizione possono essere definiti come “paludi, acquitrini, torbiere, bacini naturali o artificiali con acqua stagnante o corrente, salmastra” (IUCN, 1971).

Si formano nelle zone costiere, in particolare nei tratti terminali dei fiumi, che trasportano l’acqua proveniente dal drenaggio continentale, dove le acque dolci si incontrano con le acque marine (Tomasino, 1995).

Il flusso continuo proveniente dai corsi d’acqua e la scarsa corrente permettono la sedimentazione del materiale detritico organico ed inorganico rendendo questi ecosistemi altamente produttivi, attorno ai quali gravitano numerose attività antropiche. L’alta densità di popolazione e la crescente domanda per l’uso delle risorse idriche è aumentata negli ultimi decenni ed ha reso ancora più critiche le condizioni ecologiche di questi ambienti. Le maggiori pressioni si originano dagli ecosistemi circostanti: da una parte l’inquinamento derivante dalle acque interne, principalmente dovuto alle attività industriali ed agricole, dall’altra il crescente livello del mare che rischia di fare scomparire questi ambienti (Scapini *et al.*, 2009, Defeo *et al.*, 2009).

Dall’emanazione della Direttiva 2000/60/CE, le acque di transizione, ecosistemi trascurati e sottovalutati fino a poco prima, sono diventati oggetto di interesse da parte della comunità scientifica ed istituzionale, essendo identificate come uno dei corpi idrici da tutelare e salvaguardare (Art. 1, Direttiva 2000/60/CE). Le acque di transizione sono definite: come “corpi idrici superficiali in prossimità della foce di un fiume, che sono parzialmente di natura salina a causa della loro vicinanza alle acque costiere, ma sostanzialmente influenzati dai flussi di acqua dolce”(Art. 2, Direttiva 2000/60/CE).

In questa definizione, vengono dunque compresi tutti gli ambienti di acque salmastra: l’elevata eterogeneità di questi ambienti ha sempre costituito un problema per una loro individuazione univoca e per gli interventi di tutela e salvaguardia (McLusky & Elliott, 2007; Ferreira *et al.*, 2006; Tagliapietra *et al.*, 2006; Bricker, 2003). Nell’area geografica mediterranea questi ecosistemi sono stati distinti in acque correnti di transizione come gli estuari, e acque lentiche di transizione come laghi costieri e lagune (Basset *et al.*, 2006).

Per la loro descrizione sono stati presi in considerazione parametri ambientali che influenzano lo sviluppo delle comunità biologiche: l’escursione di marea, la salinità, la profondità, la

---

superficie e la granulometria del substrato (Barron *et al.*, 2002; Munari *et al.*, 2003; Ayadi *et al.*; 2004).

Le acque correnti di transizione possono essere definite come tratti potamali dei fiumi, che formano una zona di transizione dove le acque fluviali si mescolano con quelle marine e sono sottoposti all'influenza delle maree (Knox, 1986). Sono classificati in base alla distribuzione della salinità e alla circolazione interna; tali fattori variano in conseguenza della portata dei fiumi e delle maree e si possono così distinguere in tre categorie:

- gli estuari di tipo A non sono stratificati, infatti il mescolamento è completo e interessa l'intera colonna d'acqua. La salinità diminuisce man mano che ci si allontana dalla foce. A tale tipologia appartengono: zone ad alta escursione di marea, come l'Oceano Atlantico, l'Inghilterra e il Canada, estuari di sbarramento e quelli lungo le coste dove non sfociano grandi fiumi.
- gli estuari di tipo B sono invece parzialmente stratificati con la massa di acqua meno densa che resta in superficie e quella più densa, ricca di sali proveniente dal mare, in profondità.
- gli estuari di tipo C sono completamente stratificati. In superficie si trova la massa di acqua dolce proveniente dai fiumi e in profondità quella salata; tale fenomeno si verifica nei tratti finali di grandi fiumi, come ad esempio il Pò quando il flusso di acqua dolce è maggiore di quello delle maree.

Gli ecosistemi di transizione di tipo lentico comprendono lagune e laghi costieri e si distribuiscono sul territorio Italiano concentrandosi in termini di numero nella parte meridionale del territorio nazionale (il 75% dei corpi d'acqua censiti è distribuito lungo le coste di Sardegna, Sicilia e Puglia) e in termini di superficie prevalentemente nelle regioni settentrionali, dove sono collocati i sistemi lagunari italiani più importanti (Basset *et al.*, 2004).

- La laguna è un bacino costiero dominato dalle maree, separato dal mare da un cordone litorale (insieme di lidi), ma comunicante con esso attraverso bocche (foci). Le “vere” lagune italiane si trovano solo nell'Alto Adriatico (Lagune di Venezia, Grado, Marano) dove si verificano escursioni di marea accentuate di 110-120 cm (Brambati, 1998).
- Il lago costiero è un bacino non dominato dalle maree, separato dal mare da un cordone litorale (freccia litorale, tombolo) e comunicante con esso mediante varchi. Nel Mediterraneo, per la scarsa forza delle maree, si sono formati prevalentemente laghi costieri e l'Italia ne è particolarmente ricca: Valli di Comacchio in Emilia

---

Romagna, Lesina e Varano in Puglia, Orbetello, Diaccia Botrona, Burano in Toscana, Lago di Sabaudia, di Fogliano, di Caprolace dei Monaci, Lago Lungo e Lago di Fondi nel Lazio (Brambati, 1998).

### **1.3 Normativa per la tutela degli ecosistemi acquatici di transizione**

L'importanza degli ambienti di transizione è stata riconosciuta a livello internazionale nel 1971 con la Convenzione sulle Zone Umide di Ramsar; la loro valenza non è solo di carattere faunistico e floristico ma anche di carattere economico, sia per la presenza di impianti di acquacoltura ad essi associati, sia per la loro naturale funzione di luoghi adatta alla riproduzione di specie ittiche.

La Convenzione di Ramsar è stato il primo vero trattato intergovernativo con scopo globale, nella sua accezione più moderna, riguardante la conservazione e la gestione degli ecosistemi naturali. Se la confrontiamo con le più moderne convenzioni, come ad esempio la Convenzione sulla Diversità Biologica, (UNCCD/CBD, 2004) le indicazioni di Ramsar sono molto precise ma spesso di limitato impatto in quanto si riferiscono a siti specifici.

Questa convenzione resa esecutiva dall'Italia col DPR n. 448 del 13 marzo 1976 (Italia, 1976) e con il successivo DPR n. 184 dell'11 febbraio 1987 (Italia, 1987), ha portato all'individuazione di 51 zone umide, tra cui quelle salmastre per un totale di 60.052 ettari. Dopo la convenzione di Ramsar, nel 1992 la Direttiva Habitat 92/43/CEE (Unione Europea, 1992) ha riconosciuto negli ambienti acquatici di transizione habitat naturali e seminaturali per la conservazione della flora e della fauna.

#### **1.3.1 La Direttiva 2000/60/CE**

La Direttiva Europea 2000/60/CE (Unione Europea, 2000) rappresenta il più importante e recente atto legislativo comunitario sulla tutela degli ambienti acquatici, istituendo un quadro per la protezione delle acque superficiali e sotterranee con lo scopo di mantenere e migliorare l'ambiente acquatico all'interno della Comunità Europea. Tale normativa non prevede più la conservazione degli ecosistemi, attraverso l'istituzione di aree protette, esclusivamente in funzione della protezione di specie faunistiche e floristiche ma ha come finalità quelle di

---

prevenire il deterioramento, proteggere e migliorare lo stato degli ecosistemi acquatici, e delle zone umide associate, promuovendo un utilizzo sostenibile dell'acqua basato sulla protezione a lungo termine delle risorse idriche disponibili.

Il suo principale aspetto innovativo è il ruolo centrale degli elementi biologici nella valutazione dello stato ecologico attraverso le analisi delle comunità biotiche a diversi livelli trofici. In particolare sono richiesti lo studio del fitobenthos e macrofite, produttori primari, e i diversi livelli di consumatori, macroinvertebrati e pesci.

L'obiettivo principale della Direttiva è il raggiungimento di un "buono stato ecologico" per tutti i corpi idrici considerati significativi entro il 2015.

Lo stato ecologico dei corpi idrici superficiali è l'espressione della complessità degli ecosistemi acquatici, della natura fisica e chimica delle acque e dei sedimenti, delle caratteristiche del flusso idrico e della struttura fisica del corpo idrico, considerando comunque prioritario lo stato degli elementi biotici dell'ecosistema: questo dovrà essere valutato per tutti gli elementi biologici; dovranno quindi essere definiti i suoi livelli di qualità ottima, buona e sufficiente.

Lo stato ecologico vuole dunque essere la misura degli effetti dell'attività antropica sugli ecosistemi acquatici: gli elementi di qualità biologica sono gli aspetti tipici di un ecosistema acquatico che possono essere valutati attraverso la struttura (composizione e abbondanza) delle loro comunità.

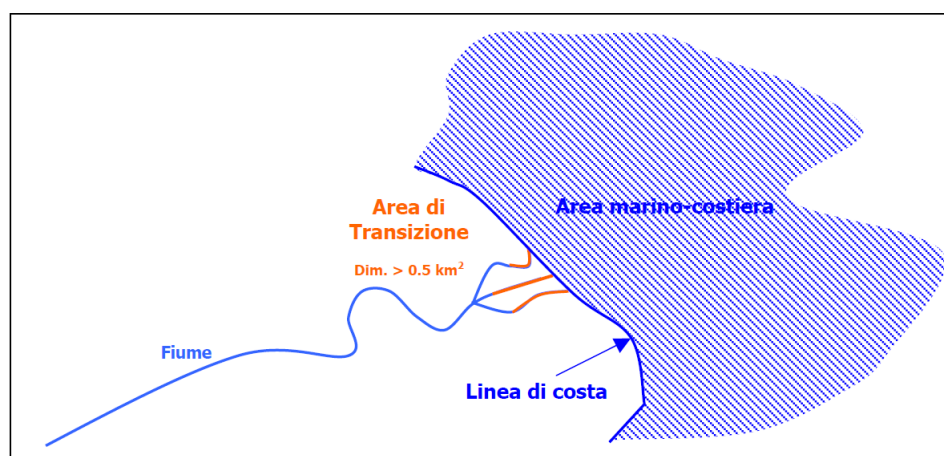
Durante le attività di implementazione ed attuazione della Direttiva, le acque di transizione sono state caratterizzate in base a parametri come: escursione di marea, salinità, profondità, velocità della corrente, esposizione alle onde, tempo di residenza, temperatura media dell'acqua, caratteristiche di mescolamento, torbidità, composizione media del substrato, configurazione, intervallo delle temperature dell'acqua.

A livello nazionale la Direttiva è stata recepita parzialmente attraverso l'emanazione del Decreto Legislativo 152/06 recante "Norme in materie ambientali" (Italia, 2006) e dai successivi decreti: Decreto Ministeriale n.131 dell'11/08/2008 "Metodologie per l'individuazione dei Tipi Fluviali (Italia, 2008) e il Decreto Ministeriale 56/09 Criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici e l'identificazione delle condizioni di riferimento"(Italia, 2009). Nel decreto Ministeriale 131, vengono riconosciute due grandi tipologie di ambienti di transizione; estuari e lagune costiere (Italia, 2008).

Vengono considerati corpi idrici significativi le "foci che presentano una'area con acque di transizione foce fluviale o delta individuata con una dimensione minima dell'area interessata dal cuneo salino superiore a 0.5 km<sup>2</sup>" (Italia, 2008) (fig. 1). Fanno eccezione i corpi idrici di



dimensioni inferiori a  $0.5 \text{ km}^2$ , nei casi in cui esistono motivazioni rilevanti come: l'appartenenza totale o parziale ad aree protette; la specifica valenza ecologica; la rilevanza socio-economica; l'esistenza di elementi di pressione specifici e distinti; l'elevata influenza sui corpi idrici circostanti. Rientrano in questa classificazione le numerosi foci fluviali seppur di piccole dimensioni che caratterizzano le coste tirreniche, non solo per la loro specifica valenza ecologica ma anche per la loro rilevanza socio-economica immettendosi in mare in prossimità di stabilimenti balneari.



**Figura. 1. Acque correnti di transizione foce fluviale o delta (ICRAM, 2009).**

Nell'individuazione dei corpi idrici significativi, per i quali deve essere raggiunto un buono stato ecologico sono inclusi anche i “corpi idrici altamente modificati” (Art. 4, Direttiva 2000/60/CE). La caratterizzazione di questi ecosistemi definiti come “altamente modificati” deve essere effettuata secondo i descrittori relativi ad una categoria di acque superficiali a cui risultino maggiormente somiglianti ( Allegato II, Direttiva 2000/60/CE).

Le lagune costiere sono distinte in tidali, con escursione di marea maggiore di 50 cm e lagune non tidali, con escursione di marea minore 50 cm, in quest'ultima categoria rientrano i laghi costieri (Italia, 2008). All' interno di questi due gruppi gli ecosistemi sono suddivisi in base ad altri fattori come superficie e salinità. Vengono differenziati in base alla loro superficie maggiore o minore di  $2,5 \text{ km}^2$  e classificati a seconda della loro salinità (tab. 1):

---

**Tabella 1. Classificazione delle lagune tidali e non tidali in base alla loro salinità**

| Classificazione | Salinità  |
|-----------------|-----------|
| oligohalini     | < 5 g/L   |
| mesohalini      | 5-20 g/L  |
| eurihalini      | 20-30 g/L |
| polihalini      | 30-40 g/L |
| iperhalini      | > 40 g/L  |

## **1.4 Le Diatomee**

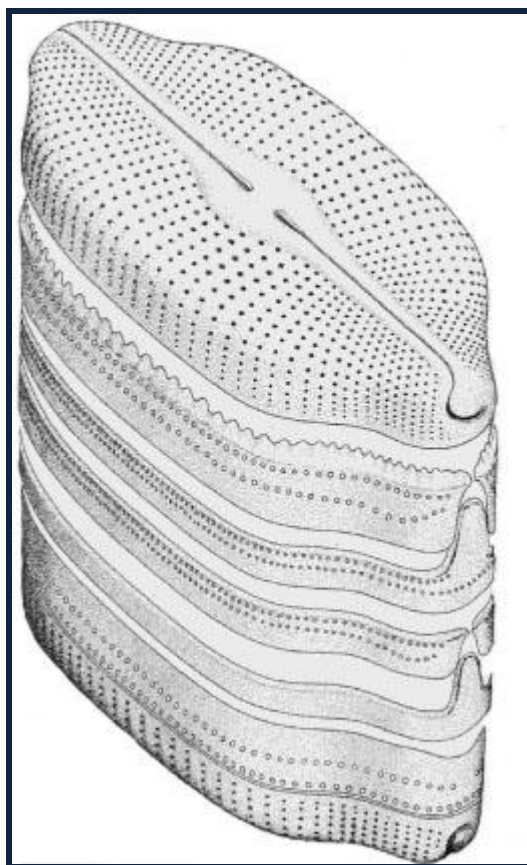
Le Diatomee sono alghe brune unicellulari appartenenti alla classe delle Bacillariophyceae (Divisione Bacillariophyta) di dimensioni dell'ordine dei micron.

### **1.4.1 Biologia**

Le Diatomee sono caratterizzate da una parete cellulare, chiamata frustulo composto principalmente da silice amorfa idrata ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ), che viene portata all'interno della cellula mediante trasporto attivo (Round *et al.*, 1990; Brownlee & Taylor, 2002).

Il plasmalemma racchiude citoplasma, nucleo, vacuoli e plastidi. Questi contengono almeno un pirenoide che presenta pigmenti carotenoidi quali  $\beta$ -carotene, diatossantina, diadinoxantina, fucoxantina i quali mascherano il colore verde della clorofilla (a e c), conferendo il colore bruno a tutta la cellula. (Stauber & Jeffrey, 1988).

Il frustulo è costituito da diverse parti: due valve, l'epivalva, di dimensioni maggiori e l'ipovalva di dimensioni minori. Queste si inseriscono l'una sull'altra, chiudendosi come una scatola sostenute dalle bande connettivali (fig. 2).



**Figura 2. La struttura del frustulo**

La riproduzione avviene secondo due diverse modalità: vegetativa e sessuata. La prima porta allo sviluppo da una cellula madre di due cloni figli in seguito a divisione mitotica. Durante tale fase le due teche della cellula madre si separano, la citochinesi avviene parallela alla superficie valvare e ciascuna cellula figlia eredita una delle due valve parentali, che, sia essa ipo- o epi-valva, andrà a costituire l'epivalva della cellula figlia. Questa poi sintetizzerà l'ipovalva secondo il meccanismo di deposizione descritto in precedenza. In tal modo un clone manterrà le dimensioni della cellula di origine (quello che ha ereditato l'epivalva), l'altro avrà un frustulo di dimensioni minori.

Cicli successivi di riproduzione vegetativa riducono le dimensioni della cellula ad un valore critico in corrispondenza del quale si innesca la riproduzione sessuata che permette il ripristino delle dimensioni massime della specie. Tale riproduzione assume diverse forme in base al numero di gameti prodotti da ciascuna cellula e dal tipo di fusione (oogamia, isogamia, anisogamia).

Nell'oogamia i gameti maschili mobili, dotati di flagello vengono liberati nel mezzo acquoso mentre gli oociti femminili possono essere sia rilasciati sia rimanere all'interno del frustulo del gametangio. Alla plasmogamia segue la cariogamia che può non essere immediata.

---

Lo zigote originatosi con la riproduzione sessuata prende il nome di auxospora. Questa si ingrandisce fino a raggiungere le dimensioni massime della specie e si riveste di materiale organico polissacaridico che può contenere inclusioni silicee. A sviluppo ultimato viene sintetizzato il primo vero frustulo.

Il rafe è un canale longitudinale che può essere presente sulle valve delle diatomee, formato all'estremità da due "noduli polari" ed un ispessimento al centro definito "nodulo centrale" (Bourelly, 1981). La funzione del rafe è duplice serve per l'adesione al substrato in alcuni generi e sembra sia la struttura coinvolta nella motilità delle cellule: le diatomee che presentano il rafe su una sola valva, arafidee, mostrano limitate capacità di movimento (Hopkins, 1969). L'osservazione di residui mucillaginosi lungo le traiettorie delle cellule hanno portato all'ipotesi sempre più accreditata, che gli spostamenti siano mediati dalla secrezione di sostanze mucillaginose attraverso la fessura del rafe (Wetherbee *et al.*, 1998; Poulsen *et al.*, 1999).

### **1.4.2 Sistematica**

La classificazione delle diatomee si basa principalmente su caratteri fenotipici dei frustuli: la loro simmetria, le dimensioni, la forma, la presenza o assenza e la densità delle strie.

La prima distinzione tassonomica porta alla suddivisione delle diatomee in due ordini: quello delle *Centrales* e quello delle *Pennales*.

#### **1.4.2.1 Centrales**

Il frustulo presenta una simmetria raggiata e una forma circolare, triangolare, quadrata.

Molte specie vivono libere, altre sono riunite in colonie seriali per giustapposizione delle facce valvari. Le specie sessili sono associate in colonie gelatinose ramificate. Il protoplasma delle centriche contiene cromatofori discoidali talvolta di forma irregolare e/o laminare; molte contengono pirenoidi.

All'interno delle centriche si distinguono due Sottordini:

Coscinodiscineae, comprendente le Famiglie:

Melosiraceae (Melosira)

---

Coscinodiscaceae (Coscinodiscus)

Thalassiosiraceae (Aulacosira, Cyclotella, Skeletonema, Stephanodiscus, Thalassosira)

Hemidiscaceae (Actinocyclus)

Rhizosolenioidae, comprendente le Famiglie:

Rhizosoleniaceae (Rhizosolenia)

Bidduphiaceae (Acanthoceros, Attheya, Biddulphia, Terpsinoe)

Chaetoceraceae (Chaetoceros)

#### **1.4.2.2 Pennales**

Le Pennales si caratterizzano per la simmetria bilaterale rispetto all'asse sagittale. Presentano una superficie valvare ellittica, a bastoncino, a navetta, raramente asimmetrica; alcune sono percorse longitudinalmente dal rafe, in quelle che ne sono prive è evidente uno spazio bianco centrale detto pseudorafe. In alcuni generi si possono osservare bande intercalari e dei setti giacenti parallelamente o perpendicolarmente alla valva. I cromatofori hanno forme variabili: discoidali con contorni lisci o laminari con contorni irregolari. Questi ultimi giacciono paralleli o perpendicolari alla faccia valvare e normalmente si dispongono simmetricamente rispetto all'asse longitudinale, in corrispondenza del cingolo. Molto spesso nei cromatofori laminari sono presenti dei pirenoidi.

Si distinguono due sottordini:

Araphidineae, con valve caratterizzate da uno pseudorafe. Tale Ordine include una sola Famiglia:

Fragilariaceae (Asterionella, Diatoma, Fragilaria, Meridion, Synedra, Tabellaria, Tetracyclus);

Raphidineae, al cui interno si distinguono le Famiglie:

Eunotiaceae, (Actinella, Eunotia, Peronia)

Achnantaceae, (Achnantes e Cocconeis)

---

Naviculaceae, (Amphipleura, Amphora, Anomoeoneis, Berkeleya, Caloneis, Cymbella, Diatomella, Didymosphenia, Diploneis, Entomoneis, Frustulia, Gomphocymbella, Gomphonema, Gyrosigma, Mastogloia, Navicula, Neidium, Oestrupia, Pinnularia, Pleurosigma, Rhoicosphenia, Scoliopleura, Stauroneis)

Bacillariaceae, (Bacillaria, Cylindrotheca, Cymbellonitzschia, Denticula, Gomphonitzschia, Hantzschia, Nitzschia, Simonsenia)

Surirellaceae, (Campylodiscus, Cymatopleura, Stenopterobia, Surirella)

### 1.4.3 Ecologia

Le diatomee sono ubiquitarie e colonizzano tutti gli ambienti acquatici a qualsiasi latitudine. Rappresentano la componente principale del *fitobenthos* dei fiumi e sono presenti con molte specie nel *fitoplacton* lacustre e marino, sono i principali produttori primari (sia ambiente pelagico che bentonico) e si pensa che siano responsabili del 25% della produttività primaria globale (Jeffery & Hallegraeff 1990; Deny, 2004; Kelly *et al.*, 2006, Kelly *et al.*, 1998).

Le diatomee bentoniche appartengono all'ordine delle *Pennales*, e vivono solitarie adese al substrato. Le comunità diatomiche bentoniche sono usualmente distinte in base alla natura del substrato in:

- epifitiche, quando si sviluppano sulla superficie di altri vegetali, quali macroalghe, muschi e piante acquatiche;
- epipeliche, o epipsammiche quando vivono libere sul limo di fondo o sulla sabbia; e
- epilittiche, se invece, aderiscono a substrati duri naturali o artificiali (per es. ciottoli, rocce, pilastri di ponti).

All'ordine delle *Centrales* appartengono le diatomee planctoniche che vivono formando delle colonie.

I fattori di crescita che influenzano la loro distribuzione e abbondanza sono: parametri chimico fisici come la temperatura, il pH, la salinità e la velocità di corrente; parametri chimici quali le concentrazioni di ossigeno disciolto, silice, di sostanza organica e dei nutrienti (Round, 1981; Herbst & Blinn, 1998; Sabater, 2000). Molte specie risultano essere estremamente sensibili a questi fattori non tollerandone grandi variazioni, mentre poche sono quelle che mostrano un'ampia valenza ecologica. La struttura delle comunità risente dunque delle condizioni ambientali proprie di ogni ecosistema e dei mutamenti dovuti ad eventi di disturbo, rendendole dei validi indicatori dello stato di qualità di un ecosistema.

---

Le diatomee presentano un ciclo vitale molto breve, a differenza degli altri indicatori biologici come macroinvertebrati, macrofite e pesci, rispondendo velocemente ai cambiamenti dei parametri ambientali (Rott, 1991).

Sono stati sviluppati molti indici biotici basati sulle diatomee per la valutazione dello stato di qualità degli ecosistemi fluviali (CEMAGREF, 1982; Prygiel & Coste, 1999; Kelly & Whitton, 1995; Descy, 1979; Rott & Pipp, 1999; Leclercq & Maquet, 1987; Kwandrans *et al.*, 1999; Eloranta, 1999).

Elevate concentrazioni di nutrienti determinano la scomparsa di specie sensibili e la dominanza di specie tolleranti nei corsi d'acqua e possono causare l'aumentare di fenomeni di fioriture algali nei laghi e nelle acque marino costiere (Paerl 1988; Paerl *et al.*, 2006; Cloern 2001).

#### **1.4.4 Diatomee e rischio per la salute umana**

I bloom algali sono processi naturali che si verificano nei laghi e negli ambienti marini (Tonolli, 1975). Negli ultimi anni si è assistito ad un aumento delle fioriture algali nocive, tale fenomeno è in parte legato all'eutrofizzazione, data la stretta relazione tra la qualità dell'acqua e la salute, esse rappresentano una crescente preoccupazione per la salute umana (Anderson *et al.*, 2002; Glibert *et al.*, 2005; GeoHAB, 2006).

Negli ultimi 20 anni, le diatomee sono state oggetto di studio anche per la capacità di specie, la maggior parte appartenente al genere *Pseudonitzschia*, planctoniche marine di produrre una neurotossina, l'acido domoico (Shimizu *et al.*, 1989; Wright *et al.*, 1989; Maranda *et al.*, 1990; Forbes, & Denman 1991; Pan *et al.*, 1996, Cangelosi *et al.*, 1997; Bates *et al.*, 1998; Vrieling *et al.*, 1996; Amzil, 2001; Lapworth *et al.*, 2001; Davidovich & Bates, 2002; Bargu *et al.*, 2003; Bates *et al.*, 2004; Boissonneault, 2004; Lundholm *et al.*, 2004; Lundholm *et al.*, 2005).

In concomitanza con una fioritura algale di *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) nel 1987 in Canada è stata riportata un'intossicazione attribuita al consumo di mitili che coinvolse 153 persone (Wright *et al.*, 1989).

Un'altra diatomea produttrice di acido domoico, *Pseudonitzschia australis*, è stata individuata lungo le coste della California. In quest'area le tossine sono state rilevate nei molluschi e in alcuni pesci, in particolare nelle acciughe. Il consumo di questi pesci è stato ritenuto responsabile delle morie di uccelli marini osservate nella zona nello stesso periodo. Due

specie bentoniche sono state segnalate in grado di produrre questa tossina: *Nitzschia navis-varingica* (Lundholm and Moestrup) in acque marino e di transizione in Vietnam (Kotaki *et al.*, 2004) e *Amphora coffeaeformis* (Agardh) (Shimizu *et al.*, 1989; Maranda *et al.*, 1990).

In Europa, benché non sia stato mai registrato alcun episodio di intossicazione, la presenza di acido domoico è stata riscontrata in mitili coltivati lungo la costa della Galizia e nella diatomea *Pseudonitzschia pungens* f. *multiseries*, raccolta nelle coste olandesi (Vrieling *et al.*, 1996).

In Italia, il problema del possibile rischio sanitario associato a questa tossina è stato sollevato quando, negli anni 1988-91, sono comparsi nell'alto e medio Adriatico aggregati mucillaginosi contenenti diatomee del genere *Nitzschia*. In realtà fu possibile escludere la presenza di acido domoico in questi aggregati. Tuttavia questa tossina rappresenta attualmente anche per l'Italia un problema sanitario. Infatti l'assenza di acido domoico nei molluschi bivalvi dei mari italiani non esclude il rischio derivante dal consumo di molluschi contaminati importati. Le specie appartenenti al genere *Pseudonitzschia* produttrici di acido domoico, e quindi potenzialmente tossiche, hanno una distribuzione piuttosto ampia nella ecoregione mediterranea (Ade *et al.*, 2003). In colture di *Pseudonitzschia multistriata* (Sarno & Dahlman, 2000) e *Pseudonitzschia galaxiae* (Cerino *et al.*, 2005), originate da campioni provenienti dal Golfo di Napoli, è stata riscontrata la produzione di acido domoico, in basse concentrazioni.

#### 1.4.4.1 Sintomatologia della Sindrome da Avvelenamento Amnesico (*Amnesic Shellfish Poisoning*)

L'acido domoico (AD) è un aminoacido ciclico idrosolubile prodotto principalmente dalle alghe marine rosse del genere *Chondria* e dalle diatomee del genere *Pseudo-nitzschia*, è una molecola termostabile, analogo all'acido glutammico, in grado di attaccare dunque gli stessi recettori del Sistema Nervoso Centrale (Wright *et al.*, 1989) (fig. 3).

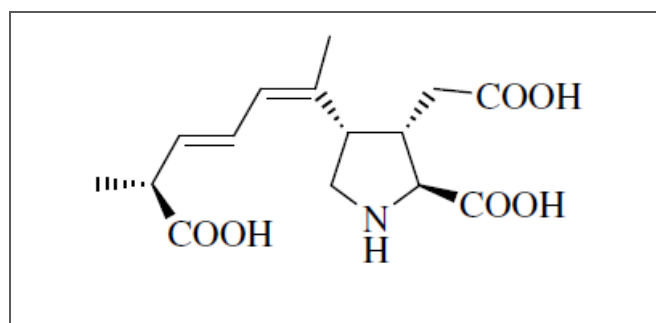


Figura 3. Struttura dell' acido domoico



---

L'assunzione di acido domoico tramite ingestione da mitili provoca in alcuni casi confusione e perdita di memoria, da cui il termine *Amnesic Shellfish Poisoning* (ASP) proposto per questa sindrome: i sintomi gastrointestinale come vomito, diarrea, dolori addominali si verificano nelle prime 24h e quelli di tipo neurologico quali confusione, perdita della memoria, disorientamento e nei casi più gravi coma e morte entro le 48h (Wright *et al.*, 1989; EFSA, 2009). L'effetto tossicologico è particolarmente grave in pazienti anziani ed include sintomi di reminiscenza di morbo di Alzheimer.

## 2. Area di studio

Sono stati studiati 28 siti rappresentativi delle tipologie di acque di transizione presenti lungo la costa tirrenica di Lazio e Toscana (fig. 4). Sono stati individuati ecosistemi lotici di transizione come le foci di fiumi e di canali ed ecosistemi lentic di transizione come i laghi costieri.

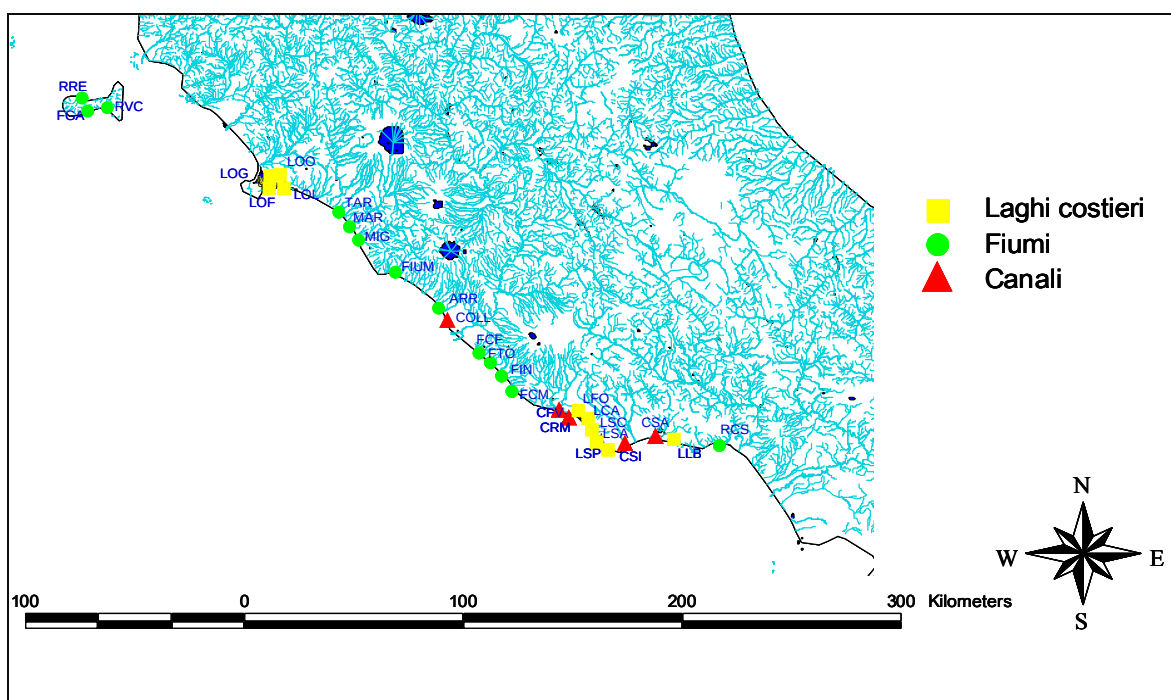


Figura 4. Area di studio e localizzazione delle stazioni di campionamento

### 2.1 Fiumi

Come prima tipologia di acque di transizione sono state esaminate le foci fluviali, per un totale di 13 siti.

Questi ecosistemi caratterizzano il reticolo idrografico laziale; 10 estuari sono stati campionati a partire dal Rio Santa Croce in Provincia di Latina, al confine con la Campania fino al Torrente Arrone, in provincia di Viterbo. I rimanenti 3 ecosistemi lotici di transizione sono situati all'Isola dell'Elba (tab.2).

**Tabella 2. Coordinate geografiche dei fiumi oggetto di studio**

| Codice Nome |                          | Coordinate Geografiche |              |
|-------------|--------------------------|------------------------|--------------|
|             |                          | latitudine             | longitudine  |
| <b>RSC</b>  | Rio Santa Croce          | 41°15'10.79"           | 13°39'58.05" |
| <b>FCM</b>  | Fosso del Cavallo Morto  | 41°30'53.07"           | 12°34'15.14" |
| <b>FIN</b>  | Fosso dell'Incastro      | 41°34'41.30"           | 12°30'27.05" |
| <b>FTO</b>  | Fosso di Pratica di Mare | 41°38'35.64"           | 12°26'07.17" |
| <b>FCF</b>  | Fosso del Pantanello     | 41°41'08.62"           | 12°22'33.26" |
| <b>ARR</b>  | Fiume Arrone             | 41°52'08.34"           | 12°10'56.78" |
| <b>FIU</b>  | Rio Fiume                | 42°02'00.32"           | 11°55'37.78" |
| <b>MIG</b>  | Fiume Mignone            | 42°10'37.00"           | 11°44'03.56" |
| <b>MAR</b>  | Fiume Marta              | 42°14'06.62"           | 11°41'48.63" |
| <b>TAR</b>  | Torrente Arrone          | 42°17'47.95"           | 11°37'47.43" |
| <b>RVC</b>  | Rio Val dei Carpisi      | 42°45'31.42"           | 10°21'27.38" |
| <b>RRE</b>  | Rio Redinoce             | 42°47'20.82"           | 10°13'43.40" |
| <b>FGA</b>  | Fiume Galeo              | 42°45'01.89"           | 10°14'27.50" |

### 2.1.1 Rio Santa Croce

Il Rio Santa Croce nasce dalla sorgente di Capodacqua ai piedi dei monti Aurunci, dove si raccolgono le acque sotterranee di questo complesso calcareo (Mancini & Arcà, 2000), sfocia in mare presso la spiaggia di Gianola a Formia (LT) nel golfo di Gaeta.

La foce è caratterizzata dalla sponda sinistra cementificata, mentre quella destra è sabbiosa; la sua larghezza massima è di 8 metri ed ha una profondità massima di 80 cm.

Un canneto caratterizza la sponda cementificata ed è composta principalmente a *Phragmites australis*, la sinistra è priva di vegetazione; il substrato è sabbioso (fig. 5).



**Figura 5. Rio Santa Croce (RSC)**

### **2.1.2 Fosso del Cavallo morto**

Il fosso del Cavallo Morto scorre nel territorio del comune di Ardea nelle vicinanze del bosco di Padiglione, area di particolare interesse naturalistico (Di Girolamo *et al.*, 1993), e sfocia in mare a sud del centro abitato di Lido dei Pini. Il corso d'acqua attraversa un'area per lo più adibita a pascolo.

La foce presenta una larghezza media di 3,5 m ed una profondità massima di 30 cm.

E' presente una fitta vegetazione ripariale, che si estende fino a pochi metri dalla riva ed è composta in prevalenza da *Phragmites australis* e *Thypha laetifolia*. In questo tratto l'alveo è composto da sedimenti sabbiosi ed è ricoperto in alcuni tratti da macrofite acquatiche dominate da *Nastursium officinalis* appartenente alla famiglia delle *Cruficerae* (fig. 6).



**Figura 6. Fosso del Cavallo Morto (FCM)**

#### **2.1.4 Fosso dell’Incastro**

Il fosso Incastro, o Grande, ha origine da numerosissimi fossi minori che scorrono tutti in direzione sud-ovest dal complesso dei Colli Albani verso il Mar Tirreno, dove questo sfocia a sud di Ardea. La superficie del bacino è di 127 km<sup>2</sup>, mentre la lunghezza dell’asta principale è di 23,5 km.

La foce, ha un profondità massima di 40 cm, ed è larga 7 m. Il substrato è sabbioso con assenza di ciottoli all’interno dell’alveo. La vegetazione presente è composta principalmente da *Phragmites australis* (fig. 7).



**Figura 7. Fiume Incastro (FIN)**



---

### 2.1.5 Fosso di Pratica di Mare

Il fosso di Pratica ha origine nella tenuta Petronella dove è intubato fino all'incrocio con la via Pontina Vecchia, zona industriale del comune di Pomezia, poi attraversa una zona agricola con abitazioni sparse, infine, il fosso sfocia in mare sul litorale di Torvajonica.

La foce presenta un'ampiezza di 5 metri ed una profondità massima di 20 cm. Il substrato dell'alveo è composto da sedimenti sabbiosi con assenza di ciottoli, è presente un canneto composto da *Phragmites australis* (fig. 8).



**Figura.8. Fosso di Pratica di Mare (FTO)**

### 2.1.6 Fosso del Pantanello

Ha origine al Villaggio San Francesco e sfocia nel Mar Tirreno alla Sinistra della Tenuta Presidenziale di Castel Porziano, dopo averla attraversata.

La foce ha una larghezza di 5 metri ed una profondità media di 40 cm. La sponda destra fino a 10 m dal mare è cementificata; il substrato è composto da sabbia, è privo di ciottoli e di vegetazione riparia (fig. 9).



**Figura. 9 Fosso del Pantanello (FCF)**

### **2.1.7 Fiume Arrone**

Il fiume Arrone nasce dal lago di Bracciano di cui è l'unico emissario e sfocia a nord del centro abitato di Fregene, ad 1 km dalla foce (all'altezza di Torre di Primavera) riceve inoltre acque trattate da un depuratore.

La foce presenta normalmente un'ampiezza di 20 metri ed una profondità massima di 70 cm. L'alveo è composto da sedimenti sabbiosi, non sono presenti ciottoli strutture per la ritenzione della materia organica (fig. 10).



**Figura 10. Fiume Arrone ( ARR)**

---

### 2.1.8 Rio Fiume

Il Rio Fiume nasce dalla confluenza di numerosi torrenti che provengono dall'area compresa fra il Monte Tolfaccia e il Monte Acqua Tosta. Sfocia a sud della Cittadina di Santa Severa.

L'arenile è caratterizzato da ciottoli e massi e la foce è parzialmente chiusa da questi. Il substrato è prevalentemente limoso, con la presenza di ciottoli. La vegetazione riparia si estende fino a 10 metri dalla riva e presenta ampia copertura vegetale a *Pragmites australis*.

La larghezza della foce è all'incirca di 7 metri con una profondità massima di 40 cm (fig. 11).



**Figura 11. Rio Fiume (FIU)**

### 2.1.9 Fiume Mignone

Il Mignone nasce sui monti Sabatini, nel territorio di Vejano, a Nord-Ovest del lago di Bracciano, attraversa il territorio dei Monti della Tolfa, di cui costituisce il confine settentrionale, e sfocia dopo 62 km nel mare Tirreno tra Lido di Tarquinia e Civitavecchia presso Sant'Agostino.

La foce talvolta si biforca nell'ultimo tratto: uno dei rami arriva al mare, presenta una larghezza di 5 metri e una profondità media di 50 cm, l'altro ramo termina in una piccola zona umida temporanea. L'alveo è caratterizzato da sedimento sabbioso, sono assenti strutture per la ritenzione della materia organica (fig. 12).





**Figura 12. Fiume Mignone (MIG)**

#### **2.1.10 Fiume Marta**

Il fiume Marta è l'unico emissario del lago di Bolsena. Dopo aver attraversato Marta, Tuscania e Tarquinia, incontra il mare nelle vicinanze del Lido di Tarquinia. Nell'area compresa tra la foce del Fiume Marta e quella del Fiume Mignone, è stata istituita la Riserva Naturale di Popolamento Animale "Salina di Tarquinia".

La larghezza dell'alveo è 9 m e la profondità massima è di 60 cm. Il substrato è sabbioso, privo di ciottoli, ed è assente la vegetazione riparia (fig. 13).



**Figura 13. Fiume Marta (MAR)**

---

### **2.1.11 Torrente Arrone**

Il torrente Arrone, dopo un percorso complessivo di circa 44 km, sfocia nel Mar Tirreno, nella piana compresa tra Montalto di Castro e Tarquinia.

Sui fondali della costa laziale compresi tra questa foce e quella del Marta è stato istituito il Sito di Importanza Comunitaria “Fondali tra le foci del Torrente Arrone e del Fiume Marta”.

Il corso d’acqua prima di sfociare in mare, attraversa campi coltivati e campeggi.

La foce presenta una larghezza massima di 11,20 m e una profondità massima di 25 cm. Il substrato sabbioso, privo di ciottoli e di strutture per la ritenzione della materia organica, solo la sponda destra è caratterizzata da vegetazione riparia (fig. 14).



**Figura 14 Torrente Arrone (TAR)**

### **2.1.12 Fiumi dell’Isola D’Elba**

I fiumi dell’Isola raramente superano i 3 km di lunghezza e molti di questi sono a carattere temporaneo. Due delle foci campionate sono di fiumi a carattere temporaneo: Rio redinoce e Rio Val di Carpisi, mentre perenne è il Fiume Galeo.

#### **Rio Val di Carpisi**

Il Rio Val di Carpisi sfocia nel Comune di Lacona, in un piccolo arenile sabbioso, a ridosso della strada.

---

La sponda destra è stata rinforzata con massi mentre quella sinistra è cementificata e fa da fondamento alle mura di un' abitazione.

L'alveo è largo 1,5 m e la profondità massima è di 15 cm. Il substrato è sabbioso con la presenza di massi e ciottoli (fig. 15).



**Figura 15. Rio Val di Carpisi (RVC)**

### **Rio Redinoce**

Il Rio Redinoce (scorre nella parte Nord occidentale dell'Isola e sfocia a ovest del paesino di Marciana Marina.

La foce è larga 3 m, presenta una profondità massima di 20 cm, il substrato è sabbioso caratterizzato dalla presenza di numerosi massi e ciottoli (fig. 16).



**Figura 16. Rio Redinoce (RRE)**

### **Fiume Galeo**

Il fiume Galeo, è il fiume maggior dell'isola dell'Elba e sfocia nella cittadina di Marina Campo.

La foce è larga 4,5 m, si restringe nell'ultimo tratto fino ad un larghezza di un 1,5 m ed ha un profondità massima di 40 cm. È caratterizzata da un substrato sabbioso, priva di strutture di ritenzione della materia organica. La vegetazione riparia si estende fino a 20 m dal mare (fig. 17).



**Figura 17. Fiume Galeo (FGA)**

---

## 2.2 Canali

La seconda tipologia di acque lotiche di transizione presa in esame sono le foci dei canali artificiali: 4 canali, il Canale Torre S. Anastasia, il Canale Sisto, il Rio Martino ed il Canale Foce Verde nella Provincia di Latina, sono stati creati in seguito alle opere di bonifica idraulica. L'ultimo sito è il Collettore delle Acque Alte situato nel Comune di Fiumicino (tab. 3).

**Tabella 3. Coordinate geografiche dei canali oggetto di studio**

| Codice      | Nome                      | Coordinate Geografiche |              |
|-------------|---------------------------|------------------------|--------------|
|             |                           | latitudine             | longitudine  |
| <b>CSA</b>  | Canale Torre S. Anastasia | 41°17'28.88"           | 13°20'32.56" |
| <b>CSI</b>  | Fiume Sisto               | 41°15'57.10"           | 13°08'57.32" |
| <b>CRM</b>  | Canale Rio Martino        | 41°23'10.74"           | 12°55'50.05" |
| <b>CFV</b>  | Canale Foce Verde         | 41°25'01.23"           | 12°48'48.45" |
| <b>COLL</b> | Collettore Acque Alte     | 41°49'53.80"           | 12°12'36.82" |

### 2.2.1 Canale di Torre S Anastasia

Il canale di Torre S. Anastasia è uno degli emissari del lago di Fondi, ed è lungo 3 km.

La foce è adibita a porto turistico per piccole imbarcazioni ed è larga 12 m. La profondità massima del fondale è di 1,2 m. Gli argini sono alti e le sponde sono cementificate (fig. 18).





**Figura 18. Canale Torre S Anastasia (CSA)**

### **2.2.2 Fiume Sisto**

È lungo 37 km, ha origine nei pressi di Latina, dall'unione di vari canali. Sfocia nel Mare Tirreno presso San Felice Circeo, attraversando tutto l'Agro Pontino costeggiando il Parco Nazionale del Circeo.

La foce è adibita a porto turistico, la sua imboccatura è larga 15 m con una profondità massima di 1,80 m. Le sponde del fiume sono cementificate ed adibite a banchine (fig. 19).



**Figura 19. Fiume Sisto (CSI)**

---

### 2.2.3 Rio Martino

Il Rio Martino è lungo 7 km ed ha origine dalla sponda destra del fiume Sisto, in località il Passo. Le sue acque che attraversano una zona agricola, formano in parte il lago dei Monaci. La sua foce è larga 8 m ed ha profondità massima di 1,5 m.

Il punto di campionamento (fig. 20) è situato ad 1 km dal mare, prima del tratto finale riservato al transito di piccole imbarcazioni. In questo tratto l'alveo è omogeneo ed in seguito ad interventi di rinaturalizzazione è ricoperto da macrofite acquatiche, mentre le sponde sono ricoperte a tratti da *Rubus ulmifolius* e *Pragmites australis*



**Figura 20. Canale Rio Martino (CRM)**

### 2.2.4 Canale delle Acque Alte

IL Canale delle Acque Alte (o Fosso del Moscarello) è lungo 30 km e ha inizio presso Ninfa, raccoglie gran parte delle acque della Bonifica Pontina e le immette nel Mare Tirreno presso Torre di Foce Verde.

La foce è adibita a porto di piccole imbarcazioni, è larga 7 m e profonda 1,5 m. Le sponde sono cementificate (fig. 21).



**Figura 21. Canale di Foce Verde (CFV)**

### **2.2.5 Collettore delle Acque Alte**

Il Collettore è il canale della Bonifica di Maccarese e raccoglie le acque di vari canali e fossi scaricandole nel bacino formatosi a valle delle idrovore di Maccarese e sfociando in mare a sud della cittadina di Fregene. Il canale é lungo 4 km e scorre attraverso un'area agricola. Il suo tratto finale si trova all'interno dell'Oasi WWF di Macchiagrande. La foce ha una larghezza massima di 4 m una profonda massima di 30 cm, il substrato è sabbioso con alcuni ciottoli e massi presenti nell' alveo (fig. 22).



**Figura 22. Collettore dell' Acque Alte (COLL)**



---

## 2.3. Laghi costieri

La terza tipologia di acque di transizione presa in esame sono i laghi costieri.

Sono stati oggetto di questo studio il Lago Lungo, i Laghi pontini di Sabaudia, Fogliano e Caprolace e la Laguna di Orbetello (tab. 4).

**Tabella 4. Coordinate geografiche dei laghi costieri oggetto di studio**

| Codice     | Nome                | Coordinate Geografiche |              |
|------------|---------------------|------------------------|--------------|
|            |                     | latitudine             | longitudine  |
| <b>LLB</b> | Lago Lungo          | 41°16'20.99"           | 13°24'13.88" |
| <b>LSP</b> | Lago di Sabaudia    | 41°14'49.63"           | 13°02'07.73" |
| <b>LSA</b> | Lago di Sabaudia    | 41°17'54.86"           | 13°00'59.98" |
| <b>LSC</b> | Lago di Sabaudia    | 41°18'21.98"           | 13°00'27.80" |
| <b>LCA</b> | Lago di Caprolace   | 41°20'36.67"           | 12°59'05.72" |
| <b>LFO</b> | Lago Fogliano       | 41°23'19.89"           | 12°55'23.79" |
| <b>LOL</b> | Laguna di Orbetello | 42°24'47.81"           | 11°16'47.61" |
| <b>LOF</b> | Laguna di Orbetello | 42°25'27.51"           | 11°11'59.97" |
| <b>LOO</b> | Laguna di Orbetello | 42°26'09.39"           | 11°12'30.80" |
| <b>LOG</b> | Laguna di Orbetello | 42°26'16.81"           | 11°12'06.81" |

### 2.3.1 Lago Lungo

Il lago Lungo si sviluppa parallelamente alla costa per una lunghezza di circa 1,8 Km e una larghezza massima di 400 m, ha una superficie di 0,5 Km<sup>2</sup> e una profondità di appena 6,5 m.

La stazione di campionamento è situata a sinistra di un canale di comunicazione con il mare. Il substrato è limoso, con presenza di ciottoli, con una fitta vegetazione riparia (fig. 23)



**Figura 23 Lago Lungo (LLB)**

### **2.3.2 I laghi costieri del Parco Nazionale**

I laghi costieri del Parco Nazionale del Circeo si sviluppano paralleli alla duna litoranea olocenica, nel tratto compreso tra il Comune di Latina (Capoportiere) e i confini del Comune di Sabaudia (Torre Paola). Da Nord si susseguono nel seguente ordine: Fogliano, Monaci, Caprolace e Paola. Nell'entroterra si estende la Pianura pontina, oggi una delle aree del Lazio più densamente coltivate, che grazie ad un reticolo di fiumi e canali convoglia le acque delle numerose sorgenti, dai piedi dei monti Lepini e Ausoni verso il mare e nei laghi rendendo le acque salmastre.

#### **Lago di Sabaudia**

Il Lago di Sabaudia (detto anche Lago di Paola) ha una superficie di circa 3,9 km<sup>2</sup> completamente compresa nel Parco Nazionale del Circeo, un perimetro di circa 20 km, ed una profondità massima di 10 m.

All'interno di esso sono state localizzate tre stazioni di campionamento: la prima in prossimità del canale di torre Paola, che presenta argini cementificati, con una profondità di 4 m (fig. 24)

La seconda presso la cittadina di Sabaudia, in prossimità di un pontile, dove il substrato è limoso (fig. 25) e l'ultima è stata localizzata sul canale di Catrattina, altra via di comunicazione con il mare. qui il substrato è limoso con la presenza di ciottoli (fig. 26).



**Figura 24. Lago di Sabaudia ,Torre Paola (LSP)**



**Figura 25. Lago di Sabaudia, Sabaudia Città (LSA)**



**Figura 26. Lago di Sabaudia, canale di Catrattina (LSC)**

### **Lago di Caprolace**

Il lago di Caprolace raccoglie le acque della Bonifica Pontina e le scarica in mare con una serie di canali, il principale dei quali è il diversivo Nocchia, che sfocia presso Sabaudia. Il lago ha una superficie  $0,99 \text{ km}^2$ , è lungo 2,5 km e largo 0,5 ed il perimetro è di 5,500 km. La stazione di campionamento è localizzata lungo la strada del diversivo della Nocchia, a ridosso di un campo agricolo. l'alveo è caratterizzato da un substrato limoso, le sponde sono basse anche se cementificate, è prive di vegetazione (fig. 27).



**Figura 27. Lago di Caprolace (LCA)**

---

## **Lago di Fogliano**

Tra i laghi costieri della regione pontina il lago di Fogliano è il più grande, circa 395 ha, con un'estensione verso il mare di circa 5 km, un perimetro di 11 km e una larghezza di 1,5 km. La sua profondità massima è dell'ordine dei 2,5 m. Stretto dal cordone litoraneo raccoglie le acque del canale Cicerchia.

La stazione di campionamento è stata scelta nella parte nord orientale del lago, è caratterizzata da rive cementificate e protette da massi, ricoperti da alghe filamentose (fig. 28).



**Figura 28. Lago di Fogliano (LFO)**

### **2.3.3 Laguna di Orbetello**

La Laguna di Orbetello è una laguna costiera della Toscana, nella Maremma grossetana. La sua estensione è di circa 27 km<sup>2</sup>. La profondità media è di un metro circa, la massima non supera i 2 m.

È separata dal mare a ponente e a levante da due strisce di terra lunghe 6 km (i Tomboli sabbiosi della Giannella a NW e della Feniglia a SE) e ad ovest dal promontorio dell'Argentario. Una terza lingua istmica di terra si protende nel centro della laguna e su di essa sorge il centro urbano di Orbetello.

Comunica con il mare per mezzo di tre canali artificiali: il canale di Fibbia (o delle Saline) nei pressi della foce del fiume Albegna ed il canale di Santa Liberata, entrambi sul Tombolo di Giannella ed il canale di Ansedonia sul tombolo di Feniglia.



---

Sono state scelte quattro stazioni: la prima sul tombolo della Giannella, all'interno dell'oasi del WWF istituita nel 1971. La stazione è caratterizzata da rive scoscese, e da campi di Graminacee che arrivano a ridosso di quest'ultime (fig. 29).



**Figura 29. Tombolo della Giannella (LOG)**

La seconda stazione è stata localizzata nella cittadina di Orbetello, in prossimità del pontile. La struttura è completamente cementificata (fig. 30).



**Figura 30. Cittadina di Orbetello (LOL)**

La terza è localizzata sul tombolo della Feniglia, dove le rive permettono l'accesso in acqua, il substrato è limoso ma con abbondante presenza di ciottoli (fig. 31).



**Figura 31. Tombolo della Feniglia (LOF)**

La quarta stazione è situata in prossimità del Canale di Santa Liberata. Il canale funge da via di comunicazione per le piccole imbarcazioni che sono ormeggiate all' interno della Laguna, ha una profondità massima di 2,5 m. Gli argini sono rialzati e cementificati (fig. 32).



**Figura 32. Canale di Santa Liberata (LOL)**

---

## **3. Materiali e Metodi**

### **3.1 Analisi della comunità diatomatica**

Le comunità diatomiche sono state campionate nelle primavera e nelle estati 2008-2009, periodo di maggior biodiversità di questi organismi (Dell' Uomo 2004).

Non essendo stato messo appunto nessuno protocollo per l'analisi delle diatomee bentoniche degli ambienti di transizione, sono state seguite le indicazioni per il campionamento, la conservazione e la preparazione dei vetrini e l'identificazione delle specie riportate CEN-EN 13946 (CEN-EN, 2002) e pr-EN 14407 (CEN-EN, 2004) adattandole alle particolari caratteristiche delle diverse tipologie di ecosistemi prese in esame.

#### **3.1.1 Substrato**

Per le diverse tipologie di acque di transizione oggetto di questo studio si è reso necessario analizzare tre diversi substrati per prelevare i campioni di diatomee, ciottoli, macrofite e sedimento.

FIUMI: sono stati selezionati come substrati ciottoli se presenti macrofite e sedimento.

CANALI: sono stati scelti substrati artificiali, strutture come pontili o i massi che costituiscono gli argini.

LAGHI COSTIERI: sono stati selezionati come substrati ciottoli se presenti, macrofite e sedimento.

#### **3.1.2 Campionamento**

CIOTTOLI O SUBSTRATO ARTIFICIALE: Le diatomee sono state raccolte grattando la superficie superiore di questi con uno spazzolino. Il quale viene successivamente pulito all'interno di una provetta (falcon 50 mL) in cui sono stati trasferiti in precedenza 10 mL di acqua.

MACROFITE: dalle macrofite radicate emergenti le diatomee sono state raccolte grattando con uno spazzolino i fusti; delle macrofite sommerse, sono state tagliate alcune foglie e poste in una vaschetta di plastica in cui sono state successivamente sciacquate e raschiata la



---

superficie fogliare. L'acqua mista a diatomee presente nella vaschetta viene poi trasferita all'interno della provetta.

SEDIMENTO: le diatomee sono state prelevate con una siringa da 50 mL, privata dell'ago, tenuta inclinata diagonalmente, aspirando lo strato superficiale del sedimento. Il materiale raccolto viene poi trasferito nella provetta. Si eseguono dei lavaggi della siringa con acqua distillata per recuperare eventuali diatomee rimaste adese alla superficie.

Il materiale prelevato è stato raccolto in provette (falcon 50mL).

### **Conservazione**

In ogni campione vengono aggiunte alcune gocce di formaldeide al 4%: tale procedura viene eseguita sotto cappa chimica. Questo passaggio consente di eliminare eventuali predatori delle diatomee e di preservare inalterato il campione prima del processamento.

### **3.1.3 Ossidazione del Campione**

Il primo passaggio a cui il campione è sottoposto è l'ossidazione della materia organica: le tecniche utilizzate sono state le seguenti: ossidazione con perossido di idrogeno a caldo e quella con acido solforico e acido nitrico. Vengono di seguito riportati i metodi suddivisi per tipologie.

FIUMI: l'ossidazione con  $H_2O_2$  al 30% è la tecnica più frequentemente utilizzata nel trattamento delle diatomee di acque dolci.

Operando sotto cappa chimica sono stati prelevati 4-5 mL da ogni campione e trasferiti in beacker, in cui poi vengono aggiunti 40 mL di  $H_2O_2$  al 30%. Successivamente i beacker sono stati posti su piastra elettrica alla temperatura di circa 90°C. Una volta terminato l'ossidazione, i campioni sono stati tolti dalla piastra e lasciati raffreddare e successivamente sono state aggiunte alcune gocce di HCl al 37% per eliminare il carbonato di calcio, il perossido di idrogeno residuo ed eventuali ossidi di ferro.

Ogni campione è stato poi trasferito in nuova provetta (falcon 10mL) e centrifugato in modo tale da eliminare l'acido cloridrico e gli agenti ossidanti dalla soluzione (Kelly *et al.*, 1998).

È stata effettuata una centrifuga a 700 rpm per 3 min; successivamente il sopranatante formatosi è stato prelevato e trasferito in un'altra provetta. Dopo l'aggiunta di acqua distillata in entrambe, è eseguita una seconda centrifuga a 1500 rpm per 3 min. Il sopranatante della seconda provetta è stato eliminato e il restante contenuto trasferito in quella iniziale.

---

CANALI E LAGHI COSTIERI: l'ossidazione della materia organica stata eseguita con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 96% e  $\text{HNO}_3$  al 65%.

Operando sotto cappa chimica sono stati prelevati 4-5 mL da ogni campione e trasferiti in beacker, e sono state aggiunte 4-5 mL di  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Hustedt, 1930), in rapporto 1:1:1 (Round *et al.*, 1990). Successivamente i beacker sono stati posti su piastra a temperatura di 150°C.

Ogni campione è stato poi trasferito in nuova provetta (falcon 10mL) e centrifugato in modo tale da eliminare le impurità. Per poter allestire i vetrini permanenti, utilizzando una resina ad alto indice di rifrazione, la soluzione deve essere a pH 5,5. Per raggiungere tale valore di pH, misurato nelle diverse provette con una cartina tornasole, sono stati necessari più lavaggi.

Per evitare di rompere i frustuli, e renderne impossibile l'identificazione, i campioni sono stati lasciati a sedimentare per 24 h, successivamente sono stati centrifugati a 1500 giri per 5 minuti. Nei casi in cui il ph fosse ancora inferiore a 5,5 è stato effettuato un'altro ciclo di sedimentazione.

### **Vetrini permanenti**

Il deposito di color chiaro sul fondo della provetta è formato dai frustuli delle diatomee.

Se il campione risulta troppo concentrato viene diluito prelevandone 3-4 ml e trasferendoli in un' altra provetta, portando a volume con acqua distillata.

Su due vetrini coprioggetto di forma circolare (18-19 mm) con una pipetta pasteur vengono poste due diverse aliquote del campione; così da avere due differenti concentrazioni di frustuli in modo da scegliere quella più adatta all'analisi. I vetrini coprioggetto vengono posti su piastra ad asciugare a temperatura di circa 50°C. In seguito su un vetrino portaoggetti, etichettato con il nome della stazione e la data, viene posta una goccia di resina. Sotto cappa chimica con una pinzetta da laboratorio sul vetrino vengono poggiati i coprioggetto, con il lato che presenta i frustuli a contatto con la resina. Il vetrino viene scaldato su piastra aumentando gradualmente la temperatura in modo tale da far evaporare il solvente.

Il campione ossidato, non utilizzato per il montaggio dei vetrini, è stato conservato aggiungendo qualche goccia di etanolo 95%, così da evitare la formazione di funghi ed avere materiale a disposizione per ulteriori nuovi vetrini.

---

### **3.1.4 Determinazione sistematica**

Per il riconoscimento delle diatomee i vetrini sono stati osservati al microscopio ottico a 1000 ingrandimenti ad immersione. Allo scopo di effettuare misure ed acquisire immagini necessarie all'identificazione delle diatomee è stato usato un sistema digitale di analisi di immagine collegato al microscopio ottico, attraverso l'utilizzo di un software che permette di effettuare misurazioni sulle immagini ottenute. Tutti i frustuli presenti in un campo d'immagine sono stati identificati e contati, procedendo per campi di immagine successivi e non sovrapposti. In ciascun vetrino si sono contate tra 400 e 500 valve.

L'identificazione si basa infatti sull'osservazione dei frustuli, dei quali viene analizzata la morfologia. Elementi tassonomici importanti ai fini della classificazione sono la simmetria della valva, la sua iso- o etero-polarità, la presenza e la disposizione del rafe, la lunghezza e la larghezza, il numero e la disposizione di strie e *punctae*.

Le alghe sono state riconosciute al livello di specie utilizzando manuali di riconoscimento ed articoli scientifici (Krammer & Lange-Bertalot, 1986; 1988; 1991a; 1991b; Round *et al.*, 1990; Van Dam *et al.*, 1994; Lange-Bertalot 2000; 2001; 2002; 2003; Witkowski *et al.*, 2000, Danielidis *et al.*, 2003).

## **3.2 Parametri Ambientali**

### **3.2.1 Analisi chimico-fisiche in situ**

Le misurazioni del pH, della conducibilità e salinità sono state effettuate sul campo utilizzando le seguenti sonde portatili della ditta WTW :

pH 330i/SET (2B20-0011)

Cond./Sal 3158i/SET (2C10-0011)

### **3.2.2 Analisi chimiche**

I campioni d'acqua sono stati prelevati, seguendo le norme standard contenute nel protocollo APAT (APAT, 2007) con bottiglie scure da 1000 ml dotate di tappo con chiusura ermetica e lavate prima dell'uso. Le bottiglie sono state trasportate in un contenitore

---

frigorifero alla temperatura intorno ai 4° C. Una volta giunti in laboratorio sono conservati alla medesima temperatura.

Le analisi sono state effettuate di norma entro le 48 ore dalla data del campionamento. Le determinazioni di tipo colorimetrico di detti parametri sono state effettuate utilizzando kit commerciali costruiti secondo i protocolli vigenti. La lettura è stata eseguita con uno spettrofotometro (UV-visibile). Sono state svolte analisi per determinare le concentrazioni dei seguenti parametri:

**Fosfati:** gli ioni ortofosfato formano, con gli ioni molibdato in soluzione solforica, acido fosfomolibdico. Quest'ultimo viene ridotto con acido ascorbico a blu di fosfomolibdeno, la cui concentrazione, espressa in mg/L, viene determinata fotometricamente alla lunghezza d'onda ( $\lambda$ ) di 710 nm.

**Nitrati:** gli ioni nitrato, in presenza di cloruro in soluzione di acido solforico molto concentrata, formano con resorcina un colorante indofenolico violetto rosso, il quale viene determinato fotometricamente alla lunghezza d'onda ( $\lambda$ ) di 505 nm. La concentrazione di nitrati viene espressa in mg/L.

**Cloruri:** gli ioni cloruro reagiscono col tiocianato di mercurio(II) per formare cloruro di mercurio (II) scarsamente dissociato. Il tiocianato liberatosi forma con gli ioni ferro (III) il rosso tiocianato di ferro (III), la cui concentrazione viene determinata fotometricamente ad una lunghezza d'onda ( $\lambda$ ) di 468 nm. La concentrazione di cloruri che ne deriva viene espressa in mg/L.

**Ammonio:** l'azoto ammoniacale si trova in parte in forma di ioni ammonio ed in parte come ammoniaca. Tra le due forme esiste un equilibrio dipendente dal pH. In soluzione fortemente alcalina, in cui praticamente esiste solo ammoniaca, ha luogo con un agente clorante una trasformazione in monocloroamina. Quest'ultima forma con timolo un derivato blu di indofenolo, il quale viene determinato fotometricamente ad una lunghezze d'onda ( $\lambda$ ) di 692 nm. La concentrazione di ammonio viene espressa in mg/L.

**COD:** la Domanda Chimica di Ossigeno, corrisponde alla quantità d'ossigeno proveniente da bicromato potassico, la quale reagisce nelle condizioni del procedimento specificato con le sostanze ossidabili contenute in un litro d'acqua. Il campione d'acqua viene ossidato con una

---

soluzione solforica calda di bicromato di potassio e solfato d'argento come catalizzatore. I cloruri vengono mascherati da solfato di mercurio. In seguito viene determinata fotometricamente ad una lunghezza d'onda ( $\lambda$ ) 348 nm la concentrazione degli ioni cromato gialli non consumati, espressa in mg/L.

BOD<sub>5</sub>: La Domanda Biologica di Ossigeno misura la frazione di ossigeno disciolto (mg/L) utilizzata da una popolazione microbica eterogenea per metabolizzare, in condizioni specifiche di temperatura, il materiale organico biodegradabile presente in una quantità d'acqua. Poiché la completa biodegradazione della sostanza organica richiederebbe un periodo troppo lungo (circa 20 giorni), nella pratica tale periodo viene ridotto a 5 giorni. In questo studio l'analisi è stata svolta sempre a partire dal giorno di campionamento dell'acqua, utilizzando il sistema Oxitop della WTW, basato sulla misura di variazione di pressione effettuata attraverso l'uso di un sensore elettronico di pressione.

---

### **3.3 Test di valutazione della tossicità**

Le colture pure di specie isolate da campioni ambientali sono state sottoposte a test per la valutazione della tossicità. In particolare è stato eseguito il test ecotossicologico Microtox e l'analisi strumentali di Cromatografia liquida associata a Spettrometria di Massa (LM\_MS)

#### **3.3.1. Microtox**

Per la rilevazione della presenza di tossine nelle diatomee è stato utilizzato il sistema Microtox per il biosaggio con batterio *Vibrio fischeri* (US-EPA, 1996).

Gli standard delle tossine microcistine sono stati conservati a -30 °C fino all'utilizzo, e una curva di concentrazioni è stata composta per ognuno di essi, ai fini di testare la sensibilità del sistema, che per sua natura non è quantitativo. E' stata effettuata sia la produzione intra che extracellulare dell'acido domoico da parte della specie oggetto di studio. La determinazione della presenza di acido domoico è stata effettuata sia per determi

Il campione è stato così preparato come: con una spatola sterile sono state grattate tutte le superfici del contenitore contenente la coltura pura ed opportunamente omogenizzate. Il campione è stato aliquotato in provette sterili e centrifugato a 12000 rpm per 4 minuti. Questa operazione è stata ripetuta, tutte le frazioni di pellet sono state raccolte in uno unico da 200 µg. Questo processo è stato per determinare la produzione intracellulare dell'acido domoico. Per determinare la produzione extracellulare sono state prelevate aliquote di acqua dalla coltura algale e successivamente concentrate fino a ottenere 200 µg di pellet.

I campioni sono stati successivamente sonicati, per 20 secondi due volte, alternate da una centrifuga a 11000 rpm per 10 minuti al fine di ottenere la lisi cellulare. Entrambi i campioni sono stati sottoposti al Microtox test seguendo le indicazioni del protocollo (Gucci *et al.*, 2001 1992; US\_EPA, 1996).

#### **3.3.2 Cromatografia liquida associata a Spettrometria di Massa (LC-MS)**

In questo studio sono stati analizzati in doppio 3 campioni: C1 - 1,5 mL di coltura pura; C2 - 1,5 mL di sovrantante; C3 - 1,5 mL di acqua filtrata del sito (utilizzata come bianco), e, 1µg di standard commerciale di Acido domoico.

---

Le analisi sono state eseguite con un apparato LC-ESI/MS/MS costituito da pompa binaria HPLC PE LC-200 Micro Pump (Dionex) adatta a gestire micoflussi ed equipaggiata di sistema di iniezione a valvola con loop interno da 50  $\mu$ L, sistema di autocampionatore PE200 e compartimento di termostatazione per la colonna accoppiato ad uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo AB Sciex Instruments API 3000 (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) dotato di sorgente a pressione atmosferica del tipo Turbo Ion Spray (TIS). Gli analiti sono stati separati cromatograficamente tramite una colonna C18 a fase inversa Alltima 2,1x250 mm ID 5 $\mu$ m, (Alltech, Milano, Italy). Tramite fornetto termostato, la temperatura della colonna è stata mantenuta a 40° C.

Per la separazione cromatografica degli analiti, sono state usate le seguenti fasi mobili:

**fase A:** acetonitrile 10 mM acido formico

**fase B:** acqua 10 mM acido formico

Il profilo del gradiente di eluizione utilizzato, in percentuale della fase A, dove t è il tempo espresso in minuti, è stato il seguente:

$t_0 \rightarrow A = 15\%$   
 $t_{20} \rightarrow A = 100\%$   
 $t_{23} \rightarrow A = 100\%$   
 $t_{24} \rightarrow A = 15\%$   
 $t_{33} \rightarrow A = 15\%$

La variazione dei tempi di ritenzione degli analiti non è mai stata superiore allo 0,5%.

Il flusso in colonna è stato di 200  $\mu$ L/min. Le iniezioni sono state eseguite con un autocampionatore con loop da 20  $\mu$ L. Sono stati impostati 2 flush prima e 2 dopo l'iniezione. Per i flush è stato utilizzato metanolo ed un volume di 500  $\mu$ L. Operando in questo modo non è stato riscontrato alcun effetto di "carry over" dovuto alla contaminazione della colonna e/o del sistema di separazione.

Il sistema TSI/MS/MS è stato fatto operare in modalità positiva, utilizzando aria come gas di nebulizzazione, di desolvatazione e nella cella di collisione e azoto come curtain gas. Il curtain gas è impostato ad un flusso di 10 u.a. (unità arbitrarie), mentre il nebulizer gas e il flusso del turbo gas sono impostati a 12 u.a. e 30 u.a., rispettivamente. Il gas nella cella di collisione è regolato ad una pressione di 12 u.a. Il voltaggio del capillare è impostato a -5500 V. Il potenziale di declustering (DP), di focalizzazione (FP), di entrata (EP), il potenziale di uscita dalla cella di collisione (CXP) e l'energia di collisione (CE) sono stati ottimizzati per



ciascun analita e sono riportati in Tabella. I frammenti ionici diagnostici sono ottenuti tramite dissociazione indotta per collisione (CID) nella cella di collisione posta tra i due quadrupoli, regolando l'energia cinetica impartita agli ioni. I segnali ionici sono acquisiti in modalità Multi Reaction Monitoring (MRM) selezionando due transizioni di decomposizione dallo ione pseudo-molecolare per ciascun analita. È stata applicata una risoluzione unitaria a metà altezza del picco.

È stato impostato un dwell time (tempo che l'analizzatore spende su una massa) di 50 ms per ogni transizione.

Il controllo dello strumento, l'acquisizione dei dati e la loro valutazione (integrazione e quantificazione) è stata eseguita con il software Analyst 1.4.2.

**Tabella 5. Condizioni sperimentali relative alla determinazione mass-spettrometrica dell'acido domoico**

| ANALITI       | TRANSIZIONI<br>(m/z) | DP <sup>1</sup> | FP <sup>2</sup> | EP <sup>3</sup> | CX <sup>4</sup> | CE <sup>5</sup> |
|---------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Acido Domoico | 312 > 266            | 200             | 400             | 10              | 25              | 13              |
|               | 312 > 248            | 200             | 400             | 10              | 25              | 13              |

<sup>1</sup>DP: potenziale di disgregazione; <sup>2</sup>FP: potenziale di messa a fuoco; <sup>3</sup>EP: potenziale di entrata; <sup>4</sup>CXP: potenziale di uscita dalla cella di collisione; <sup>5</sup>CE: energia di collisione;

### Analisi quantitativa

Gli analiti sono stati identificati attraverso il confronto tra tempi di ritenzione e dal rapporto delle abbondanze relative delle transizioni ioniche rispetto ad una soluzione standard. Il tempo di ritenzione dell'analita nel campione rispetto alla soluzione standard di calibrazione non deve variare oltre il 2.5% e le abbondanze relative degli ioni rispetto a quelli ottenuti dagli standard di calibrazione devono coincidere con oltre una tolleranza massima accettata che va dal 20 al 50%.

Le rette di taratura sono state costruite in matrice (acqua ultrapura MilliQ) contaminando a monte i campioni con concentrazioni variabili di analiti nel range di interesse (0,1-10 µg/L) e una concentrazione fissa di standard (1 µg/L). E' stata applicata la regressione lineare riportando il rapporto area standard/area standard interno in funzione della concentrazione degli analiti. Per ogni analita è stata considerata la somma dei profili delle correnti ioniche relative alle transizioni considerate.

---

### **3.4 Analisi dei dati**

I dati raccolti nel corso di questo studio sono stati oggetto di diversi tipi di analisi statistiche allo scopo di fornire informazioni su struttura, composizione ed abbondanza, della comunità diatomica e la loro relazione con parametri ambientali chimici e chimico fisici. Sono stati utilizzati i Software SASS1.60 e PAST 2.05.

#### **3.4.1 Analisi delle componenti principali**

I dati ottenuti dalle analisi delle variabili ambientali e dai parametri chimici e chimico-fisici, e i dati ottenuti dall' identificazione delle comunità diatomiche sono stati trattati con l'Analisi delle Componenti Principali, PCA.

L'Analisi delle Componenti Principali (PCA) è una procedura per trovare variabili ipotetiche (dette 'componenti') che spieghino quanta più variabilità possibile in un set di dati multidimensionali. (Davis, 1986; Harper, 1999). Queste nuove variabili sono combinazioni lineari delle precedenti. La PCA ha varie applicazioni, tra le quali:

- regressione semplice dei set di dati a sole due variabili (le due componenti principali), per scopi di ordinamento e classificazione (è il caso dell'ordinamento delle stazioni di campionamento in base ai set di variabili chimiche);
- ipotesi di correlazione delle componenti principali con altre variabili soggiacenti, è questo il caso della correlazione delle componenti principali ricavare dai dati di presenza assenza dei taxa con le principali variabili chimico-fisiche delle stazioni.

L'algoritmo della PCA trova gli autovalori e gli autovettori della matrice di varianza-covarianza o della matrice delle correlazioni, in base alla scelta dell'operatore, che sa di aver inserito dati normalizzati o meno.

#### **3.4.2 Analisi della Correlazione Canonica**

Per indagare sulla correlazione tra fattori abiotici e comunità diatomiche, le componenti principali ottenute dalle due PCA sono state analizzate attraverso l'Analisi della Correlazione Canonica. Questa permette la regressione e l'interpretazione di grandi set di dati ecologici multivariati grazie ad altri gradienti ambientali. Essa è un tipo di analisi delle corrispondenze svolto su una matrice siti/taxa dove ogni sito ha un valore noto per una o più variabili ambientali (ad esempio temperatura, profondità, concentrazioni dei nutrienti ). Gli assi dell'ordinamento risultante sono combinazioni lineari delle variabili ambientali. La CCA è un

---

esempio di analisi diretta di gradiente, dove il gradiente nelle variabili ambientali è noto a priori e le abbondanze di specie (o presenze/assenze) sono considerate come una risposta a questo gradiente. Per misurare il livello di associazione lineare tra le componenti è stato utilizzato il coefficiente di correlazione Rho di Pearson.

### **3.4.3 Classificazione o “Cluster Analysis”**

La struttura delle comunità diatomica è stata analizzata attraverso metodi di Classificazione, o Cluster Analysis. Tale analisi multivariata permette di individuare, all'interno di un set di variabili, gruppi caratterizzati da una maggior omogeneità ed è stata eseguita attraverso la matrice di distanza di Bray e Curtis (Bray & Curtis, 1957).

### **3.4.4 Non-Metric Multidimensional Scaling (NMDS)**

Il *Multidimensional Scaling Non-metrico* (NMDS) è una tecnica di analisi basata su un algoritmo iterativo che prevede un aggiustamento progressivo della posizione dei punti nel piano o nello spazio più o meno complesso in cui si desidera ottenere l'ordinamento. È stata utilizzata per descrivere la similarità all'interno delle tre tipologie di acque di transizione oggetto di questo studio utilizzando una matrice di distanza basata sull'indice di Bray e Curtis (Bray & Curtis, 1957).

---

## 4. Risultati

Le tipologie di acque di transizione prese in considerazione sono tre: fiumi, canali artificiali e laghi costieri. Le foci naturali del Lazio sono guadabili con una profondità massima di 70 cm (fiume Arrone), sfociano in arenili sabbiosi che caratterizzano la granulometria del sedimento ad eccezione del Fosso del Fiumicello che, sfocia in una spiaggia composta da massi e ciottoli e presenta un substrato limoso. I siti, Rio Santa Croce, Fosso del Cavallo Morto, Fiume Incastro, sono caratterizzati dalla presenza di vegetazione riparia. Totale assenza di copertura macrofitica si riscontra nelle foci del Mignone, del Marta e del Torrente Arrone.

I canali artificiali presi in considerazione, Sant'Anastasia, Fiume Sisto, Canale delle Acque Alte e Canale Rio Martino non sono guadabili, presentano strutture portuali alle loro foci, con argini cementificati. Il Collettore delle Acque Alte, che nel suo tratto terminale è guadabile e naturale, è caratterizzato da un substrato limoso, sabbioso, privo di vegetazione riparia.

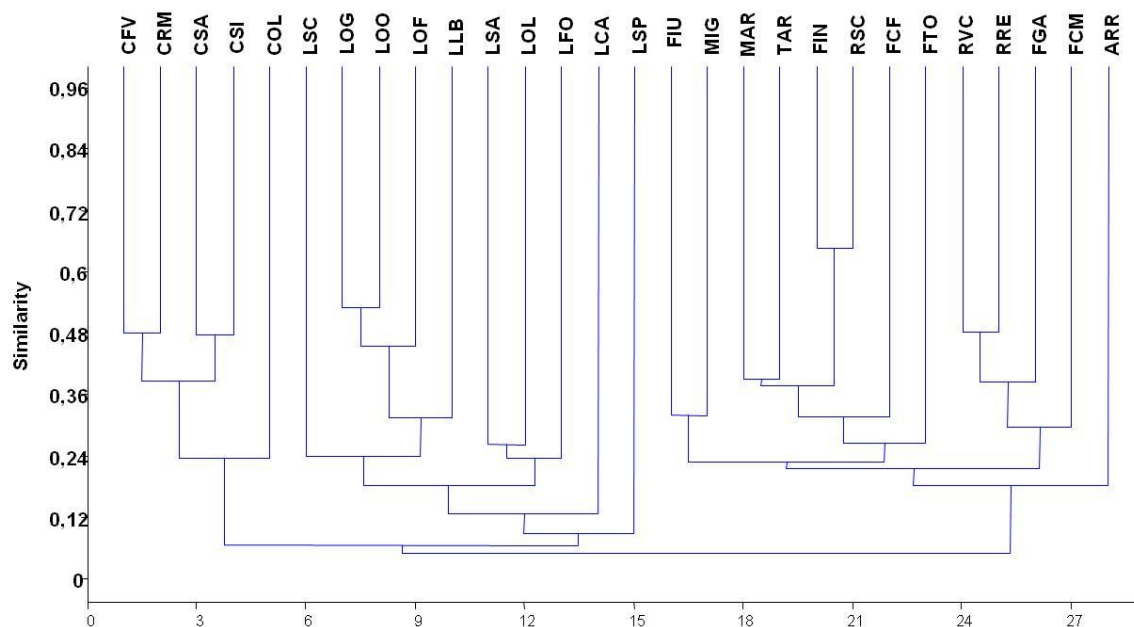
Le rive dei laghi costieri, Lago Lungo, Lago di Caprolace, la stazione sul Canale Catrattina del Lago di Sabaudia e la stazione sul Tombolo della Feniglia presentano un substrato limoso. Nelle stazioni rimanenti del Lago di Sabaudia, del Lago di Fogliano e della Laguna di Orbetello non è stato possibile l'accesso in acqua.

### 4.1 Comunità diatomiche

Le peculiarità delle acque di transizione e la mancanza di informazioni e conoscenze sul loro stato ambientale, in particolare su alcune delle componenti della qualità biologica, non consentono di avere a disposizione metodologie di analisi standard per questi ecosistemi. Pertanto si è ritenuto opportuno utilizzare le metodiche già applicate in altri ambienti, adottando le modifiche necessarie.

Sono state identificate un totale di 219 tra specie e varietà diatomiche; gli ecosistemi di transizione che presentano un maggior numero di specie 144, sono stati i fiumi, 74 specie sono state individuate nei canali e 76 nei laghi costieri. Le liste delle specie divise per le tre tipologie sono riportate in appendice (Appendice 1).

I dati ottenuti dall'analisi delle comunità studiate sono stati classificati attraverso la Cluster analysis (fig. 33).



**Figura 33. Cluster analysis effettuata sulla struttura delle comunità diatomiche.**

I dati delle comunità sono stati ordinati attraverso l'Analisi delle Componenti Principali (fig. 34).

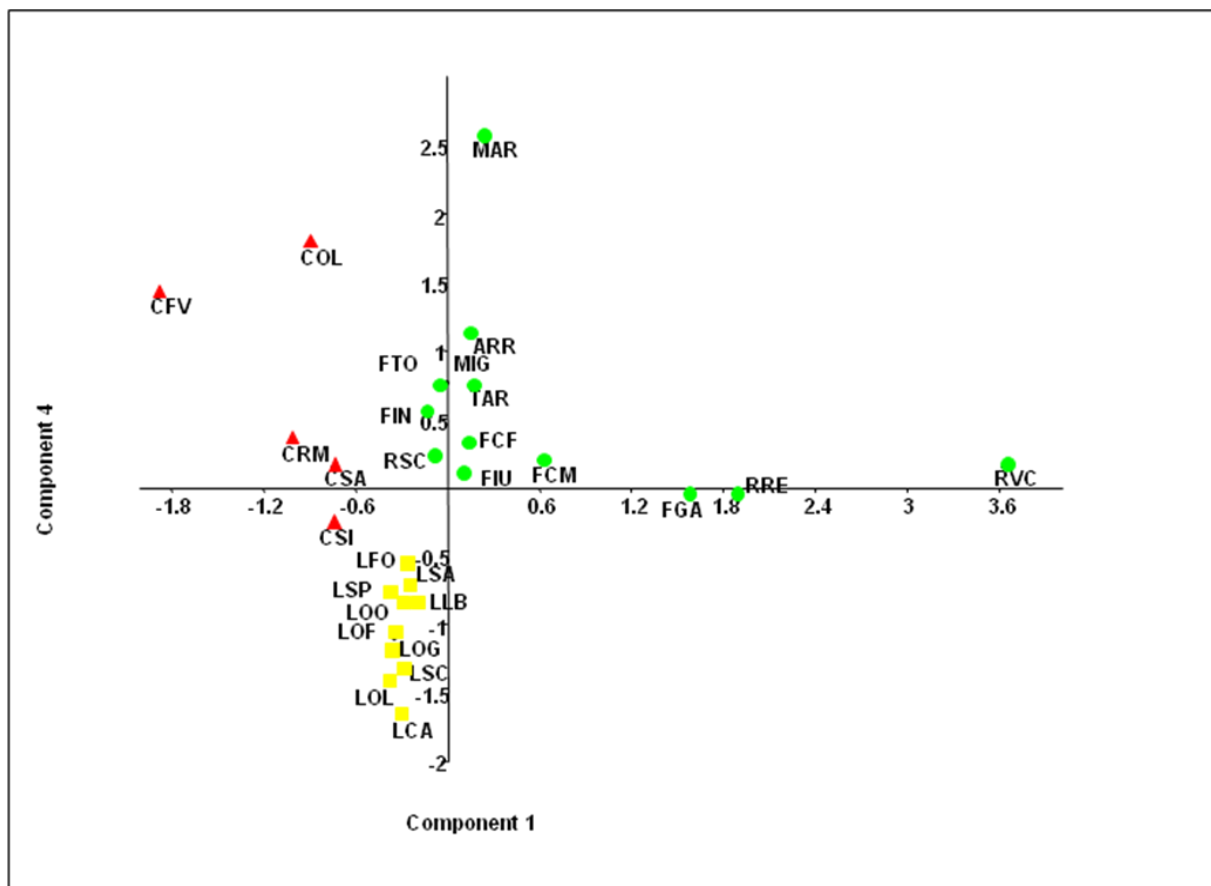


Figura 34. Analisi delle Componenti Principali effettuata sui dati di struttura delle comunità diatomiche (il primo asse spiega una varianza del 8,1% e il secondo asse del 7,2 %).

#### 4.1.1 Fiumi

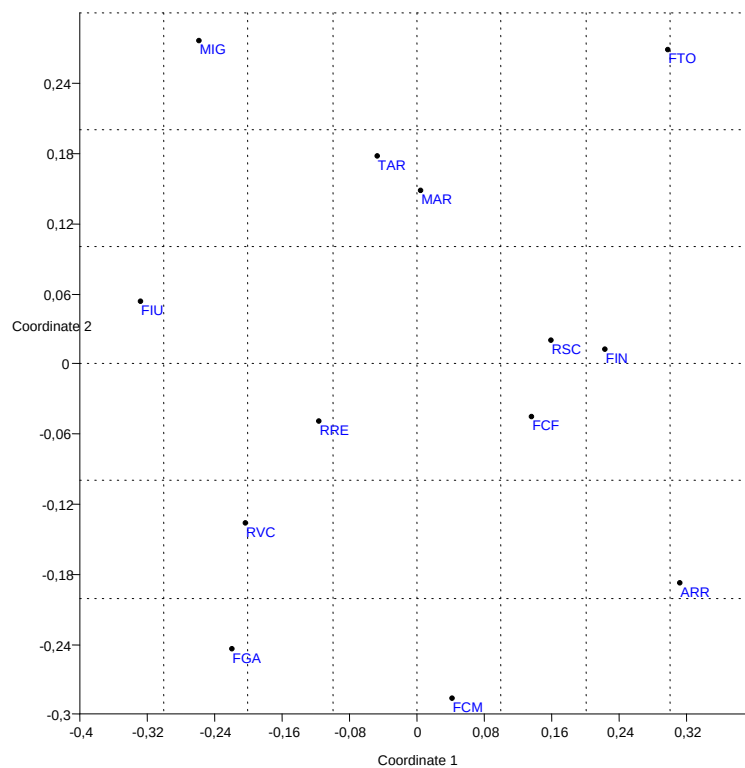
Le comunità diatomiche delle foci fluviali sono principalmente composte da specie di acqua dolce e ampia valenza ecologica.

Le 144 specie ritrovate appartengono principalmente ai generi *Achnanthidium*, *Planothidium*, *Amphora*, *Navicula*, *Luticola*, *Fragilaria*, *Craticula*, *Rhoicosphenia*, *Nitzschia*, *Surirella*. Sono state identificate in media 31 specie per ogni sito, con un massimo di 45 specie nel fiume Marta -MAR ed un minimo di 26 specie nel Fosso di Pratica di Mare -FTO, (tab. 6).

**Tabella 6. Numero di specie ritrovate nei fiumi**

| Codice | N. di specie ritrovate |
|--------|------------------------|
| RSC    | 29                     |
| FCM    | 37                     |
| FIN    | 28                     |
| FTO    | 26                     |
| FCF    | 29                     |
| ARR    | 28                     |
| FIU    | 34                     |
| MIG    | 33                     |
| MAR    | 45                     |
| TAR    | 23                     |
| RVC    | 36                     |
| RRE    | 29                     |
| FGA    | 35                     |

Al fine di ottenere un ordinamento delle stazioni in base alla struttura, abbondanza delle specie e composizione delle comunità analizzate, i dati ottenuti sono stati ordinati attraverso la N-MDS (fig. 35).



**Figura 35. Non Multimetric dimensional Scaling applicata alle comunità diatomiche dei fiumi. (Stress= 0,2)**

### 4.1.2 Canali

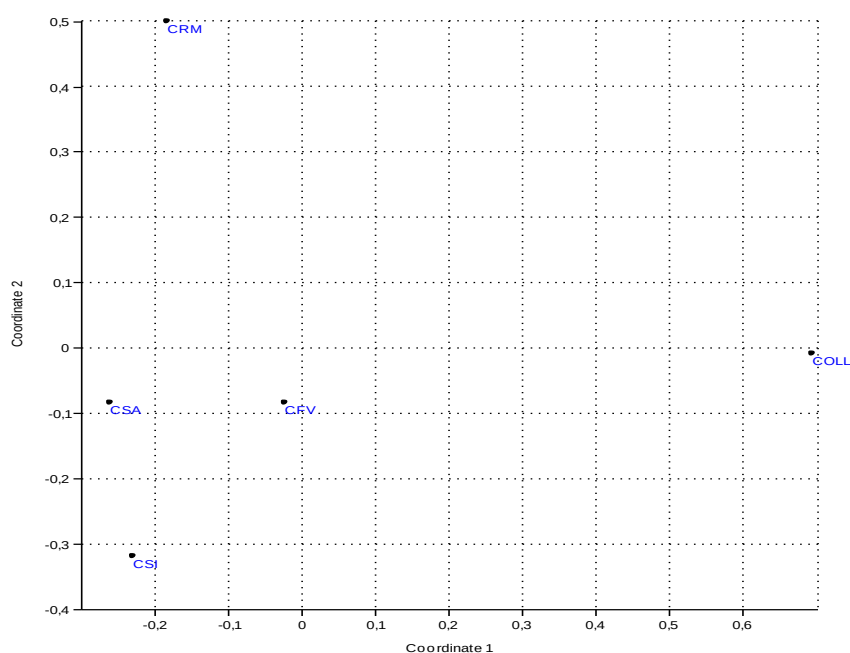
Le comunità diatomiche delle foci dei canali sono composte sia da specie marine che da specie d'acqua dolce tolleranti all'inquinamento. I generi maggiormente rappresentati tra le 74 specie sono *Achnanthes*, *Amphora*, *Navicula*, *Nitzschia*.

Sono state ritrovate una media di 26 specie per ogni sito, con un massimo di 34 per il Canale delle Acque Alte –CFV e del Collettore -COL, il sito con il minor numero di specie è risultato il Fiume Sisto -CSI con 16 specie (tab. 7).

**Tabella 7. Numero di specie ritrovate nei canali.**

| Codice | N. di specie ritrovate |
|--------|------------------------|
| CFV    | 34                     |
| CSA    | 21                     |
| CSI    | 16                     |
| CRM    | 26                     |
| COL    | 34                     |

Al fine di ottenere un ordinamento delle stazioni in base alla struttura, abbondanza delle specie e composizione delle comunità analizzate, i dati ottenuti sono stati ordinati attraverso la N-MDS (fig. 36).



**Figura 36. Non Multimetric dimensional Scaling applicata alle comunità diatomiche dei canali. (Stress= 0,19)**



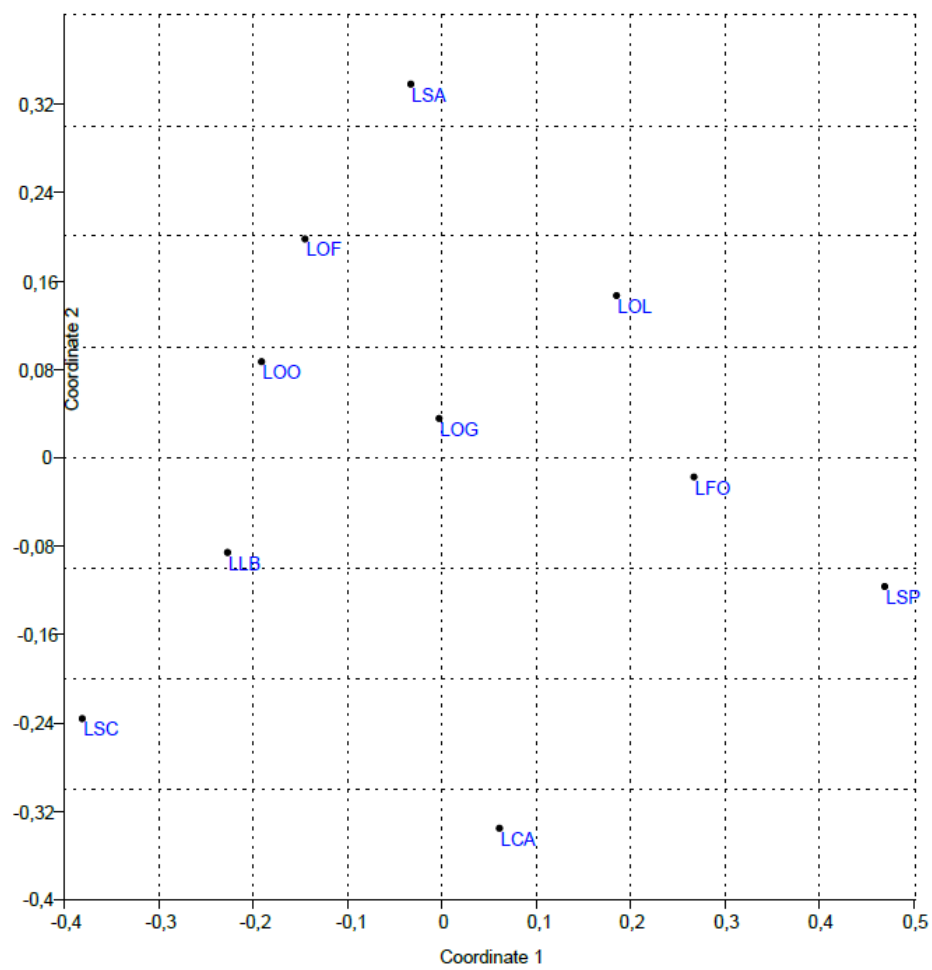
---

#### 4.1.3 Laghi Costieri

Le comunità diatomiche ritrovate nei laghi costieri sono composte principalmente da specie marine. Le 76 specie identificate appartengono principalmente ai generi *Amphora*, *Grammatophora*, *Lyrella*, *Navicula*, *Nitzschia* e *Seminavis*. Sono state ritrovate una media di 14 specie per ogni sito; la stazione con il maggior numero di specie identificate è quella della Giannella presso la Laguna di Orbetello -LOG, quelle del Lago di Fogliano -LFO e nella stazione in prossimità di Torre Paola del lago di Sabaudia-LSP hanno presentato il minor numero di specie, 7 (tab. 8).

**Tabella 8. Numero di specie ritrovate nei laghi costieri**

| Codice | N. di specie ritrovate |
|--------|------------------------|
| LLB    | 15                     |
| LSP    | 7                      |
| LSA    | 16                     |
| LSC    | 18                     |
| LCA    | 16                     |
| LFO    | 7                      |
| LOL    | 20                     |
| LOF    | 13                     |
| LOO    | 11                     |
| LOG    | 22                     |



**Figura 37.** *Non Metric dimensional Scaling* applicata alle comunità diatomiche dei canali. (Stress= 0,21)

## 4.2 Parametri Ambientali

In tabella (tab. 9) sono riportate le analisi chimico e chimico-fisiche effettuate sulla matrice acquosa.

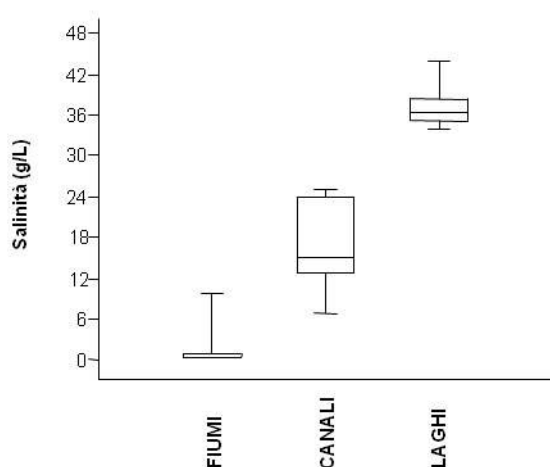
**Tabella 9. Risultati dei parametri chimici e chimico-fisici**

| Codice | Conducibilità<br>mS/cm | Salinità<br>g/L | pH    | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup><br>(mg/L) | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup><br>(mg/L) | COD<br>(mg/L) | BOD <sub>5</sub><br>(mg/L) | Cl <sup>-</sup><br>(mg/L) | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup><br>(mg/L) |
|--------|------------------------|-----------------|-------|----------------------------------------|-----------------------------------------|---------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------------------|
| RSC    | 1,041                  | 0,300           | 7,560 | 3,860                                  | 0,180                                   | 31,700        | 5,000                      | 132,680                   | 0,052                                  |
| FCM    | 8,460                  | 0,200           | 6,820 | 23,380                                 | 0,640                                   | 25,640        | 5,000                      | 89,750                    | 0,001                                  |
| FIN    | 9,040                  | 0,200           | 7,680 | 17,070                                 | 0,680                                   | 15,790        | 3,000                      | 88,590                    | 0,460                                  |
| FTO    | 2,100                  | 0,900           | 7,500 | 18,897                                 | 1,710                                   | 36,360        | 5,000                      | 330,910                   | 0,025                                  |
| FCF    | 2,520                  | 1,200           | 7,400 | 0,914                                  | 3,730                                   | 36,360        | 6,000                      | 344,430                   | 2,551                                  |
| ARR    | 1,140                  | 0,400           | 8,750 | 14,590                                 | 1,810                                   | 26,570        | 6,000                      | 152,600                   | 0,010                                  |
| FIU    | 8,770                  | 4,900           | 8,680 | 1,111                                  | 0,857                                   | 39,610        | 7,000                      | 459,648                   | 0,034                                  |
| MIG    | 16,500                 | 9,800           | 8,740 | 0,550                                  | 0,270                                   | 13,500        | 9,000                      | 484,680                   | 0,005                                  |
| MAR    | 0,773                  | 0,100           | 8,880 | 17,040                                 | 1,400                                   | 21,930        | 7,000                      | 59,690                    | 0,027                                  |
| TAR    | 0,820                  | 0,200           | 8,760 | 19,810                                 | 1,190                                   | 44,640        | 7,000                      | 115,500                   | 0,049                                  |
| RVC    | 1,861                  | 0,800           | 7,510 | 0,558                                  | 0,495                                   | 29,660        | 6,000                      | 279,200                   | 0,014                                  |
| RRE    | 0,876                  | 0,300           | 7,430 | 0,492                                  | 0,284                                   | 25,650        | 5,000                      | 164,162                   | 0,006                                  |
| FGA    | 6,750                  | 0,100           | 7,900 | 1,849                                  | 0,838                                   | 27,059        | 6,000                      | 111,489                   | 0,005                                  |
| CSA    | 21,100                 | 12,600          | 8,530 | 0,820                                  | 0,090                                   | 52,050        | 6,000                      | 497,470                   | 0,100                                  |
| CSI    | 39,100                 | 24,900          | 8,370 | 0,560                                  | 0,890                                   | 42,830        | 4,000                      | 504,240                   | 0,310                                  |
| CRM    | 37,700                 | 23,800          | 8,890 | 1,890                                  | 1,309                                   | 41,160        | 8,000                      | 490,670                   | 0,852                                  |
| CFV    | 24,600                 | 15,100          | 8,040 | 3,390                                  | 3,360                                   | 47,840        | 8,000                      | 506,360                   | 1,360                                  |
| COL    | 11,640                 | 6,700           | 8,750 | 1,030                                  | 0,880                                   | 27,080        | 6,000                      | 478,880                   | 0,070                                  |
| LLB    | 53,200                 | 35,600          | 8,120 | 0,456                                  | 0,030                                   | 37,760        | 7,000                      | 510,880                   | 1,050                                  |
| LSP    | 54,450                 | 36,000          | 8,290 | 0,052                                  | 0,001                                   | 44,810        | 6,000                      | 510,800                   | 0,005                                  |
| LSA    | 53,300                 | 35,100          | 8,380 | 0,550                                  | 0,001                                   | 43,110        | 4,000                      | 498,200                   | 0,309                                  |
| LSC    | 51,340                 | 33,800          | 8,340 | 0,458                                  | 0,025                                   | 37,880        | 8,000                      | 503,200                   | 0,010                                  |
| LCA    | 62,200                 | 42,420          | 9,230 | 0,470                                  | 0,001                                   | 54,350        | 3,000                      | 515,700                   | 2,960                                  |
| LFO    | 64,300                 | 43,800          | 8,710 | 1,143                                  | 0,001                                   | 54,880        | 14,000                     | 498,340                   | 3,760                                  |
| LOL    | 52,900                 | 35,100          | 8,500 | 0,080                                  | 0,090                                   | 40,420        | 4,000                      | 495,700                   | 2,220                                  |
| LOF    | 54,500                 | 36,500          | 8,700 | 0,160                                  | 0,110                                   | 38,200        | 1,000                      | 501,200                   | 3,700                                  |
| LOO    | 57,300                 | 38,100          | 8,900 | 0,060                                  | 0,001                                   | 40,700        | 5,000                      | 496,550                   | 2,460                                  |
| LOG    | 55,100                 | 37,000          | 8,790 | 0,110                                  | 0,010                                   | 40,940        | 6,000                      | 494,800                   | 0,360                                  |

Di seguito (fig. 38) vengono riportate la salinità dei siti raggruppati per tipologia di corpo idrico. Le foci dei fiumi presentano un valore massimo di 9,800 g/L riscontrato nella stazione del Fiume Mignone ed un valore minimo di 0,100 ritrovato sia nel Fiume Marta che nel Fiume Galeo. La salinità dei canali varia da 6,700 g/L del Collettore delle Acque Alte a 24,900 del Fiume Sisto. Per quanto riguarda i laghi costieri, il valore medio di salinità è di 35,000 g/L

---

con un massimo di 43,800 g/L riscontrata nel lago di Fogliano ed il minimo di 33,800 g/L nel Lago di Sabaudia in prossimità del canale di Catrattina.



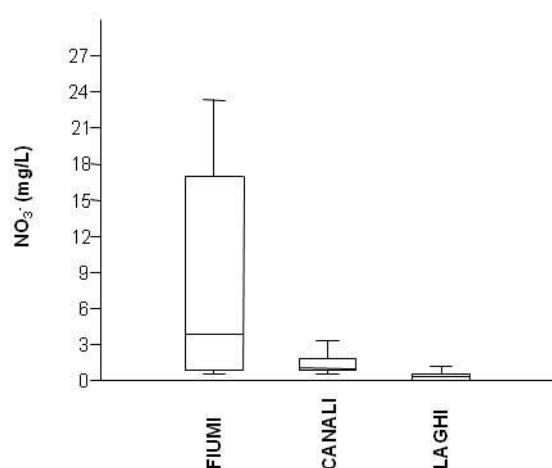
**Figura 38. Box Plot (mediana; 25°-75° percentile; massimo e minimo) relativa alla concentrazione della salinità per tipologia di ambiente di transizione**

Sono di seguito riportate le concentrazioni di nitrati, fosfati e ione ammonio suddivise per tipologie di ecosistema di transizione. I fiumi sono il gruppo caratterizzato da maggiori concentrazioni di nitrati con il valore massimo di 23,380 mg/L nel Fosso del Cavallo Morto, ed uno minimo di 0,5492 mg/L nel Rio Redinoce; sono seguiti dai canali con una concentrazione massima riscontrata nel Canale delle Acque Alte di 1,849 mg/L ed una minima di 0,560 mg/L nel Fiume Sisto. I laghi costieri presentano basse concentrazioni di nitrati (minore di 0,600 mg/L) ad eccezione del lago di Fogliano dove è stata riscontrata una concentrazione di 1,430 mg/L (fig. 39).

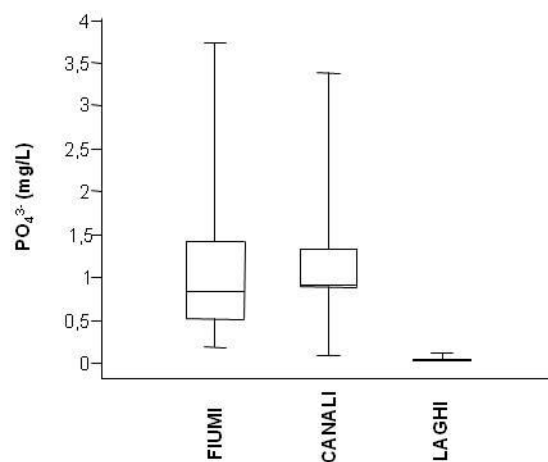
Le concentrazioni dei fosfati sono significative sia nei fiumi che nei canali, con valori massimi riscontrati rispettivamente nel Fosso del Pantanello (3,730 mg/L) e nel Canale delle Alte (3,360 mg/L), mentre le minime sono state ritrovate nel Rio Santa Croce (0,180 mg/L)

e nel Collettore delle Acque Alte (0,880 mg/L). Basse concentrazioni, minore di 0,04 mg/L sono state invece ritrovate nei laghi costieri (fig. 40).

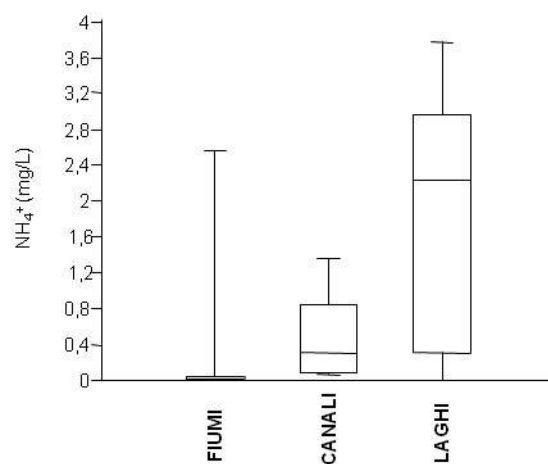
Le concentrazioni delle ione ammonio maggiori sono state ritrovate nei laghi (fig. 41). I valori presentano un range che varia da 0,005 mg/L nella stazione del Lago di Sabaudia in prossimità di Torre Paola a 3,760 mg/L nel lago di Fogliano; sono seguiti dai canali i cui valori oscillano tra 0,100 mg/L nel sito del Canale di Torre S'Anastasia e 1,360 mg/L del Canale delle Acque Alte. Per quanto riguarda i fiumi la concentrazione più alta, 0,460 mg/L, è stata ritrovata nel fosso dell Incastro e la più bassa, 0,001 mg/L nel Fosso del Cavallo Morto.



**Figura 39. Box Plot (mediana; 25°-75° percentile; massimo e minimo) relativa alle concentrazioni di nitrati suddivise per tipologia di ambiente di transizione**



**Figura 40. Box Plot (mediana; 25°-75° percentile; massimo e minimo) relativa alle concentrazioni di fosfati suddivise per tipologia di ambiente di transizione**



**Figura 41. Box Plot (mediana; 25°-75° percentile; massimo e minimo) relativa alla concentrazione di ione ammonio per suddivise per tipologia di ambiente di transizione**

I dati ottenuti dalla analisi dei parametri ambientali, sono stati ordinati attraverso l'Analisi delle Componenti Principali (fig. 42).

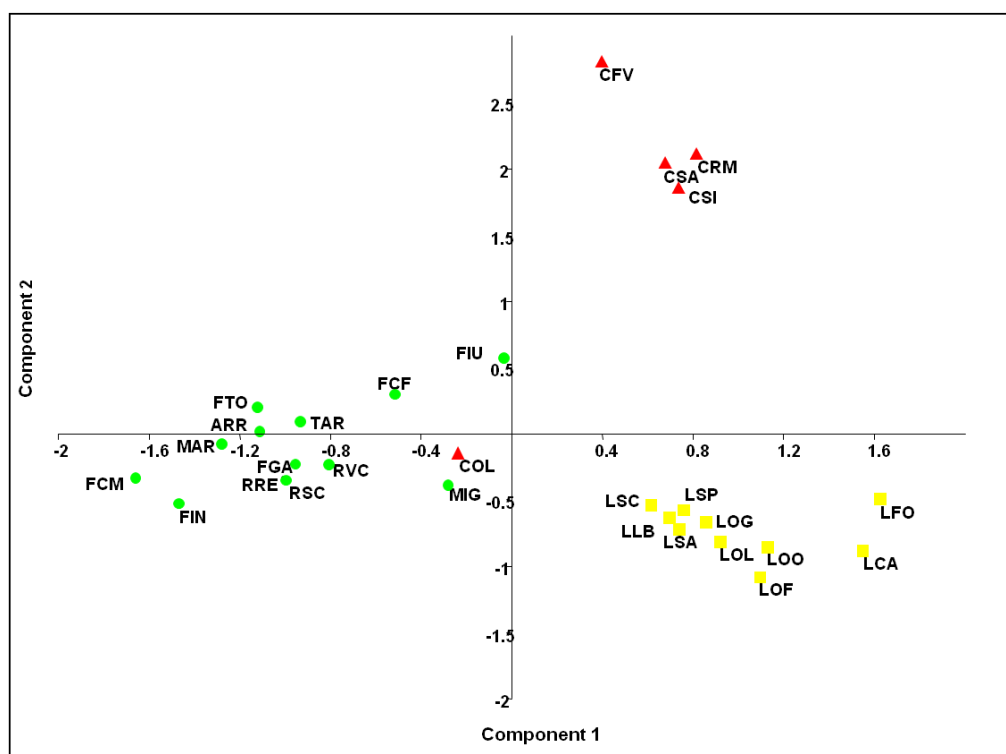


Figura 42. Analisi delle Componenti Principali svolta sulle variabili ambientali e chimiche e fisiche (il primo asse spiega il 41,82 % della varianza ed il secondo asse il 16,73 %).

Sono riportati i coefficienti di correlazione di Pearson, tra le prime tre componenti ottenute dalla PCA e i parametri chimici e chimico fisici (tab. 10).

Tabella 10. Correlazione tra le componenti principali ed i parametri ambientali

| Parametri ambientali          | Pcc1          | Pcc2   | Pcc3   |
|-------------------------------|---------------|--------|--------|
| Conducibilità                 | <b>0.942</b>  | -0.146 | 0.037  |
| Salinità                      | <b>0.956</b>  | -0.118 | 0.028  |
| pH                            | 0.610         | 0.078  | -0.289 |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | <b>-0.696</b> | 0.035  | 0.118  |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | -0.442        | 0.711  | 0.405  |
| COD                           | <b>0.420</b>  | 0.332  | 0.184  |
| BOD <sub>5</sub>              | 0.080         | 0.694  | -0.624 |
| Cl <sup>-</sup>               | 0.870         | 0.126  | -0.055 |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>  | 0.627         | 0.218  | 0.545  |

I dati delle componenti principali ottenute nelle PCA di fattori abiotici e comunità biologiche sono stati analizzati utilizzando l'Analisi Canonica delle Corrispondenze.

Sono di seguito riportati (tab. 11) i coefficienti di correlazione (Rho di Pearson) tra le componenti abiotici (Pcc) e quelle biotiche (Pcb).

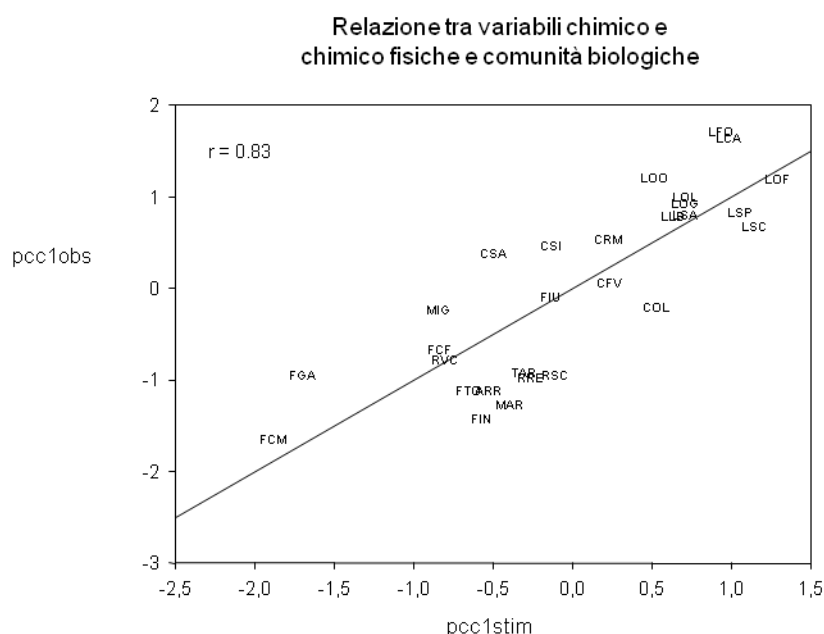
**Tabella 11. Correlazione tra le componenti principali ottenute dalle variabili chimico e chimico fisiche e le componenti principali ottenute dalle comunità diatomiche**

|       | Pcb1           | Pcb2   | Pcb3   | Pcb4           | Pcb5    | Pcb6    | Pcb7    | Pcb8    |
|-------|----------------|--------|--------|----------------|---------|---------|---------|---------|
| Pcc1  | <b>-0.4439</b> | 0.1135 | 0.0320 | <b>-0.6999</b> | 0.0777  | -0.1826 | 0.1355  | 0.1355  |
| Pcc2  | -0.1728        | 0.1615 | 0.3393 | 0.1874         | 0.0307  | 0.2009  | -0.1140 | 0.0768  |
| Pcc 3 | -0.1372        | 0.1781 | 0.2737 | 0.0890         | -0.5002 | 0.2393  | 0.3770  | -0.0314 |

I valori ottenuti dall'Analisi Canonica delle Corrispondenze sono stati utilizzati come coefficienti della seguente equazione che permette di stimare la componente principale chimica 1 da due delle componenti principali biologiche.

$$\text{Pcc1stim} = -0.4439 \cdot \text{Pcb1} - 0.6999 \cdot \text{Pcb4}$$

É illustrata la correlazione tra la componente chimica 1 stimata e quella osservata. I siti si distribuiscono lungo in gradiente crescente di salinità e decrescente di nitrati (fig. 43).



**Figura 43. Relazione tra prima componente chimica a partire da pcb1 e pcb4 e la prima componente chimica osservata. R=0,83.**



I valori di pcb1 e pcb4 possono essere stimati utilizzando i coefficienti delle singole specie maggiormente correlate con loro (tab. 12 ), ottenuti anche essi dalla PCA.

$$\text{Pcb1} = \text{coefficiente} * \text{abbondanza } x - 0,3341$$

$$\text{Pcb4} = \text{coefficiente} * \text{abbondanza } x + 0,1363$$

x= specie presa in esame

Le specie correlate maggiormente con pcb1 sono *Fragilaria capucina* Desmazieres var.*capucina*, *Fragilaria biceps* Lange-Bertalot, *Surirella brebissonii* Krammer & Lange-Bertalot.

Quelle maggiormente correlate con pcb4 troviamo *Achnanthes brevipes* Agardh, *Amphora coffeaeformis* Agardh, *Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot, *Navicula recens* Lange-Bertalot.

**Tabella 12. Coefficienti delle specie per stimare Pcb1 e Pcb4 dall' abbondanza delle specie**

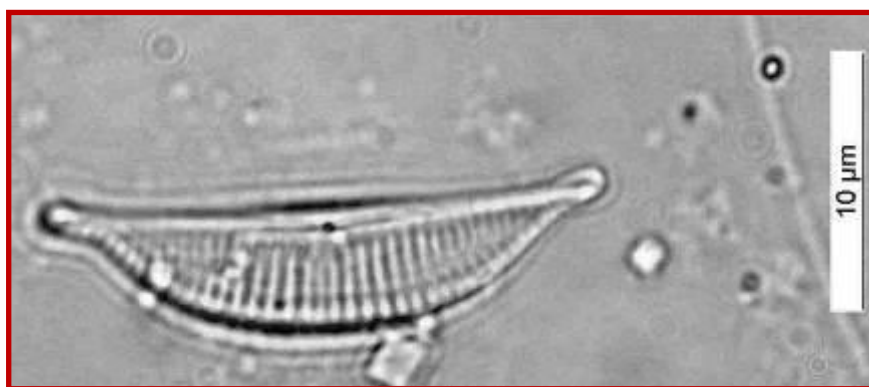
| <b>Pcb1</b>                                                    | <b>Coefficiente</b> | <b>Pcb4</b>                                      | <b>Coefficiente</b> |
|----------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|---------------------|
| <i>Fragilaria capucina</i> Desmazieres var.<br><i>capucina</i> | <b>0.7690</b>       | <i>Achnanthes brevipes</i> Agardh                | <b>-0.4498</b>      |
| <i>Fragilaria biceps</i> Lange-Bertalot                        | <b>0.7414</b>       | <i>Navicula cryptotenella</i> Lange-<br>Bertalot | <b>0.5579</b>       |
| <i>Surirella brebissonii</i> Krammer &<br>Lange-Bertalot       | <b>0.8312</b>       | <i>Navicula recens</i> Lange-Bertalot            | <b>-0.4264</b>      |

---

## 4.3 Diatomee potenzialmente tossiche

### 4.3.1 Identificazione

L'identificazione morfologica è stata effettuata seguendo le procedure descritte nel paragrafo “determinazione sistematica” in materiali e metodi. La specie è stata ritrovata ed identificata come specie potenzialmente tossica *Amphora coffeaeformis* Agardh (fig. 44), che di seguito viene descritta in dettaglio.



**Figura 44. *Amphora coffeaeformis* Agardh**

Il frustulo presenta la caratteristica forma a spicchio di arancia del genere *Amphora* la simmetria delle valve è dorso-ventrale, il margine dorsale è convesso, gli apici delle valve sono capitati. Il rafe si trova al margine ventrale delle valva, non sono visibili l'area centrale ne quella assiale. Le strie sono parallele tra di loro e perpendicolari al rafe (Krammer & Lange Bertalot, 1986, Witkowski *et al.*, 2000).

Le dimensioni di questa specie:

- Lunghezza: 14-55 µm
- Larghezza: 12-17 µm
- Numero di strie in 10 µm: 17-24 nella zona centrale, 22-30 nelle zone apicali

È stata ritrovata in tutti i siti delle diverse tipologie di acque di transizione studiate (tab. 13): caratteristica comune di questi siti è la salinità maggiore di 2 g/L.

---

**Tabella 13. Siti dove è stata identificata *Amphora coffeaeformis***

| <b>Codice</b> | <b>Sito</b>                          |
|---------------|--------------------------------------|
| FIU           | Rio Fiume                            |
| MIG           | Mignone                              |
| CSA           | Canale di Torre S' Anastasia         |
| CSI           | Fiume Sisto                          |
| CRM           | Canale Rio Martino                   |
| CFV           | Canale delle Acque Alte              |
| LLB           | Lago Lungo                           |
| LSA           | Lago di Sabaudia                     |
| LSC           | Lago di Sabaudia ( Catrattina)       |
| LOG           | Laguna di Orbetello (Giannella)      |
| LOO           | Laguna di Orbetello (Orbetello)      |
| LOF           | Laguna di Orbetello (Feniglia)       |
| LOL           | Laguna di Orbetello (Santa Liberata) |

#### **4.3.2 Isolamento**

Dai campioni ambientali si è proceduto all'isolamento di detta specie mettendo a punto un protocollo di seguito riportato.

---

### 4.3.3 Protocollo per l'isolamento di una specie da campione ambientale

Le attività sperimentali hanno consentito di mettere a punto un protocollo di isolamento di singole specie di diatomee da campioni ambientali e generare colture pure.

Tale protocollo è descritto secondo le norme UNI ISO 7667 (UNI ISO, 1987). Tutte le operazioni sono state condotte in condizioni di sterilità al fine di evitare fenomeni di contaminazione.

#### Definizione

- a) Identificazione delle specie, dal campione ambientale previa ossidazione: si prepara un vetrino permanente e si effettua l'identificazione morfologica (basata su lunghezza larghezza e numero di strie in 10  $\mu\text{m}$ ) delle specie diatomiche presenti nel campione.
- b) Isolamento: dal campione ambientale si isola mediante isolamento da multipozzetto una singola specie.
- c) Mantenimento della coltura: definizioni delle condizioni di crescita e scelta del mezzo di coltura.

#### Principio e Reazioni

Il metodo, si basa sull'isolamento per diluizioni seriali di un campione ambientale, che consente di discriminare la specie oggetto di esame da tutte quelle presenti nel campione ambientale.

#### Le fasi essenziali del metodo

- Individuazione della specie all'interno del campione e preparazione del campione ambientale
- preparazione del mezzo di coltura
- diluizioni seriali in mezzo di coltura
- isolamento ed identificazione della specie oggetto di esame
- preparazione e mantenimento della coltura pura e settaggio dei parametri di crescita.

#### Diluenti, terreni ed altri preparati

Per migliorare la riproducibilità dei risultati si suggerisce di utilizzare acqua prelevata nel medesimo sito dove si è effettuato il campionamento, per i lavaggi, le diluizioni e come mezzo colturale.

L'acqua filtrata (membrane di diametro 0,22 $\mu\text{m}$ ) risulta priva di sostanze ed organismi che possono inibire la crescita della specie in vitro.

La determinazione del pH deve essere effettuata utilizzando un pH-metro ed i valori riferiti alla temperatura di 25 $\pm$ 1°C.

Il mezzo di coltura non utilizzato subito deve essere conservato al buio a 4 $\pm$ 1°C per massimo un mese, in condizioni tali da evitare qualsiasi alterazione della composizione e fenomeni di contaminazione.

#### Apparecchiature e vetreria

Attrezzature di uso corrente in laboratorio di microbiologia e biologia.

#### Campionamento

Il campione ambientale si effettua su diversi substrati: ciottoli, macrofite e sedimento. In particolare ciottoli e se presenti macrofite e sedimento per i fiumi; substrati artificiali (pontili o massi degli argini) per i canali; macrofite e sedimento e ciottoli se presenti per i laghi costieri. La raccolta delle diatomee è stata così eseguita: Ciottoli e substrati artificiali: Le diatomee sono raccolte grattando la superficie superiore di questi con uno spazzolino e trasferite in contenitori sterili contenenti 10 mL di acqua raccolta nel medesimo sito. Macrofite: dalle macrofite radicate emergenti le diatomee

---

vengono prelevate grattando i fusti; dalle macrofite sommerse sono prelevate delle foglie e poste in una vaschetta di plastica, contenente acqua raccolta nel medesimo sito, in cui sono sciacquate e raschiate con lo spazzolino, il campione è poi raccolto in un contenitore sterile. Sedimento: ponendo una siringa sterile da 50 mL, privata dell'ago, tenuta inclinata diagonalmente, si aspira lo strato superficiale del sedimento e trasferito in un contenitore sterile, contenente acqua raccolta nel medesimo sito, e si effettuano lavaggi della siringa con acqua distillata per recuperare eventuali diatomee rimaste adese alla superficie.

### **Preparazione dei campioni per l'analisi**

Ogni campione è trasportato e conservato alla temperatura di  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  in posizione orizzontale, in modo da favorire l'adesione delle diatomee nella superficie maggiore del contenitore per alcuni giorni. Ogni campione viene osservato al microscopio invertito a 400 ingrandimenti, per l'accertamento della specie oggetto d'esame. In contemporanea viene preparato un vetrino permanente dallo stesso campione, al fine di effettuare l'identificazione morfologica della specie oggetto d'esame.

Prima dell'isolamento ogni campione viene grattato utilizzando una spatolina sterile, in tutte le superfici interne in condizioni di sterilità e opportunamente omogenizzato prima di prelevare l'aliquota utilizzata per l'isolamento.

### **Procedimento**

L'isolamento della specie viene eseguito con la tecnica "isolamento da multipozzetto" che prevede i seguenti passaggi.

- Il campione opportunamente omogenizzato viene mantenuto in agitazione e prelevati 2 mL e posti su una piastra Petri.
- Tale piastra viene posta su un microscopio invertito a 400 ingrandimenti e utilizzando una micropipetta automatica prelevati 20  $\mu\text{L}$  dove risulta presente la specie oggetto di studio.
- In contemporanea si prepara una piastra multipozzetto da 6 (2,5 mm) si aggiungono 2 mL di acqua filtrata, operando in condizioni di sterilità, e 20  $\mu\text{L}$  di campione sul primo pozzetto omogeneizzando il campione. Si procede poi alla diluizione seriali, si prelevano 20  $\mu\text{L}$  dal primo pozzetto e si trasferiscono nel secondo e così via fino all'ultimo pozzetto.
- Prima dell'incubazione le piastre multipozzetto sono nuovamente controllate con microscopio invertito a 400 ingrandimenti al fine di verificare la presenza della specie utilizzando i manuali di riconoscimento.
- La micropiastra viene messa ad incubare in un termostato alla temperatura di  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  a luce controllata (alternanza di luce/buio di 15/9 ore).
- Quotidianamente si controllano le micropiastre osservandole al microscopio, in genere è sufficiente una settimana affinché si verifichi l'aumento della concentrazione della specie oggetto, si procede all'isolamento.
- Si pone la multipiastra sul microscopio (400 ingrandimenti) e con una micropipetta capillare si preleva dalla piastra che risulta con un minor numero di altri organismi la specie oggetto di esame.
- L'aliquota prelevata contenente una o due esemplari della specie viene posta su una nuova piastra Petri ed aggiunti 4-5 mL di acqua filtrata (mezzo di coltura) e posta ad incubare come sopra descritto.
- Quotidianamente le piastre vengono controllate al microscopio per assicurare l'assenza di predatori (ad esempio rotiferi), nel caso in cui questi fossero presenti vengono effettuati dei

---

lavaggi della coltura utilizzando sempre l'acqua filtrata ed effettuando ogni passaggio in condizioni di sterilità.

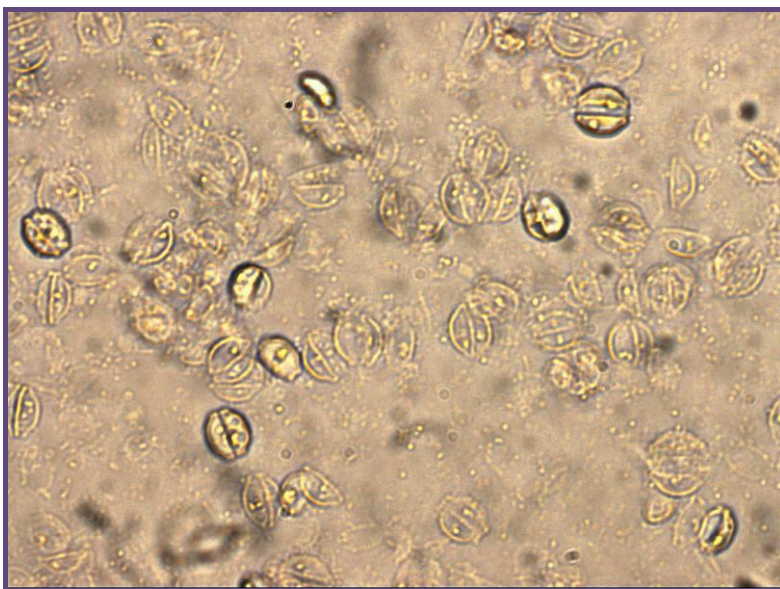
- Dopo circa 15 giorni, tempo minimo per la crescita delle diatomee, la piastra Petri contiene un numero di individui della stessa specie, sufficiente per effettuare un inoculo in una flask da 250 mL sterile. In particolare 2 mL di coltura vengono aggiunti in una flask contenente circa 150 mL di acqua filtrata.
- In contemporanea si effettua l'identificazione morfologica attraverso la preparazione di un vetrino permanente previa ossidazione, di 1 mL da cui si è originato l'inoculo.
- La coltura preparata nella flask viene posta, ponendo la superficie maggiore sul piano del termostato, ad incubare alla temperatura di  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  con alternanza di luce/buio. La posizione orizzontale della flask fa sì che la specie si stratifichi su tale superficie. Inoltre risulta utile nel momento che si presentano eventuali contaminazioni e/o rotiferi perché in questo modo i lavaggi possono essere eseguiti accuratamente.

### **Mantenimento delle colture pure**

La coltura pura viene settimanalmente controllata al microscopio ed agitata. Dopo circa 20-25 giorni si ottiene una coltura satura.

- Ogni coltura pura viene rigenerata prelevando da quella satura 2-3 mL e ponendoli in una nuova flask contenente l'acqua filtrata ed incubata nuovamente nelle medesime condizioni.

È stata ottenuta una coltura pura di *Amphora coffeaeformis* (fig. 45)



**Figura 45** Immagine al microscopio invertito a 400x di *Amphora coffeaeformis*

### 4.3.4 Caratterizzazione strumentale

Di seguito sono riportati i risultati ottenuti da LM-MS per la ricerca dell'acido domoico (AD). In particolare in figura (fig. 46) viene riportato lo spettro dello standard (AD) che presenta un picco dopo 4,13 min sia nella soluzione 15% che 100%.

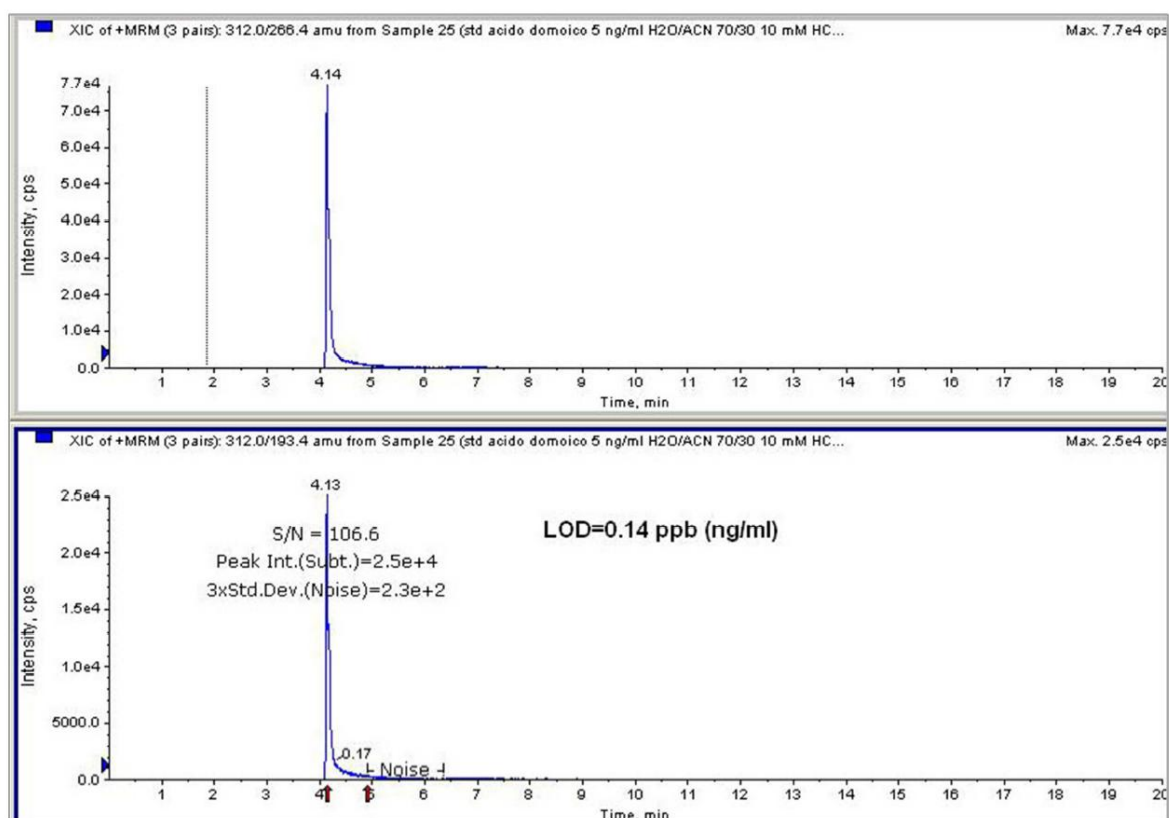
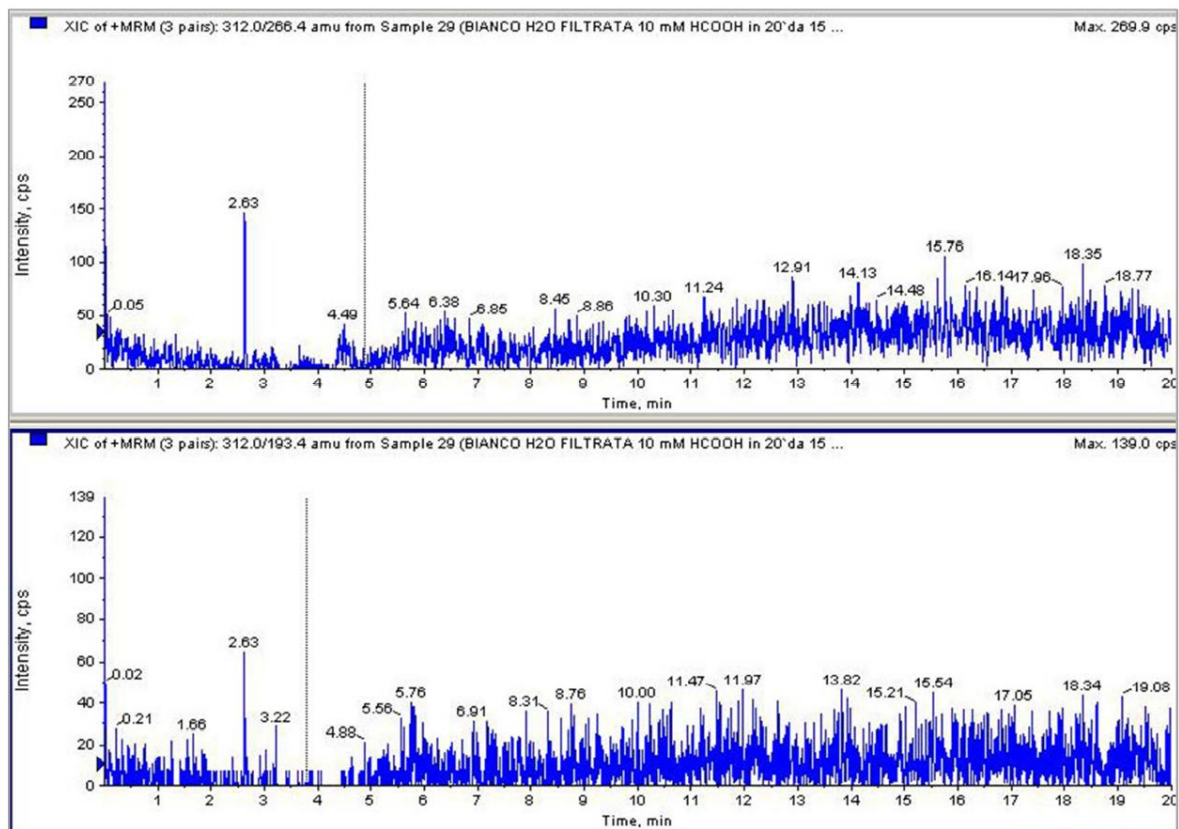


Figura 46. Spettro dello Acido domoico

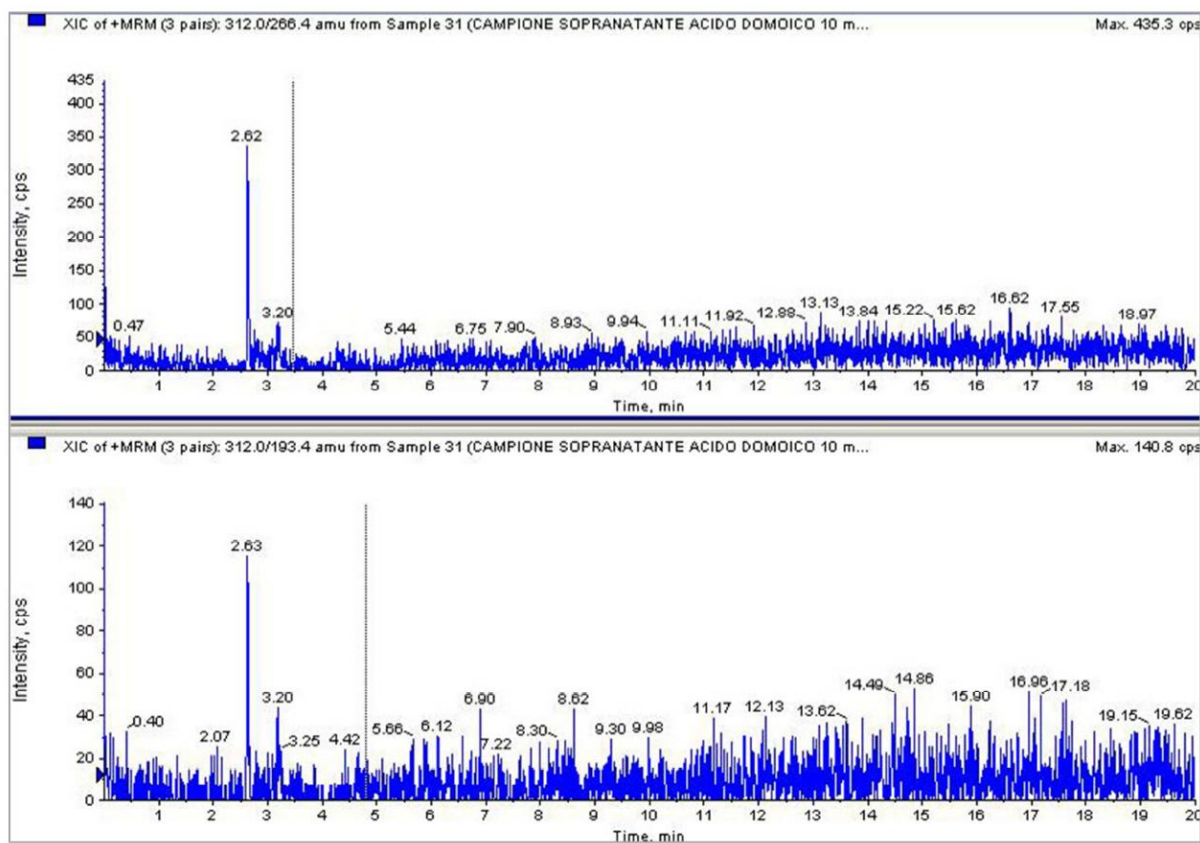
Nello spettro del bianco, ovvero acqua filtrata utilizzata come diluente, non si osserva la presenza dell'acido domoico ma solo rumore di fondo (fig. 47).



**Figura 47. Spettro dell' acqua filtrata.**

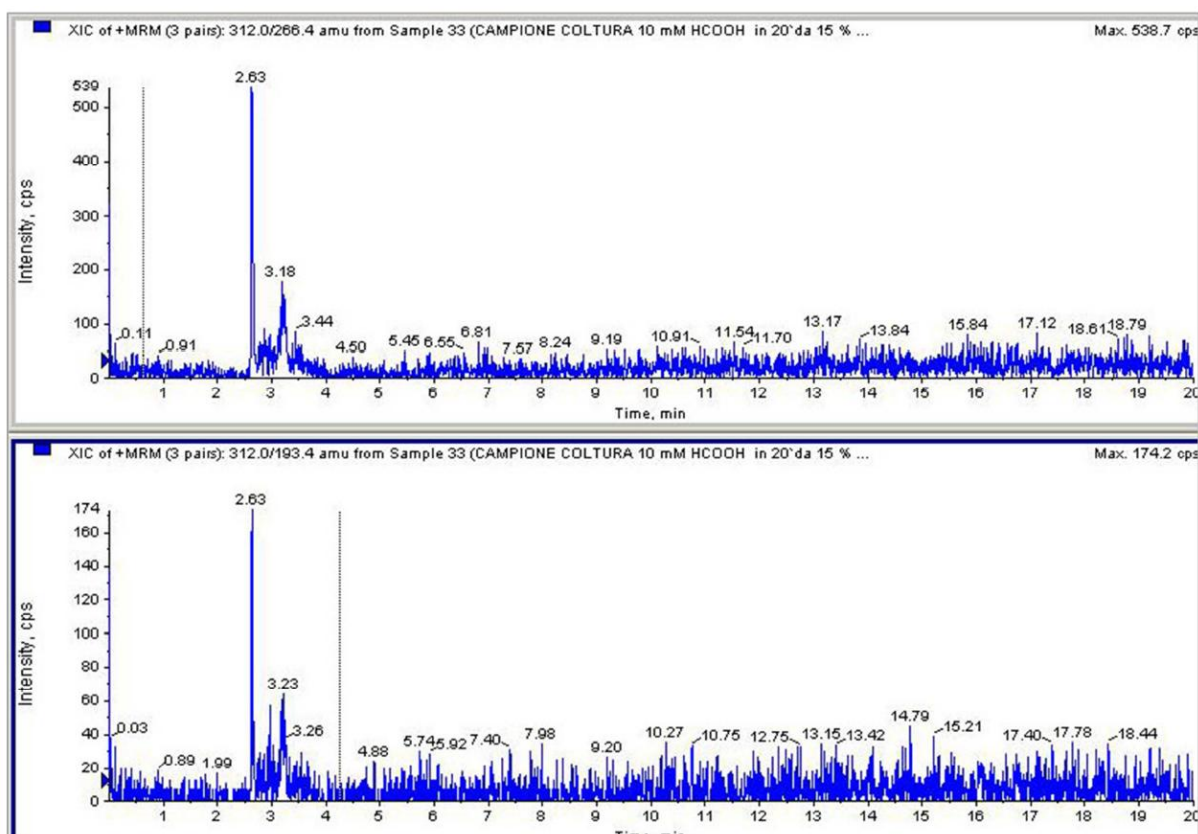
Lo spettro di seguito riportato si riferisce al sovranatante del campione di coltura pura, effettuato per valutare un eventuale presenza di AD extracellulare (fig. 48).





**Figura 48. Spettro del sovrinatante**

Infine lo spettro (fig 49) sottostante è il risultato dell'analisi di una coltura pura (20µl risospesi di un pellet 200 µl) di *Amphora coffeaeformis*.



**Figura 49. Spettro della coltura di *Amphora coffeaeformis***

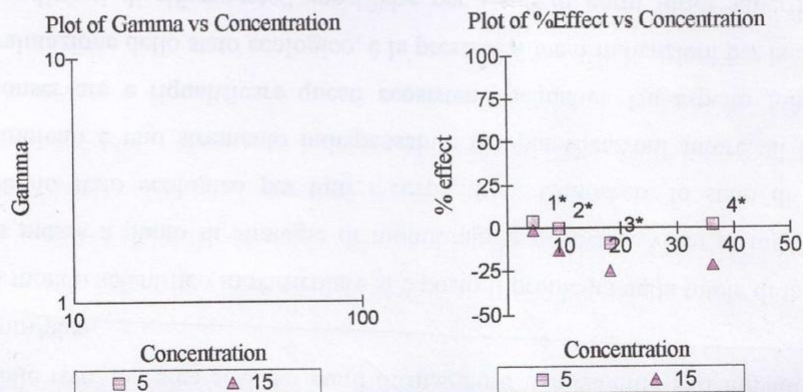
Come è evidente dallo spettro sopra riportato non vi sono picchi in corrispondenza del tempo di uscita riconducibili alla presenza di acido domoico intracellulare in questa coltura.

### 4.3.5 Caratterizzazione tossicologica

Di seguito vengono riportati i risultati ottenuti dal sistema Microtox della coltura di *Amphora coffeaeformis* (figg. 50-51).

Date: 25/11/2010 05.23 PM

Test Protocol: Basic Test  
Sample: Amphora pellet 1  
Toxicant: domoic acid  
Reagent Lot no.:  
Test description: Amphora pellet  
Data File: Untitled Data File



|         |       | 5 Mins Data: |       |          |          | 15 Mins Data: |          |          |  |
|---------|-------|--------------|-------|----------|----------|---------------|----------|----------|--|
| Sample  | Conc  | Io           | It    | Gamma    | % effect | It            | Gamma    | % effect |  |
| Control | 0.000 | 84,67        | 77,63 | 0.0000   | #        | 62,78         | 0.0000   | #        |  |
| 1       | 4.000 | 91,95        | 80,79 | 4.000 *  | 4.000%   | 68,99         | -1.000 * | -1.000%  |  |
| 2       | 9.000 | 92,67        | 85,05 | -1.000 * | 0.0000%  | 77,46         | 0.0000 * | -12.00%  |  |
| 3       | 18.00 | 88,22        | 87,84 | -7.000 * | -8.000%  | 81,94         | 0.0000 * | -25.00%  |  |
| 4       | 36.00 | 88,81        | 79,76 | 2.000 *  | 2.000%   | 80,11         | 0.0000 * | -21.00%  |  |

# - used in calculation; \* - invalid data; D - deleted from calcs.

Satistical calculations could not be performed on the 5 Mins data.  
Recommend re-testing at lower initial concentration or with additional dilutions.  
Hormesis detected.  
Lowest % effect: -8.000%

Satistical calculations could not be performed on the 15 Mins data.  
Recommend re-testing at lower initial concentration or with additional dilutions.  
Hormesis detected.  
Lowest % effect: -25.00%

There is no QA data available for this test.

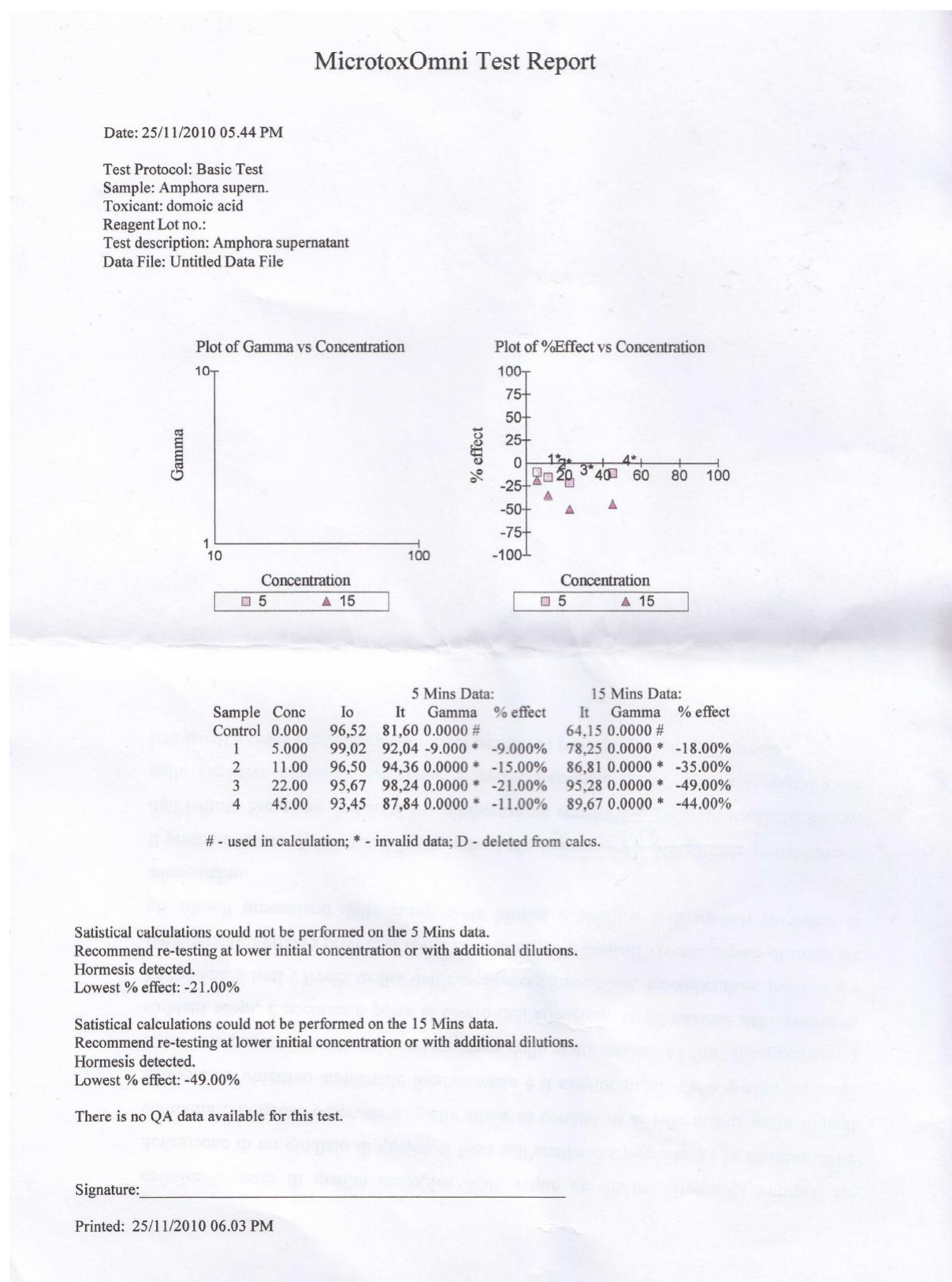
Signature: \_\_\_\_\_

Printed: 25/11/2010 05.42 PM

Figura 50 Risultato del Microtox effettuato sul coltura pura

Come si evince dai valori ottenuti non si sono registrate diminuzioni significative della produzione fotobatterica, riconducibili alla presenza di AD, della coltura saggiata.

Di seguito è riportata la scheda relativa al campione di sovratanante (fig. 51).



**Figura 51. Microtox sovratanante**



---

## 5. Discussioni

I risultati ottenuti da questo lavoro sperimentale in merito agli obiettivi proposti nello scopo sono di seguito affrontati.

*“Primo obbiettivo di questa tesi è stato quello di ampliare le conoscenze della componente floristica, attraverso lo studio delle comunità diatomiche”.*

Sono state riconosciute più di 11.000 valve di diatomee, ed identificate 219 tra specie e varietà, sia di acqua dolce che marina. Le conoscenze sull'ecologia di queste specie, si riferiscono principalmente a studi svolti sulle comunità di acqua dolce, in particolare dei corsi d'acqua.

Le specie di acqua dolce maggiormente ricorrenti in tutte le tre tipologie studiate, sono state: *Cocconeis placentula* Ehrenberg, *Nitzschia frustulum* Grunow, *Synedra fasciculata* Grunow. Studi effettuati sulla ecoregione mediterranea riportano la presenza di queste specie anche in ambienti salmastri (Trobajo, 2004; Miho & Witkowski, 2005; Fanuko & Valic, 2009). Sono state identificate in tutte e tre le tipologie studiate specie in grado di tollerare ampie variazioni di concentrazione di cloruri. In particolare: *Gomphonema parvulum* Kutzing, specie oligoalobia, che ha uno sviluppo ottimale a concentrazioni di cloruri compresi tra 50-200 mg/L è stata ritrovata nei fiumi, laghi costieri e canali; *Bacillaria paxillifera* Muller e *Craticula halophila*, specie βmeso-alobie, che hanno uno sviluppo ottimale a concentrazioni superiore a 500 mg/L, sono state ritrovate solo nei fiumi e nei canali, come anche *Cyclotella meneghiniana* Kutzing specie alofila, con un intervallo di tolleranza compreso tra 200 e 500 mg/L (Van Dam *et al.*, 1994; Dell'Uomo, 2004). Nei fiumi e nei canali sono risultate molto diffuse *Navicula veneta* Kutzing, *Navicula recens* Lange-Bertalot, *Luticola nivalis* Mann, *Eolimna minima* Lange-Bertalot, *Nitzschia amphibia* Grunow, specie caratteristiche di ambienti eutrofi. Un'unica specie *Achnanthydium minutissimum* Czarnecki, considerata poco tollerante all'inquinamento, è stata identificata nei fiumi oggetto di studio (Van dam *et al.*, 1994; Kelly *et al.*, 1995; Prygiel & Coste, 1999; Dell'Uomo, 2004).

L'assenza di specie che si sviluppa in ambienti reici, è quindi da attribuire alle caratteristiche naturali di questi ecosistemi e non dovuta a cause di origine antropica.

---

Le specie marine maggiormente identificate presenti nelle tre tipologie di acque di transizione studiate sono state *Amphora strigosa* Hustedt, *Brachysira aponina* Kutzing, *Delphineis surirella* Andrews. Nei canali e nei laghi costieri sono diffuse *Diploneis bombus* Ehrenberg e *Grammatophora marina* Kutzing. I laghi costieri sono caratterizzati dalla presenza di specie come *Cocconeis scutellum* Ehrenberg, *Lyrella Lira* Karayeva, *Navicula duerrenbergiana* Hustedt.

Hanno trovato in questa tipologia il loro habitat ottimale specie, appartenenti al genere *Seminavis*, identificato per la prima volta da Mann nel 1990 (Mann, 1990), per le quali non esiste ancora una conoscenza approfondita a livello di specie. Due autori hanno determinato due specie rispettivamente *Seminavis robusta* e *Seminavis barbara* (Witkowski *et al.*, 2000; Danielidis *et al.*, 2003).

In questo lavoro sono state ritrovate *Seminavis barbara* Witkowski e altre di specie non nota riportata in appendice come *Seminavis* sp.

La maggior parte di specie ritrovate sono classificate come tolleranti alle variazioni dei parametri ambientali: la scarsa velocità di corrente, l'elevato tasso di produttività primaria ed elevate concentrazioni di cloruri consentono lo sviluppo di organismi ad ampia valenza ecologica capaci di adattarsi a condizioni ambientali di transizione.

“Secondo obiettivo è stato quello di mettere a punto metodologie di analisi per queste comunità e valutare il loro impiego come indicatori biologici attraverso le loro relazioni e sensibilità nei confronti dei parametri ambientali propri di questi ecosistemi”.

L'analisi delle comunità diatomiche sono state realizzate apportando delle modifiche alle norme standard per i fiumi data la peculiarità, caratteristiche idromorfologiche, chimico e chimico-fisiche, delle tre tipologie di ecosistemi studiati.

Il primo adattamento ha riguardato la scelta del substrato da campionare identificando il più significativo per ogni tipologia di ambiente studiato ove possibile si sono utilizzati substrati naturali prediligendo i ciottoli quando non presenti il sedimento o le macrofite ed infine i substrati artificiali. L'ossidazione della materia organica, riportata nel metodo standard (APAT, 2007) che prevede l'utilizzo del perossido di idrogeno a caldo con aggiunta di HCl, non è risultata adatta ai campioni provenienti da siti con salinità maggiore di 10 g/L. In questo lavoro per l'ossidazione del campione si è operato utilizzando acido solforico ed acido nitrico come descritto in materiali e metodi, ottenendo ottimi vetrini permanenti che hanno

---

consentito una corretta analisi del vetrino per tutti i campioni a prescindere se provenienti da fiumi, canali, laghi costieri.

Tale metodologia ha consentito di poter analizzare la comunità diatomica in funzione della loro relazione con i parametri ambientali specifici di fiumi, canali e laghi costieri studiati.

Nelle foci fluviali sono state ritrovate il maggior numero di specie; le comunità composte principalmente da specie di acqua dolce, come atteso, scarsamente sensibili ad eccezione di *Achnantheidium minutissimum* Czarnecki. Caratterizzano queste comunità, come quelle di ecosistemi deltizi spagnoli, specie come *Nitzschia capitellata* Hustedt, *Tryblionella apiculata* Gregory, *Eolimna subminuscula* Lange-Bertalot (Rovira *et al.*, 2009). Dalla NMDS (fig. 35), le comunità del il Fiume Mignone (MIG) e del Rio Fiume (FIU) si discostano significativamente:

Il Mignone (MIG) presenta la salinità maggiore 9,8 g/L dove è dominante la specie di acqua marina *Brachysira aponina* Kutzing; il Rio Fiume (FIU) è caratterizzato da acque salmastre (4,9 g/L) basse concentrazioni di nitrati e fosfati (tab. 9) e soprattutto sfocia in un arenile non sabbioso, è caratterizzato da specie che si sviluppano nei fiumi a basse concentrazioni di nutrienti come *Achnantheidium minutissimum* Czarnecki e *Brachysira vitrea* Ross (Van Dam *et al.*, 1994).

Comunità dominate da specie tolleranti risultano il Fosso del Cavallo morto (FCM) con la più elevata concentrazione di nitrati (tab. 9), caratterizzato dall'abbondanza di specie tollerante come *Navicula viridula* Ehrenberg, *Navicula veneta* Kutzing, *Nitzschia amphibia* Grunow e *Nitzschia palea* W.Smith, *Sellaphora pupula* Mereschkowksy, *Eolimna minima* Lange-Bertalot e *Navicula erifuga* Lange-Bertalot ed il fosso del Pantanello (FCF) con valori elevati di fosfati, che presenta una comunità caratterizzata da specie di ambienti eutrofici come *Nitzschia umbonata* Lange-Bertalot, *Nitzschia amphibia* Grunow, *Sellaphora pupula* Mereschkowksy, *Navicula veneta* Kutzing, *Tryblionella apiculata* Gregory, *Amphora veneta* Kutzing e *Amphora libyca* Ehrenberg. La situazione maggiormente compressa dal punto di vista dei nutrienti (tab. 9) è quella del fiume Arrone (ARR), la comunità è dominata *Fallacia subhamulata* Mann e *Navicula veneta* Kutzing, specie di acque eutrofe (Cemagref, 1982; Van Dam *et al.* 1994; Kelly *et al.* 1995). Aggregate tra di loro (fig. 35) risultano le comunità delle foci dell' Isola d'Elba: in tutti e tre risultano abbondanti le specie del genere *Surirella*, *Surirella angusta* Kutzing, *Surirella brebissonii* var. *kuetzingii* Krammer et Lange-Bertalot, e *Surirella minuta* Brebisson. Nelle comunità del Rio Redinoce (RRE) ed il Rio Val di carpisi (RVC), che presentano un substrato caratterizzato da ciottoli, una delle specie più abbondanti è *Achnantheidium minutissimum* Czarnecki ad indicare basse concentrazioni di nutrienti.

---

Le comunità diatomiche dei canali sono composte da specie d'acqua dolce tolleranti all'inquinamento e specie marine. Le specie di acque dolci ritrovate sono *Tryblionella apiculata* Gregory, *Navicula recens* Lange-Bertalot, quella marine *Achnanthes brevipes* Agardh, *Brachisira aponina* Kützing, *Delphineis surirella* Andrews, *Navicula arenaria* Donkin (Zalat & Vildary, 2005). Le comunità diatomiche ritrovate in questi siti, mettono in luce la distribuzione delle specie a seconda del substrato: come si può osservare dalla *N-Multimetric Dimensional Scaling* (fig. 36), si discostano dalle altre, quella del Collettore delle Acque Alte (COLL) e del Canale Rio Martino (CRM). Il primo è l'unico canale che presenta una foce guadabile e naturale, la comunità è caratterizzata da specie tolleranti come *Luticola nivalis* Mann, *Tryblionella apiculata* Gregory, *Luticola mutica* Mann e da pochi individui appartenenti a specie marine come *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* Kützing e *Nitzschia granulata* Grunow.

Nel sito denominato Rio Martino la comunità diatomica studiata è risultata caratteristica, composta principalmente da *Fallacia tenera* Mann, *Navicula veneta* Kützing, *Navicula recens* Lange-Bertalot, *Tryblionella hungarica* Mann e *Nitzschia sigma* Smith. E' plausibile ipotizzare che la peculiare composizione della comunità sia dovuta ad un effetto riflesso degli interventi di rinaturalizzazione, effettuati sugli argini cementificati, che hanno dato origine allo sviluppo della vegetazione riparia, data la stretta relazione tra tale componente e quella diatomica.

Il substrato epilitico degli argini cementificati dei restanti canali (CFV, CSI ,CSA) raggruppa (fig. 36) le loro comunità caratterizzate dalla significativa presenza di specie marine come *Amphora strigosa* Hustedt, *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* Kützing ed *Amphora coffeaeformis* Agardh e da specie dulciacquicole eutrofiche, come *Navicula recens* Lange-Bertalot e *Nitzschia frustulum* Grunow.

Le comunità dei laghi costieri sono composte da specie marine, tra cui quelle più diffuse sono *Delphineis surirella* Andrews *Navicula duerrenbergiana* Hustedt, *Cocconeis scutellum* Ehrenberg, *Amphora coffeaeformis* Agardh, e quelle appartenenti al genere *Seminavis* tra cui *Seminavis barbara* (Witkowski et al., 2000; Facca & Sfriso, 2007).

Dalla NMDS (fig. 37), comunità simili caratterizzano i siti della Laguna Orbetello (LOG, LOL, LOF, LOO); si discostano dalle altre i siti del Lago di Fogliano ( LFO) e del lago di Sabaudia (LSP) probabilmente a causa del minor numero di specie ritrovate.



---

I risultati delle analisi chimico e chimico-fisiche non riescono a spiegare chiaramente come influenzino la struttura di queste comunità; la sensibilità delle diatomee marine a questi parametri è ancora da definire (Tomas *et al.*, 1988; Sabater *et al.*, 1990; Tolomio *et al.*, 2002).

Ulteriori analisi sono state svolte, riunendo i dati biologici ottenuti da tutte e tre le tipologie al fine di valutare la relazione tra queste ed i parametri ambientali.

I fiumi presentano elevate concentrazione di nitrati e fosfati e con minor salinità; i canali sono ambienti mesoalini e caratterizzati da significative concentrazioni di fosfati (figg. 38-39-40). I laghi costieri presentano maggiore salinità, basse concentrazioni di nitrati e fosfati e maggiori concentrazioni di ione ammonio (figg. 38-39-40-41). L'ordinamento ottenuto dalla Pca dei parametri ambientali, consente di distinguere le tre tipologie (fig. 42). Tale distribuzione avviene sul primo asse che risulta correlato positivamente secondo un gradiente di salinità e negativamente con nitrati e fosfati (tab. 10).

Nella Cluster Analysis effettuata con i dati delle abbondanze delle specie ritrovate (fig. 33), si osserva una prima significativa divisione in funzione della salinità ovvero laghi costieri e canali con maggiore salinità da un lato, e fiumi oligoalini dall'altro. Un'ulteriore suddivisione si osserva all'interno dello stesso gruppo tra laghi costieri e canali. Uno dei principali motivi risiede nella diversa concentrazione di nutrienti nelle due tipologie in particolare, basse concentrazioni di nitrati e fosfati nei laghi costieri ed elevate nei canali; ed alle caratteristiche idromorfologiche, lentiche nei primi e lotiche nei secondi. Dall'Analisi delle Componenti Principali (fig. 34) si evidenziano raggruppamenti simili, pur rilevando le stesse informazioni ottenute dalle NMDS effettuate sulle singole tipologie (figg. 35-36): il Collettore delle Acque Alte (COLL) è infatti separato dagli altri canali. Anche in questo grafico (fig. 33) discostano dagli altre foci fluviali il Rio fiume (FIU) ed il Mignone (MIG).

Tali risultati sono in accordo con quanto riportato in altri studi in merito alla distribuzione delle comunità lungo un gradiente di salinità e concentrazione di nutrienti (Admiraal & Peletier, 1980; Underwood *et al.*, 1998; Haubois *et al.*, 2005; Zalat & Vildary, 2005; Della Bella *et al.* 2007; Puccinelli, 2007; Fanuko & Valic, 2009; Rovira *et al.*, 2009). Per questo gradiente è stato possibile creare un modello lineare, che consente di stimare i valori della componente chimica da quella biologica (fig. 43).

*“Terzo obiettivo di questa tesi è stato quello di determinare la presenza di queste specie potenzialmente patogene nei siti oggetto di studio”*

---

Tra le specie identificate è stata individuata una specie potenzialmente tossica, *Amphora coffeaeformis* (Shimizu *et al.*, 1989; Maranda *et al.*, 1990).

Questa specie presenta ampia distribuzione in tutto il mondo, si sviluppa in ambiente acquatici d'acqua dolce e salmastri (Witkowski *et al.*, 2000): in Italia è stata ritrovata anche in Mar Adriatico (Buzzelli *et al.*, 1996). Dopo la prima identificazione tra le comunità sono state avviate ricerche specifiche con il prelievo di campioni dedicati da cui è stata isolata e messa in coltura. La crescita della coltura pura della specie ha reso possibile effettuare test strumentali ed ecotossicologici, per determinare la produzione della tossina.

I risultati mostrano l'assenza dell'acido domoico (figg. 48-49-50-51), tuttavia le informazioni sui fattori che determinano la produzione di neurotossine da parte delle diatomee sono ancora scarse, alcuni studi hanno riportato come l'acido domoico svolga ruolo di agente chelante per l'assimilazione di ferro, quando presente in scarse quantità, da parte delle cellule ed in elevate concentrazioni di rame, per inibire la sua assimilazione all'interno della cellula. Per questo aspetto sarebbero necessari ulteriori studi dedicati.

## 6. Conclusioni

Gli obiettivi prefissati nello scopo di questa tesi sono stati ampiamente conseguiti.

Sono state ampliate le conoscenze sulla distribuzione delle specie diatomiche presenti negli ambienti di transizione ed in particolare nelle tre tipologie oggetto del lavoro; ovviamente questa esperienza non può considerarsi esaustiva ma un punto di partenza per stilare una lista floristica a scala nazionale, di conseguenza dovrebbero essere favoriti e promossi studi sull'ecologia di base di questi ecosistemi. Notevole incentivo in questo campo, lo ha dato l'emanazione della Direttiva 2000/60/CE e dei suoi decreti attuativi.

Il secondo obiettivo ha consentito di selezionare parametri accessori fondamentali, senza dei quali lo studio delle comunità biologiche come indicatori ambientali sarebbe parziale.

I risultati hanno mostrato una stretta correlazione delle comunità diatomiche ai diversi fattori abiotici. Le diatomee hanno descritto l'estrema variabilità dei parametri ambientali che caratterizzano le foci fluviali in modo ottimale, rilevando per molti di questi situazioni compromesse. Per quanto riguarda i canali, che presentano sponde ed alvei cementificati, le specie diatomiche sono risultate essere un valido strumento di descrizione della qualità della

---

matrice acquosa. Non si è ottenuto lo stesso risultato negli ecosistemi lagunari, probabilmente attribuibile al minor numero di specie rinvenute nei siti studiati e alle scarse conoscenze sull'ecologia delle specie marine, che compongono queste comunità.

Questi risultati devono essere confrontati, a scala mediterranea, per valutare le migliori metodologie disponibili che renderebbero le comunità diatomiche degli ottimi descrittori del primo livello dello stato trofico di tutti gli ambienti acquatici di transizione.

Un punto di incontro sono i Gruppi Geografici di Intercalibrazione (*Geographical Intercalibration Groups*, GIGs) nati all'interno delle attività di implementazione della Direttiva 2000/60/CE a livello comunitario (*Common Implementation Strategy*, CIS). IL GIG Mediterraneo sulle acque di transizione è coordinata dall'Italia.

Il terzo obiettivo è stato dedicato alla messa a punto di un protocollo di isolamento e di allevamento che sono prodotti originali di questo lavoro.

La segnalazione di una così ampia distribuzione di *Amphora coffeaeformis* Agardh, potenzialmente patogena, e l'isolamento di questa specie rappresentano un punto di partenza per approfondire i meccanismi che fanno innescare la produzione di acido domoico da parte delle specie, e che sono ancora da indagare.

I risultati ottenuti rafforzano la relazione tra salute e ambiente mettendo l'accento sui principi base della Direttiva Acque (2000/60/CE) in cui un ecosistema in equilibrio, dove le comunità sono ben strutturate, la presenza di specie tossiche non risulta direttamente un rischio per la salute umana, come nel caso degli ambienti studiati. Da qui la necessità prioritaria del raggiungimento degli obiettivi di qualità buono entro il 2015 per tutti i corpi idrici significativi.

Gli ambienti di transizione hanno da sempre rappresentato una preziosa risorsa per le popolazioni locali, sia per le numerose attività produttive legate all'acquacoltura che per quelle ricreative. Di conseguenza la conoscenza sulla distribuzione delle specie potenzialmente patogene in questi ecosistemi diventa un forte strumento operativo.

---

## Bibliografia

1. Ade, P., Funari E., Poletti R., 2003. Il rischio sanitario associato alle tossine di alghe marine. *Annali Istituto Superiore di Sanità* 39(1):53-68.
2. Admiraal, W., Peletier H., 1980. Distribution of diatom species on an estuarine mud-flat and experimental analysis of the selective effect of stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 46:157–175.
3. Amzil, Z., Fresnel J., Le Gal D., & Billard C. 2001. Domoic acid accumulation in French shellfish in relation to toxic species of *Pseudo-nitzschia multiseries* and *P. pseudodelicatissima*. *Toxicon* 39:1245-1251.
4. Anderson, D.M., Glibert, P.M., Burkholder, J.M., 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition and consequences. *Estuaries* 25:562–584.
5. APAT 2007. Metodi biologici per le acque. Parte I. Disponibile sul sito: [www.apat.gov.it/site/\\_files/Pubblicazioni/Metodi\\_bio\\_acque/metodi\\_corsi\\_acqua.pdf](http://www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/metodi_corsi_acqua.pdf) . Ultimo accesso effettuato 19/01/2011
6. APAT 2007. Metodi biologici per le acque. Parte I. Disponibile sul sito: [www.apat.gov.it/site/\\_files/Pubblicazioni/Metodi\\_bio\\_acque/fiumi\\_diatomee.pdf](http://www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/fiumi_diatomee.pdf) . Ultimo accesso effettuato 19/01/2011.
7. Ayadi, H., Abid O, Elloumi J, Bouain A, Sime-Ngando T. 2004. Structure of the phytoplankton communities in two lagoons of different salinity in the Sfax saltern (Tunisia). *Journal of Plankton Research* 26(6):669–679.
8. Bargu, S., Marinovic B., Mansergh S., & Silver M.W., 2003. Feeding responses of krill to the toxin-producing diatom *Pseudo-nitzschia*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 284, 87-104.
9. Barron, S., Weber C., Marino R., Davidson E., Tomasky G., Howarth R., 2002. Effects of varying salinity on phytoplankton growth in a low-salinity coastal pond under two nutrient conditions. *Biological Bulletin* 203(2): 260–261.
10. Basset, A., Abbiati M., 2004. Challenges to transitional water monitoring: ecological descriptors and scales. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 14: S1–S3.
11. Basset, A., Sabetta L., Fonnesu A., Mouillot D., Do Chi T., Viaroli P., Giordani G., Reizopoulou S., Abbiati M., Carrada G.C., 2006. Typology in Mediterranean

- 
- transitional waters: new challenges and perspectives. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 16:441-455.
12. Bates, S. S., Garrison D. L., Horner R. A., 1998. Bloom dynamics and physiology of domoic-acid-producing *Pseudo-nitzschia* species. In Anderson DM., Cembella A. D., Hallegraeff G. M., (eds.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. G 41, 267-292. Springer-Verlag, Berlin.
  13. Bates, S., Gaudet J., Kaczmarek I., Ehrman J. M. 2004. Interaction between bacteria and the domoic-acid-producing diatom *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle; can bacteria produce domoic acid autonomously?. *Harmful Algae*. 3, 11-20.
  14. Boissonneault, K. R. 2004. Gene discovery and expression profiling in the toxin-producing marine diatom, *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle. Inst Technol., Cambridge, MA, USA: Massachusetts.
  15. Bourelly, P., 1981. Les algues d'eau douce. II. Les algues jaunes et brunes. Soc. Nouv. Ed. Boubée, Paris.
  16. Brambati, A. 1988. Lagune e stagni costieri: due ambienti a confronto. In *Le Lagune Costiere: Ricerca e Gestione*, Carrada G.C., Cicogna F., Fresi E. (eds). CLEM Pubblicazioni: Naples; 9-33.
  17. Bray, J.R., Curtis J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monography* 27:325-349.
  18. Bricker, S.B., J.G. Ferreira, and T. Simas. 2003. An Integrated Methodology for Assessment of Estuarine Trophic Status. *Ecological Modelling* 169:39-60.
  19. Brownlee, C., Taylor A.R., 2002. Algal calcification and silification. *ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES* 2002 Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group / [www.els.net](http://www.els.net)
  20. Buzzelli E, Gianna R, Marchiori E, Bruno M. 1997. Influence of nutrient factors on production of mucilage by *Amphora coffeaeformis* var. *perpusilla*. *Continental Shelf Research* 17:1171-1180.
  21. Cangelosi, G. A., Hamlin A. M., Marin R., Scholin C. A. 1997. Detection of stable pre-rRNA in toxigenic *Pseudo-nitzschia* species. *Applied and Environmental Microbiology* 63:4859-4865.
  22. CEMAGREF 1982. Étude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport Q. E. Lyon- A. F. Bassin Rhône- Méditerranée Corse. Lyon: CEMAGREF.

- 
23. Cerino, F., Orsini L., Sarno D. Dell'Aversano C., Tartaglione L., Zingone A., 2005. The alternation of different morphotypes in the seasonal cycle of the toxic diatom *Pseudo-nitzschia galaxiae*. *Harmful Algae* 4:33–48.
24. Cloern, J.E., 2001. Our evolving conceptual model of the costal eutrophication problem. *Marine Ecological Progress Series*, 210:223-253.
25. Danielidis, D.B., Mann D.G., 2003. New species and new combinations in the genus *Seminavis* Mann 1990 (Bacillariophyta). *Diatom Research* 18: 21–39.
26. Davidovich, N. A., & Bates S. S. 2002. *Pseudo-nitzschia* life cycle and the sexual diversity of clones in diatom populations In Garces E., Zingone A., Dale B., Montresor M., Reguera B. (eds.) Proc of the Life HAB workshop: Life history of microalgal species causing of harmful algal blooms. Office Publ Eur Comm, Luxemborug, 27-30.
27. Davis, J.C., 1986, Statistics and Data Analysis. In Geology John Wiley & Sons, S.F
- Ferson, F.J, Rohls & R.K Koehn 1985, Measuring shape variation of twodimensional outlines. *Systematic Zoology*, 34: 59-68.
28. Defeo, O., McLachlan A., Schoeman D.S., Schlacher T.A., Dugan J., Jones A., Lastra M., Scapini F., 2009. Threats to sandy beach ecosystems: A review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 81:1–12.
29. Dell'Uomo A., 2004. L'Indice Diatomico di Eutrofizzazione/Polluzione (EPI-D) nel monitoraggio delle acque correnti. Linee Guida. APAT, CTN AIM. 101 pp.
30. Della Bella V., Puccinelli C., Marcheggiani S., Mancini L., 2007. Benthic diatom communities and their relationship to water chemistry in wetlands of central Italy. *Annales de Limnologie International Journal of Limnology* 43 (2):95-105.
31. Deny, L., 2004. Relation of abundance-weighted averages of diatom indicator values to measured environmental conditions in standing freshwaters. *Ecological Indicators* 4: 225-275.
32. Descy, J.P., 1979. A new approach to water quality estimation using diatoms. *Nova Edwigia* 64:305-323.
33. Di Girolamo I., Iavarone I., Bernabei S., Volterra L., Mancini L., 1993. Qualità dei corsi d'acqua litoranei della provincia di Roma. *Ingegneria Sanitaria Ambientale* mar-apr. 93:68-76

- 
34. EFSA, 2009. Marine biotoxins in shellfish-domoic acid. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question No EFSA-Q-2006-065H) *The EFSA Journal* 1181: 1-61.
  35. Eloranta, P., 1999. Applications of diatom indices in Finnish rivers. In: Prygiel J., Whitton B.A. & Bukowska J. (eds) *Use of Algae for Monitoring Rivers III*, pp. 138-144.
  36. EN 13946, 2002. Water quality. Guidance Standard for the routine sampling and pre-treatment of benthic diatom samples from rivers, European Committee for Standardization, Brussels.
  37. EN 14407, 2004. Water quality. Guidance Standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. European Committee for Standardization, Brussels.
  38. EPA, US. 1996. A citizen guide to bioremediation (EPA 542-F42-007).
  39. Facca, C., Sfriso A., 2007. Epipelagic diatom spatial and temporal distribution and relationship with the main environmental parameters in coastal waters. *Estuarine, coastal and shelf science* 75:35-49.
  40. Fanuko, N., Valčić M., 2009. Phytoplankton composition and biomass of the northern Adriatic lagoon of Stella Maris, Croatia. *Acta Botanica Croatica* 68:29-44.
  41. Ferreira, J.G., Nobre A.M., Simas T.C., Silva M.C., Newton A., Bricker S.B., Wolff W.J., Stacey P.E., Sequeira, A., 2006. A methodology for defining homogeneous water bodies in estuaries e application to the transitional systems of the EU water Framework Directive. *Estuarine, Coastal & Shelf Science* 66:468-482.
  42. Forbes, J. R., & Denman K. L. 1991. Distribution of *Nitzschia pungens* in coastal waters of British Columbia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48: 960-967.
  43. GEOHAB (Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms Programme), 2006. HABs in Eutrophic Systems. P. Glibert (ed). IOC and SCOR, Paris and Baltimore.
  44. Glibert, P.M., Anderson D.A., Gentien P., Graneli, E., Sellner K.G., 2005. The global, complex phenomena of harmful algal blooms. *Oceanography* 18 (2):136–147.
  45. Gucci, P.M.B., Bruno M., Viglione D., Carlini E., Volterra L., 1991. Possibilità di impiego del “MICROTOX” con particolare riferimento agli studi ambientali. *Inquinamento* 9:82-4.

- 
46. Harper, D.A.T. (ed) 1999. Numerical Palaeobiology, John Wiley & Sons.
47. Haubois, A.G., Sylvestre F., Guarini J.M., Richard P., Blanchard G.F., 2005. Spatio-temporal structure of the epipellic diatom assemblage from an intertidal mudflat in Marennes- Oleron Bay, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64:385–394.
48. Herbst, D.B., Blinn D.W., 1998. Experimental mesocosm studies of salinity effects on the benthic algal community of a saline lake. *Journal of Phycology*. 34:772-778.
49. Hustedt F. 1930. Die Kieselalgen. Deutschlands, Österreichs und der Schweiz unter Berücksichtigung der übrigen Länder Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete. 1. Teil. Akad. Verlag, Leipzig.
50. Italia, 1971. Decreto del Presidente della Repubblica del 13 marzo 1976, n 448. Esecuzione della convenzione relativa alle zone umide di importanza internazionale, soprattutto come habitat degli uccelli acquatici, firmata a Ramsar il 2 febbraio 1971. (Gazzetta Ufficiale n. 173 del 13-03-1976).
51. Italia, 1987. Decreto del Presidente della Repubblica del 11 febbraio 1987, n. 184 . Esecuzione del protocollo di emendamento della convenzione internazionale di Ramsar del 2 febbraio 1971 sulle zone umide di Importanza internazionale, adottato a Parigi il 3 dicembre 1982. (Gazzetta Ufficiale n 111 del 15 maggio 1987).
52. Italia, 2006. Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. (Gazzetta Ufficiale n. 88 del 14-4-2006- Supplemento Ordinario n. 96).
53. Italia, 2008. Decreto Ministeriale del 11 Agosto 2008, n. 131. «Regolamento recante i criteri tecnici per la caratterizzazione dei corpi idrici (tipizzazione, individuazione dei corpi idrici, analisi delle pressioni) per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante: Norme in materia ambientale , predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del decreto legislativo medesimo». (Gazzetta Ufficiale n. 187 del 11-08-2008, Supplemento Ordinario n 189).
54. Italia, 2009. Decreto Ministeriale del 14 aprile 2009, n. 56. Regolamento recante «Criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici e l'identificazione delle condizioni di riferimento per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante Norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del decreto legislativo medesimo». (Gazzetta Ufficiale n 124 del 30-05-2009, Supplemento Ordinario n. 83).
55. IUCN, 1971. Convention on Wetlands of International Importance especially as Waterfowl Habitat. Ramsar (Iran).



- 
56. Jeffrey, S.W., Hallegraeff G.M., 1990. Phytoplankton ecology of Australasian waters. In: Clayton M.N., King R.J. (eds), *Biology of Marine Plants*. Longman, Australia. 310-348.
57. Kelly, M., Bennett C., Coste M., Delmas F., Denys L., Ector L., Fauville C., Ferreol M., Golub M., Kahlert M., Lucey J., Ni Chathain B., Pardo I., Pfister P., Picinska-Faltynowicz J., Schranz C., Schaumburg J., Tison J., van Dam H., Vilbaste S., 2006. Central/Baltic GIG Phytobenthos Intercalibration Exercise - final report. Bowburn Consultancy Durham.
58. Kelly, M.G. & Whitton B.A., 1995. The Trophic Diatom Index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *Journal of Applied Phycology* 7:433-444.
59. Kelly, M.G., Cazaubon A., Coring E., Dell'Uomo A., Ector L., Goldsmith B., Guasch H., Hurlimann J., Jarlman A., Kawecka B., Kwandrans J., Laugaste R., Lindstrom E.A., Leitao M., Marvan P., Padisák J., Pipp E., Prygiel J., Rott E., Sabater S., van Dam H., Vizinet J., 1998, Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology* 10:215-224.
60. Knox G.A., 1986. Estuarine ecosystems: a system approach. CRC Press, Boca Raton.
61. Kotaki, Y., Lundhol N., Onodera H., Kobayashi K., Bajarias F.F.A., Furio E.F., Iwataki M., Fukuyo Y., Kodama M., 2004. Wide distribution of *Nitzschia navis-varingica*, a new domoic-acid-producing benthic diatom found in Vietnam. *Fisheries Science* 70:28-32.
62. Krammer K., Lange-Bertalot H., 1986. Bacillariophyceae 1 Teil: Naviculaceae In: Ettl H. (ed.), *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag.
63. Krammer, K., Lange-Bertalot H., 1988. Bacillariophyceae 2 Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In: Ettl H. (ed.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag.
64. Krammer, K., Lange-Bertalot H., 1991a Bacillariophyceae 3 Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In: Ettl H.(ed.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag.
65. Krammer K., Lange-Bertalot H., 1991b. Bacillariophyceae 4 Teil: Achnathaceae Kritische Ergänzungen zu *Navicula* und *Gomphonema* In: Ettl H. (ed.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag.
66. Kwandrans J., Eloranta P., Kawecka B., Wojtan K., 1999. Use of benthic diatom communities to evaluate water quality in rivers of southern Poland. In: Prygiel J., Whitton B.A. & Bukowska J. (eds). *Use of Algae for Monitoring Rivers III*: 154-165.

- 
67. Lange-Bertalot, H. (ed.), 2000. Diatoms of Europe: diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats edited by Horst Volume 1: Krammer, Kurt: The Genus *Pinnularia* Ruggell Gantner Verlag.
68. Lange-Bertalot, H. (ed.), 2001. Diatoms of Europe: diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats edited by Horst Volume 2: Lange Bertalot, Horst: *Navicula sensu stricto*, 10 Genera Separated from *Navicula sensu stricto*, *Frustulia*. Ruggell Gantner Verlag.
69. Lange-Bertalot H. (ed.), 2002. Diatoms of Europe: diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. Volume 3: Krammer, Kurt: *Cymbella* Ruggell: Gantner Verlag.
70. Lange-Bertalot H. (ed.), 2003. Diatoms of Europe: diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats Elsewhere Volume 4: Krammer, Kurt: *Cymbopleura*, *Delicata*, *Navicymbula*, *Gomphocymbellopsis*, *Afrocymbella*, Supplements to *Cymbelloid* taxa Ruggell Gantner Verlag.
71. Lapworth, C., Hallegraeff G. M. J., Ajani P.A., 2001. Identification of domoic-acid-producing *Pseudo-nitzschia* species in Australian waters. In Hallegraeff G.M., Blackburn S.I., Bolch C.J., Lewis D., (eds). *Harmful Algal Blooms 2000: Proceedings of the Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms*. 38-41.
72. Leclercq L. & Maquet B., 1987 - Deux nouveaux indices chimique et diatomique de qualité d'eau courante. Application au Samson et à ses affluents. *Institut royal des sciences naturelles de Belgique, document de travail* 38:1-13.
73. Lundholm, N., Hansen P. J., Kotaki Y., 2004. Effect of pH on growth and domoic acid production by potentially toxic diatoms of the genera *Pseudo-nitzschia* and *Nitzschia*. *Marine Ecology Progress Series* 273:1-15.
74. Lundholm, N., Hansen P.J., Kotaki Y., 2005. Lack of allelopathic effects of the domoic acid-producing marine diatom *Pseudo-nitzschia multiseries*. *Marine Ecology Progress Series* 288:21-33.
75. Mancini L., Arcà G. 2000. Carta della qualità biologica dei corsi d'acqua della Regione Lazio. Roma. Istituto Superiore Sanità.
76. Mann D.G., 1990. Description of *Seminavis* genera. In Round, F.E., Crawford R.M. & Mann D.G. *The diatoms: biology and morphology of the genera*. University Press, Cambridge. 572-573.

- 
77. Maranda, L., Wang, R., Masuda, K., Shimizu, Y. 1990. Investigation of the source of domoic acid in mussels. In Granéli, E., Sundström B., Edler L. Anderson D. M.(eds.) Toxic Marine Phytoplankton. Elsevier, New York, 300–304.
78. McLusky, D.S, Elliott M., 2007. Transitional waters: A new approach, semantics or just muddying the waters? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 71:359-363
79. Miho, A., Witkowski, A. 2005. Diatom (Bacillariophyta) flora of Albanian coastal wetlands taxonomy and ecology: A review. *Process Californian. Academy Sciences* 56: 129–145.
80. Munari, C., Modugno S., Ghion F., Castadelli G., Fano E.A., Rossi R., Mistri M., 2003 . Recovery of the macrobenthic community in the Valli di Comacchio, northern Adriatic Sea, Italy, *Oceanologica Acta* 26:67-75.
81. Paerl, H., Valdes L.M., Peierls B.L., Adolf J.E., Harding L.W., 2006. Anthropogenic and climatic influences on the eutrophication of large estuarine systems, *Limnological Oceanographic* 51:448–462.
82. Paerl, H.W., 1988. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. *Limnological Oceanographic* 33:823–847.
83. Pan Y.L., Rao D.V.S., Mann K. H., 1996. Acclimation to low light intensity in photosynthesis and growth of *Pseudo-nitzschia multiseries* Hasle, a neurotoxicogenic diatom, *Journal of Plankton Research* 18: 1427-1438.
84. Poulsen N.C., Spector H., Spurck T.P., Schultz T.F., Wetherbee R., 1999. Diatom motility is the result of an actin-myosin system. *Cell Motility and the Cytoskeleton* 44: 23-33.
85. Prygiel J., Coste M., 1999. Progress in the use of diatoms for monitoring rivers in France. In: Prygiel, J., Whitton B.A., Bukowska J. (eds) Use of Algae for Monitoring Rivers III, pp. 165-179.
86. Puccinelli, C., 2007. Diatomee e macroinvertebrati delle zone umide e delle acque di transizione. Tesi di Laurea, Università degli Studi La Sapienza di Roma.
87. Rott, E., Pipp E., 1999. Progress in the use of benthic algae for monitoring rivers in Austria. In: Prygiel J., Whitton B.A., Bukowska J. (eds) Use of Algae for Monitoring Rivers III, pp. 110-112.
88. Rott, E., 1991. Methodological aspects and perspectives in the use of periphyton for monitoring and protecting rivers. In: Whitton, B.A., Rott E., Friedrich G. (eds), Use of algae for monitoring rivers :9-16.

- 
89. Round, F.E., Crawford R.M. & Mann D.G., 1990. The diatoms: biology and morphology of the genera. Cambridge University Press.
90. Rovira, L., Trobajo R., Ibáñez C., 2009. Periphytic diatom community in a Mediterranean salt wedge estuary: the Ebro Estuary (NE Iberian Peninsula). *Acta botanica Croatica* 68 (2):285–300.
91. Rue, L., Bruland K.W., 2001. Domoic acid binds iron and copper: a possible role for the toxin produced by the marine diatom *Pseudonitzschia*. *Marine Chemistry* 76: 127-134 .
92. Sabater, S., Tomas X., Cambra J., Lange Bertalot H. 1990. Diatom flora of the cape of Creus peninsula Catalonia, (N.E. of Spain). *Nova Hedwigia* 51:165-195.
93. Sabater, S., 2000. Diatom communities as indicators of environmental stress in the Guadiamar River, S-W Spain, following a major mine tailings spill. *Journal of Applied Phycology* 12:113-24.
94. Sarno, D., Dahlman, J., 2000 Production of domoic acid in another species of *Pseudonitzschia*: *P. multistriata* in the Gulf of Naples (Mediterranean Sea). *Harmful Algae News* 21:5.
95. Scapini, F., 2009. Sustainable management of Mediterranean coastal fresh and transitional water bodies: a socio-economic and environmental analysis of changes and trends to enhance and sustain stakeholder benefits. In: Scapini, F. & Ciampi, G. (Eds.): Coastal Water Bodies Nature and Culture Conflicts in the Mediterranean. Springer, The Hague, 1-5.
96. Shimizu, Y., Gupta S., Masuda K., Walker C.K., Wang R. 1989. Dinoflagellate and other microalgal toxins: chemistry and biochemistry. *Pure Applied Chemistry* 61:513-516.
97. Stauber, J.L., Jeffrey S.W., 1988. Photosynthetic pigments in fifty-one species of marine diatoms. *Journal Of Phycology* 24:158-172.
98. Tagliapietra, D., Volpi Ghirardini A., 2006. Notes on coastal lagoon typology in the light of the EU Water Framework Directive: Italy as a case study. *Aquatic conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 16:457-467.
99. Tolomio, C., Moschin E., Duzzini B., 2002. Distribution des diatomées benthiques de substrates meubles dans le bassin sud de la Lagune de Venise, Italie. *Diatom research* 17(2):401-414.
100. Tomas, X., Cambra J., Sabater S. 1988. Comunidades algales del Cabo de Creus (entre loss 0 y 100m de altitud) y la su relacion con el ambiente. *Limnetica* 3:111-119.

- 
101. Tomasino, M., 1995. Acque di Transizione. In: R. Marchetti. "Ecologia Applicata. Società Italiana di Ecologia." Ed. CittàStudi, 151-176.
102. Tonolli V., 1975. Introduzione allo studio della limnologia: ecologia e biologia delle acque dolci. Edizioni dell'Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza.
103. Trobajo, R., Quintana X.D., Sabater S., 2004: Factors affecting the periphytic diatom community in Mediterranean coastal wetlands (Empordà wetlands, NE Spain). *Archiv fur Hydrobiologie* 160:375–399.
104. UNCCD/CBD 2004. Workshop on forests and forest ecosystems:promoting synergy in the implementation of the three Rio conventions. United Nations Convention to Combat Desertification/ Convention on Biological Diversity, Final Report, 5-7 April 2004, Viterbo, Italy.
105. Underwood, G.J.C., Philips J., Saunders K., 1998. Distribution of estuarine benthic diatom species along salinity and nutrient gradients. *European Journal of Phycology* 33: 173-183.
106. UNI-ISO 7667, 1987. Microbiologia. Schema per i metodi di esame microbiologico. Ente Nazionale Italiano di Unificazione, Italy.
107. Unione Europea, 1992 Direttiva n°92/43/CEE del 27/05/1992 relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali, nonché della flora e della fauna selvatiche (Direttiva Habitat).
108. Unione Europea, 2000. Allegato II Direttiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque.OJ, L 327 (22.12.2000).
109. Unione Europea, 2000. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque.OJ, L 327 (22.12.2000), pp. 1-72.
110. Van Dam, H., Mertens A., Sinkeldam J., 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. Netherlands. *Journal of Aquatic.Ecology* 28:117-133.
111. Viaroli, P., Bartoli M., Giordani G., Magni P., Welsh DT., 2004. Biogeochemical indicators as tools for assessing sediment quality/vulnerability in transitional aquatic ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 14:S19–S29.
112. Vrieling, E.G., Koeman R.P.T., Peperzak L., Veenhuis M., Scheerman P., Gieskes W.W.C., 1996. *Pseudo-nitzschia pungens* forma multiseries and other *Pseudo-*

- 
- nitzschia* species in the Dutch Wadden Sea. In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (Ed.). Harmful and toxic algal blooms. Proceedings of the VII International Conference on Toxic Phytoplankton. Sendai, Japan, 12-16 July 1995. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO: 139-142.
113. Wetherbee R., Lind J.L., Burke J., Quatrano R.S., 1998. The first kiss: establishment and control of initial adhesion by raphid diatoms. *Journal of Phycology* 34:9-15.
114. Witkowski A., Lange-Bertalot H., Metzeltin D., 2000. Diatom Flora Ofmarine Coasts I. Iconographia Diatomologica 7. Rugell, A.R.G. Gantner Verlag K.G
115. Wright, J.L.C., Boyd R.K., De Freitas A.S.W., Falk M., Foxall R.A., Jamieson W.D., Loycock M.V., McCulloch A.W., McInnes A.G., Odense P., Pathak V.P., Quilliam M.A., Ragan M.A., Sim P.G., Hibault P., Walter J.A., Gilgan M., Richard D.G.A., Dewar D., 1989. Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, toxic mussels from eastern Prince Edward Island. *Canadian Journal of Chemistry* 67:481-90.
116. Zalat, A., Vildary S.S., 2005. Distribution of diatom assemblages and their relationship to environmental variables in the surface sediments of three northern Egyptian lakes. *Journal of Paleolimnology* 34:159–174.
117. Zingone, A., Siano, R., D'Alelio, D., Sarno, D. Potentially toxic and harmful microalgae from coastal waters of the Campania region (Tyrrhenian Sea, Mediterranean Sea). *Harmful algae* 5:321-337.

---

## Ringraziamenti

Il più profondo e sincero grazie, va alla Dott.ssa Laura Mancini, Tutor di questo Dottorato, per la supervisione scientifica di questo lavoro. Le sono particolarmente grata per la sua attenzione e i suoi utili suggerimenti durante tutto lo svolgimento della ricerca, e l'interessamento personale affinché questa fosse completata.

Ringrazio tutto il Reparto di Qualità ambientale ed Ittiocoltura del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria dell'Istituto Superiore di Sanità ed in particolare:

la Dott.ssa Milena Bruno per il supporto nell'analisi di ecotossicologia;

Stefania Marcheggiani, per tutto il supporto dato e per la pazienza dimostrata;

Elio Pierdominici, Anna Maria D' Angelo e Raffaele Scenati per la disponibilità e l' aiuto nella parte sperimentale;

Claudia e Filippo per la collaborazione e la disponibilità mostrata.

Un ulteriore ringraziamento:

Al Prof. Claudio Gualerzi, al dott. Roberto Spurio per avermi ospitata presso il Dipartimento di Bioscienze e Biotecnologie dell' Università di Camerino, dove mi hanno messo a disposizione gli strumenti e favorito le migliori condizioni di lavoro.

Al Dott. Alessandro Giuliani, per il supporto nell' analisi statistica.

Al Reparto di Acque Potabili ed Interne dell' Istituto Superiore di Sanità per lo svolgimento dell' analisi mediante LC-MS.

---



---

## **Appendice 1**

### **Liste Floristique**

**Elenco delle specie ritrovate nei fiumi e le loro abbondanze**

| Nome delle Specie                                                                       | RSC | FCM | FIN | FTO | FCF | ARR | FIU | MIG | MAR | TAR | RVC | RRE | FGA |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>Achnanthes brevipes</i> (Agardh) Kützing                                             |     |     |     |     | 3   |     |     | 3   |     |     |     |     |     |
| <i>Planothidium frequentissimum</i> (Lange-Bertalot) Round & Bukhtiyarova               |     | 11  | 6   |     | 13  | 7   |     |     |     |     |     | 20  | 25  |
| <i>Planothidium lanceolatum</i> (Kütz. ex Bréb.) L.-B.                                  |     |     |     | 3   |     | 3   |     |     |     |     | 1   |     | 21  |
| <i>Achnanthes lanceolata elliptica</i> (Brébisson) Grunow                               | 14  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <i>Planothidium rostratum</i> (Oestrup) Lange-Bertalot                                  |     |     |     |     |     |     |     | 13  | 3   |     | 1   | 7   | 7   |
| <i>Achnanthidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki                                   | 11  | 10  |     |     |     |     | 61  | 8   |     |     | 36  | 41  | 4   |
| <i>Amphora veneta</i> Kützing                                                           |     | 6   |     |     | 18  |     |     |     |     |     | 1   | 3   | 4   |
| <i>Amphora coffeaeformis</i> (Agardh) Kützing var. <i>coffeaeformis</i>                 |     |     |     |     |     |     | 1   | 5   |     |     |     |     |     |
| <i>Amphora inariensis</i> Krammer                                                       |     |     |     |     |     | 1   |     | 7   | 2   |     | 1   | 11  | 5   |
| <i>Amphora libyca</i> Ehr.                                                              |     | 4   |     | 14  | 9   |     |     |     |     |     |     | 3   | 6   |
| <i>Amphora montana</i> Krasske                                                          | 1   |     | 2   |     |     |     |     |     | 1   |     |     | 1   |     |
| <i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow                                               |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     |     |     |     | 3   |
| <i>Amphora strigosa</i> Hustedt                                                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <i>Bacillaria paxillifera</i> (O. F. Müller) Hendey                                     |     | 43  |     | 1   |     |     | 2   |     | 2   |     |     |     |     |
| <i>Brachysira aponina</i> Kützing 1836                                                  |     |     |     |     |     |     |     | 160 |     | 5   |     |     |     |
| <i>Brachysira vitrea</i> (Grunow) Ross in Hartley                                       |     |     |     |     | 13  |     | 51  |     |     |     |     |     |     |
| <i>Caloneis amphisbaena</i> (Bory) Cleve                                                |     | 1   |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     |     | 4   |
| <i>Caloneis bacillum</i>                                                                |     |     | 1   | 1   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <i>Caloneis silicula</i> (Ehr.) Cleve                                                   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 2   |
| <i>Cocconeis pediculus</i> Ehrenberg                                                    |     | 5   |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     |     |     |
| <i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg var. <i>placentula</i>                            |     |     |     | 79  | 2   |     |     |     |     |     |     | 3   |     |
| <i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg var. <i>lineata</i> (Ehr.) Van Heurck             |     | 13  |     |     |     |     | 1   | 20  | 26  |     |     |     | 9   |
| <i>Cyclotella kuetzingiana</i> Thwaites                                                 | 2   | 1   | 3   |     | 18  | 1   | 11  | 11  | 4   |     |     |     |     |
| <i>Cymatopleura solea</i> (Brébisson) W. Smith var. <i>solea</i>                        |     |     |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     |     |     |
| <i>Cymbella affinis</i> Kützing var. <i>affinis</i>                                     |     |     |     |     |     |     | 9   |     |     |     |     |     |     |
| <i>Cymbella microcephala</i> Grunow                                                     | 1   |     |     |     |     |     | 6   | 19  |     |     |     |     |     |
| <i>Encyonema minutum</i> (Hilse) Mann                                                   |     |     |     |     |     |     |     | 7   |     |     |     |     |     |
| <i>Denticula tenuis</i> Kützing                                                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     |
| <i>Diatoma mesodon</i> (Ehrenberg) Kützing                                              |     |     |     |     |     |     |     |     | 3   |     |     |     |     |
| <i>Diploneis minuta</i> Petersen                                                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 3   |     |     |
| <i>Diploneis oblongella</i> (Naegeli) Cleve-Euler                                       |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     | 15  |     |     |     |
| <i>Epithemia adnata</i> (Kützing) Brébisson                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 3   |
| <i>Eunotia arcus</i> Ehrenberg var. <i>arcus</i>                                        |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 5   |     |
| <i>Fragilaria (Synedra) fasciculata</i> (Agardh) Lange-Bertalot                         | 1   |     |     |     |     |     | 14  | 24  |     | 33  | 1   |     | 1   |
| <i>Fragilaria (Synedra) fasciculata</i> var. <i>gracillima</i> (Agardh) Lange-Bertalot  |     |     |     |     |     |     | 99  |     |     |     |     |     |     |
| <i>Ulnaria biceps</i> (Kützing) Compère                                                 |     |     | 1   | 3   |     |     |     |     |     |     | 20  | 7   | 1   |
| <i>Fragilaria capucina</i> Desmazieres var. <i>capucina</i>                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 7   |     | 5   |
| <i>Fragilaria construens</i> (Ehr.) Grunow f. <i>construens</i> (Staurosira)            |     |     |     |     | 34  |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <i>Fragilaria crotonensis</i> Kitton                                                    |     |     | 1   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| <i>Pseudostaurosira parasitica</i> (W. Smith) Morales                                   |     |     |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     |     |     |
| <i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère                                                   | 1   | 3   |     |     |     | 1   | 6   |     |     |     | 2   | 4   | 10  |
| <i>Fragilaria ulna</i> (Nitzsch.) Ehr. var. <i>spathulifera</i> (Grunow) Lange-Bertalot |     |     |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     |     |     |
| <i>Frustulia vulgaris</i> (Thwaites) De Toni                                            |     |     |     |     |     |     |     | 1   |     |     | 2   |     | 4   |
| <i>Gomphonema pumilum</i> (Gr.) Reich. & L.-B.                                          |     |     | 1   |     |     | 3   |     | 4   |     |     |     |     |     |
| <i>Gomphonema angustatum</i> (Kützing) Rabenhorst                                       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 2   | 3   |
| <i>Gomphonema clavatum</i> Ehr.                                                         |     |     |     |     |     | 2   |     |     |     |     | 13  | 16  |     |

|                                                                                               |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    |    |    |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|----|-----|----|-----|---|----|----|----|----|----|----|
| <i>Gomphonema gracile</i> Ehrenberg                                                           |    |    |    | 35  |    |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Gomphonema olivaceum</i> (Hornemann) Brébisson var. <i>olivaceum</i>                       |    |    |    |     |    |     | 1 |    | 3  | 4  |    |    |    |
| <i>Gomphonema calcifugum</i> Lange-Bertalot & Reichardt                                       |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    |    |    | 3  |
| <i>Gomphonema parvulum</i> Kützing                                                            | 21 | 9  | 17 | 159 | 29 | 27  |   | 5  | 11 | 5  | 6  | 43 |    |
| <i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>parvulum</i> f. <i>saprophilum</i> Lange-Bert. & Reichardt | 15 | 17 | 1  | 41  | 3  | 8   |   |    | 6  |    |    |    |    |
| <i>Gomphonema truncatum</i> Ehr.                                                              |    |    |    | 6   |    |     |   |    | 4  |    |    |    |    |
| <i>Gyrosigma acuminatum</i> (Kützing) Rabenhorst                                              |    |    |    | 1   |    |     | 1 |    |    |    |    |    |    |
| <i>Gyrosigma nodiferum</i> (Grunow) Reimer                                                    |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    | 5  |    |    |
| <i>Hantzschia distinctepunctata</i> Hustedt in Schmidt & al.                                  |    |    |    | 5   |    |     |   | 6  | 1  |    |    |    |    |
| <i>Melosira varians</i> Agardh                                                                |    | 1  |    |     |    |     |   |    |    |    |    | 27 | 11 |
| NAVICULA J.B.M. Bory de St. Vincent                                                           |    |    |    |     | 31 |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula (Luticola) goeppertiana</i> (Bleisch in Rabenhorst) D.G. Mann                     | 4  |    | 9  | 3   |    |     |   |    | 3  |    |    |    |    |
| <i>Navicula (Luticola) ventricosa</i> (Kützing) D.G. Mann                                     |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    | 11 |    |    |
| <i>Mayamaea atomus</i> var. <i>permitis</i> (Hustedt) Lange-Bertalot                          |    |    | 3  |     |    | 17  |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Sellaphora bacillum</i> (Ehrenberg) Mann                                                   |    | 2  |    |     |    |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Hippodonta capitata</i> (Ehr.) L.-B., Metzeltin & Witkowski                                |    | 9  |    |     |    |     |   |    | 1  |    |    |    |    |
| <i>Hippodonta hungarica</i> (Grunow) Lange-Bertalot Metzeltin & Witkowski                     |    |    |    | 19  | 5  |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula cari</i> Ehrenberg                                                                |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    |    | 1  |    |
| <i>Navicula cincta</i> (Ehrenberg) Ralfs                                                      |    |    | 1  |     |    |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Placoneis clementis</i> (Grunow) Cox                                                       |    | 2  |    |     | 5  |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Diadesmis confervacea</i> Kützing                                                          |    | 2  |    |     |    |     |   |    |    |    | 5  |    |    |
| <i>Navicula contenta</i> Grunow                                                               |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    |    |    | 2  |
| <i>Navicula cryptocephala</i> Kützing                                                         |    |    |    | 2   |    |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula cryptotenella</i> Lange-Bertalot                                                  |    |    | 1  |     |    | 7   | 3 | 1  | 10 |    |    |    |    |
| <i>Craticula cuspidata</i> (Kützing) Mann                                                     |    |    |    |     | 12 |     | 1 |    |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula erifuga</i> Lange-Bertalot                                                        |    |    |    |     | 9  |     |   | 3  | 3  | 57 |    |    |    |
| <i>Navicula gregaria</i> Donkin                                                               |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    |    | 7  |    |
| <i>Craticula halophila</i> (Grunow ex Van Heurck) Mann                                        |    |    |    |     |    |     | 5 | 2  |    |    | 20 |    |    |
| <i>Navicula menisculus</i> Schumann var. <i>menisculus</i>                                    |    |    |    |     |    | 29  |   | 1  |    | 5  |    |    |    |
| <i>Eolimna minima</i> (Grunow) Lange-Bertalot                                                 | 24 | 8  | 42 | 1   |    |     |   |    |    | 8  |    |    | 4  |
| <i>Luticola mutica</i> (Kützing) Mann                                                         |    |    |    |     |    |     |   | 10 |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula palpebralis</i> Brébisson ex W. Smith var. <i>palpebralis</i>                     |    |    |    |     |    |     |   |    |    | 48 |    |    |    |
| <i>Navicula phyllepta</i> Kützing                                                             |    |    |    |     |    | 20  | 1 |    |    |    |    |    |    |
| <i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkowsky                                              | 7  | 3  | 11 |     | 43 |     |   |    |    | 9  |    |    |    |
| <i>Sellaphora mutata</i> (Krasske) Lange-Bertalot                                             |    | 6  |    |     | 13 |     |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Fallacia pygmaea</i> (Kützing) Stickle & Mann                                              |    |    |    |     | 1  |     | 1 | 2  |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula radiosa</i> Kützing                                                               |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    | 16 |    |    |
| <i>Navicula radiosafallax</i> Lange-Bertalot                                                  |    | 3  |    |     |    | 4   |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula recens</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot                                        |    |    | 1  |     | 1  |     |   | 1  | 3  |    |    |    | 1  |
| <i>Navicula reichardtiana</i> Lange-Bertalot                                                  |    |    |    |     |    |     |   | 7  |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula salinarum</i> Grunow in Cleve et Grunow var. <i>salinarum</i>                     |    |    |    |     |    |     |   |    | 18 |    |    |    |    |
| <i>Navicula schroeteri</i> Meister var. <i>schroeteri</i>                                     |    |    |    |     |    |     |   |    |    |    |    | 13 |    |
| <i>Navicula schroeteri</i> Meister var. <i>symmetrica</i> (Patrick) Lange-Bertalot            |    |    |    |     |    | 1   |   |    |    |    |    |    |    |
| <i>Navicula seminulum</i> Grunow                                                              |    |    |    |     |    |     |   |    | 1  |    |    |    |    |
| <i>Naviculadicta seminulum</i> (Grunow) Lange-Bertalot                                        |    |    |    |     |    | 123 |   |    |    |    |    |    |    |

|                                                                                  |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| <i>Eolimna subminuscula</i> (Manguin) Moser, L.-B. & Metzeltin                   | 60  | 3   | 90  | 3  |    |    |    |    | 10 | 9  |    |    |     |
| <i>Navicula tripunctata</i> (O.F.Muller) Bory                                    |     | 7   |     |    |    |    | 1  |    | 1  |    |    |    | 1   |
| <i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot var. <i>trivialis</i>                   |     | 5   |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 16? |
| <i>Navicula veneta</i> Kützing                                                   | 150 | 7   | 147 | 1  | 36 | 99 | 15 | 1  | 3  | 9  | 13 | 16 |     |
| <i>Navicula viridula</i> var. <i>germainii</i> (Wallace) Lange-Bertalot          | 1   |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Navicula viridula</i> (Kütz.) Ehr. var. <i>rostellata</i> (Kütz.) Cleve       | 2   | 23  |     |    |    |    |    |    | 3  |    | 25 |    |     |
| <i>Navicula viridula</i> (Kützing) Ehrenberg                                     |     |     |     | 2  |    |    |    |    | 6  |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia agnita</i> Hustedt                                                  |     | 198 |     |    |    | 18 |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia amphibia</i> Grunow                                                 | 31  |     | 21  | 54 | 1  |    | 6  | 1  | 9  |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia angustata</i> Grunow                                                |     |     |     |    |    |    | 1  |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia archibaldii</i> Lange-Bertalot                                      |     |     | 1   |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia aurariae</i> Chohnoky                                               |     | 1   |     |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |     |
| <i>Tryblionella calida</i> (Grunow) Mann                                         |     | 3   |     |    |    | 2  |    |    |    | 17 |    |    |     |
| <i>Nitzschia capitellata</i> Hustedt                                             | 6   |     | 9   |    | 4  |    |    |    | 7  | 18 |    |    |     |
| <i>Nitzschia communis</i> Rabenhorst                                             |     | 13  |     |    |    |    |    |    |    |    | 1  |    | 1   |
| <i>Tryblionella apiculata</i> Gregory                                            | 1   |     |     |    | 1  |    | 13 |    | 4  | 15 | 38 | 14 | 31  |
| <i>Nitzschia debilis</i> (Arnott) Grunow in Cl. & Grunow                         |     |     |     |    |    |    |    | 38 |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia dissipata</i> (Kützing) Grunow                                      | 1   |     |     |    |    |    |    |    | 2  | 19 | 11 |    |     |
| <i>Nitzschia dissipata</i> (Kützing) Grunow var. <i>media</i> (Hantzsch.) Grunow |     |     |     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia dubia</i> W.M.Smith                                                 |     | 1   |     |    |    |    |    |    |    |    | 4  | 2  | 1   |
| <i>Nitzschia elegantula</i> Grunow                                               |     |     |     |    |    |    | 24 |    | 2  |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia filiformis</i> var. <i>conferta</i> (Richter) Lange-Bertalot        | 4   |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia fonticola</i> Grunow in Cleve et Muller                             |     |     |     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia fonticola</i> Grunow var. <i>pelagica</i> Hustedt                   |     |     | 6   |    |    | 16 | 1  | 9  |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow                                      | 9   |     |     | 1  | 25 |    |    | 27 | 3  |    |    | 58 | 1   |
| <i>Nitzschia bulnheimiana</i> (Rabenhorst) H.L.Smith                             | 1   |     |     |    |    |    | 3  |    |    |    |    |    |     |
| <i>Tryblionella hungarica</i> (Grunow) Mann                                      |     | 4   |     | 1  | 2  | 10 |    |    |    |    | 13 |    | 6   |
| <i>Nitzschia inconspicua</i> Grunow                                              | 6   |     | 8   | 1  | 7  |    | 4  | 3  | 3  | 13 | 7  | 49 | 5   |
| <i>Nitzschia intermedia</i> Hantzsch ex Cleve & Grunow                           |     |     | 1   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia linearis</i> (Agardh) W.M.Smith var. <i>linearis</i>                |     | 1   |     | 3  | 5  |    |    | 1  | 8  | 14 | 16 | 19 | 7   |
| <i>Nitzschia lorenziana</i> Grunow in Cleve et Muller                            |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    | 1  |    |     |
| <i>Nitzschia microcephala</i> Grunow                                             |     |     | 3   |    |    |    | 47 |    |    | 3  |    |    |     |
| <i>Nitzschia ovalis</i> Arnott ex Grunow in Cl. & Grun.                          |     |     |     |    |    | 14 |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith                                        | 23  | 1   | 8   |    | 1  |    | 5  | 2  | 15 | 79 | 6  |    |     |
| <i>Nitzschia pusilla</i> (Kützing) Grunow                                        |     |     |     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia rosenstockii</i> Lange-Bertalot                                     |     |     |     |    |    |    |    |    |    | 4  |    |    |     |
| <i>Nitzschia scalpelliformis</i> (Grunow) Grunow in Cleve & Grunow               |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2   |
| <i>Nitzschia sigma</i> (Kützing) W.M.Smith                                       |     |     |     |    |    |    | 1  |    |    |    | 10 |    |     |
| <i>Nitzschia supralittorea</i> Lange-Bertalot                                    |     |     |     |    |    | 6  |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia tryblionella</i> Hantzsch                                           |     |     |     | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Nitzschia umbonata</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot                             | 9   | 1   | 15  |    | 79 |    |    |    | 1  |    |    |    |     |
| <i>Pinnularia viridis</i>                                                        | 1   |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Pleurosigma elongatum</i> W.Smith                                             |     |     |     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |     |
| <i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (Agardh) Lange-Bertalot                          |     |     |     | 15 |    |    | 3  | 3  | 12 | 23 |    | 2  |     |
| <i>Stauroneis smithii</i> Grunow                                                 |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    | 3  |    |     |
| <i>Surirella angusta</i> Kützing                                                 |     | 4   |     |    |    |    |    |    |    |    | 9  | 7  | 1   |
| <i>Surirella bifrons</i> Ehr.                                                    |     |     |     |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |     |
| <i>Surirella brebissonii</i> Krammer & Lange-Bertalot                            | 3   | 1   | 1   |    |    |    | 1  |    | 7  | 3  | 51 | 41 | 4   |
| <i>Surirella brebissonii</i> var. <i>kuetzingii</i> Krammer et Lange-Bertalot    |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    | 27 | 18 |     |

---

|                                                           |  |  |  |  |  |  |  |   |   |  |    |   |    |
|-----------------------------------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|---|---|--|----|---|----|
| <i>Surirella linearis</i> W.M.Smith                       |  |  |  |  |  |  |  |   | 2 |  |    |   |    |
| <i>Surirella minuta</i> Brebisson                         |  |  |  |  |  |  |  |   |   |  |    |   | 10 |
| <i>Surirella ovalis</i> Brebisson                         |  |  |  |  |  |  |  |   |   |  | 13 | 1 |    |
| <i>Thalassiosira weissflogii</i> (Grunow) Fryxell & Hasle |  |  |  |  |  |  |  | 4 |   |  |    |   |    |

### Elenco delle specie ritrovate nei canali e le loro abbondanze

| Nome della Specie                                                                             | CSA | CSI | CRM | CFV | COL |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>Achnanthes brevipes</i> (Agardh) Kützing                                                   | 17  | 56  | 12  | 20  | 34  |
| <i>Planothidium delicatulum</i> (Kütz.) Round & Bukhtiyarova                                  |     |     |     |     | 1   |
| <i>Lemnicola hungarica</i> (Grunow) Round & Basson                                            |     |     |     | 2   |     |
| <i>Planothidium frequentissimum</i> (Lange-Bertalot) Round & Bukhtiyarova                     |     |     |     | 3   |     |
| <i>Planothidium lanceolatum</i> (Kütz. ex Bréb.) L.-B.                                        |     |     | 26  |     | 1   |
| <i>Achnanthes alteragracillima</i> (Lange-Bertalot) Round & Bukhtiyarova                      |     |     |     | 9   |     |
| <i>Amphora veneta</i> Kützing                                                                 | 5   |     | 10  |     |     |
| <i>Amphora coffeaeformis</i> (Agardh) Kützing var. <i>coffeaeformis</i>                       | 6   | 9   | 9   | 11  |     |
| <i>Amphora libyca</i> Ehr.                                                                    |     |     |     | 1   |     |
| <i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow                                                     |     |     |     |     | 1   |
| <i>Amphora strigosa</i> /Seminavis Hustedt                                                    | 35  | 38  |     | 5   |     |
| <i>Anomoeoneis sphaerophora</i> (Ehr.) Pfitzer                                                |     |     |     |     | 1   |
| <i>Bacillaria paxillifera</i> (O. F. Müller) Hendey                                           | 5   |     | 24  | 17  | 6   |
| <i>Brachysira aponina</i> Kützing 1836                                                        | 21  | 17  | 10  | 24  |     |
| <i>Brachysira estonarium</i> Witkowski. Lange-Bertalot & Metzeltin                            | 12  |     |     |     |     |
| <i>Caloneis amphisbaena</i> (Bory) Cleve                                                      |     | 3   |     |     |     |
| <i>Caloneis silicula</i>                                                                      |     |     | 4   |     |     |
| <i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg var. <i>lineata</i> (Ehr.) Van Heurck                   |     |     |     | 9   | 1   |
| <i>Cyclotella kuetzingiana</i> Thwaites                                                       | 10  |     | 5   | 46  | 3   |
| <i>Delphineis surirella</i> (Ehr.) Andrews                                                    |     | 19  |     |     |     |
| <i>Diploneis bombus</i> Ehrenberg                                                             |     | 29  |     |     |     |
| <i>Diplonis oblongella</i>                                                                    | 31  | 3   | 7   |     |     |
| <i>Fragilaria (Synedra) fasciculata</i> (Agardh) Lange-Bertalot                               | 26  | 23  | 18  | 28  | 4   |
| <i>Pseudostaurosira brevi striata</i> Williams Round                                          |     |     |     |     | 9   |
| <i>Fragilaria construens</i> (Ehr.) Grunow f. <i>construens</i> (Staurosira)                  |     |     |     |     | 50  |
| <i>Staurosira venter</i> (Ehrenberg) Cleve & Moeller                                          |     |     |     | 4   |     |
| <i>Staurosira elliptica</i> (Schumann) Williams & Round                                       |     |     |     |     | 1   |
| <i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère                                                         |     |     | 4   |     |     |
| <i>Frustulia vulgaris</i> (Thwaites) De Toni                                                  |     |     |     |     | 1   |
| <i>Gomphonema parvulum</i> Kützing                                                            | 15  |     | 14  | 12  | 3   |
| <i>Gomphonema parvulum</i> var. <i>parvulum</i> f. <i>saprophilum</i> Lange-Bert. & Reichardt |     |     |     |     | 2   |
| <i>Grammatophora marina</i> (Lyngbye) Kützing                                                 |     |     | 24  |     |     |
| <i>Navicula (Luticola) goeppertiana</i> (Bleisch in Rabenhorst) D.G. Mann                     |     |     |     | 7   | 1   |
| <i>Navicula (Luticola) nivalis</i> (Ehrenberg) D.G. Mann                                      |     |     |     |     | 157 |
| <i>Navicula (Luticola) ventricosa</i> (Kützing) D.G. Mann                                     |     |     |     |     | 23  |
| <i>Navicula arenaria</i> Donkin var. <i>arenaria</i>                                          | 31  | 79  |     |     |     |
| <i>Mayamaea atomus</i> var. <i>permitis</i> (Hustedt) Lange-Bertalot                          |     |     |     |     | 1   |
| <i>Hippodonta capitata</i> (Ehr.) L.-B., Metzeltin & Witkowski                                | 11  |     |     |     |     |
| <i>Hippodonta hungarica</i> (Grunow) Lange-Bertalot Metzeltin & Witkowski                     |     |     |     |     | 2   |
| <i>Navicula contenta</i> Grunow                                                               |     |     |     |     | 2   |
| <i>Navicula cryptotenella</i> Lange-Bertalot                                                  | 15  |     |     |     | 3   |
| <i>Navicula directa</i> (W.M. Smith) Ralfs in Pritchard                                       |     | 9   |     |     |     |
| <i>Navicula erifuga</i> Lange-Bertalot                                                        |     |     |     | 6   |     |
| <i>Navicula forcipata</i> Greville                                                            |     | 9   |     |     |     |
| <i>Craticula halophila</i> (Grunow ex Van Heurck) Mann                                        |     |     |     |     | 10  |
| <i>Navicula lanceolata</i> (Agardh) Ehrenberg                                                 |     |     |     |     | 10  |
| <i>Luticola mutica</i> (Kützing) Mann                                                         | 13  |     |     | 8   | 38  |
| <i>Navicula phyllepta</i> Kützing                                                             |     |     |     | 2   |     |
| <i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkowsky                                              |     |     | 6   | 1   | 2   |
| <i>Fallacia pygmaea</i> (Kützing) Stickle & Mann                                              |     |     |     | 5   | 1   |

|                                                                                      |    |    |    |    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|----|----|----|----|
| <i>Navicula recens</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot                               | 72 |    | 59 | 17 |    |
| <i>Navicula salinarum</i> Grunow in Cleve et Grunow var. <i>salinarum</i>            | 11 |    |    |    |    |
| <i>Eolimna subminuscula</i> (Manguin) Moser, L.-B. & Metzeltin                       |    |    |    | 5  | 2  |
| <i>Fallacia tenera</i> (Hustedt) Mann in Round                                       |    |    | 42 |    |    |
| <i>Navicula tripunctata</i> (O.F.Muller) Bory                                        | 4  |    |    |    |    |
| <i>Navicula veneta</i> Kützing                                                       |    |    | 45 | 3  |    |
| <i>Nitzschia amphibia</i> Grunow                                                     |    |    |    | 8  |    |
| <i>Nitzschia aurariae</i> Cholnoky                                                   |    |    | 7  |    | 4  |
| <i>Tryblionella calida</i> (Grunow) Mann                                             |    |    |    | 1  |    |
| <i>Nitzschia capitellata</i> Hustedt                                                 |    |    |    | 3  |    |
| <i>Tryblionella apiculata</i> Gregory                                                | 13 | 6  |    | 22 | 28 |
| <i>Nitzschia filiformis</i> var. <i>conferta</i> (Richter) Lange-Bertalot            |    | 51 | 8  | 38 |    |
| <i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow                                          | 38 | 37 | 6  | 49 |    |
| <i>Nitzschia granulata</i> Grunow in Cleve et Muller                                 |    |    |    |    | 4  |
| <i>Tryblionella hungarica</i> (Grunow) Mann                                          |    |    | 50 |    | 1  |
| <i>Nitzschia inconspicua</i> Grunow                                                  |    |    | 7  | 31 |    |
| <i>Nitzschia levidensis</i> (W.Smith) Grunow var. <i>victoriae</i> (Grunow) Cholnoky |    |    |    |    | 2  |
| <i>Nitzschia linearis</i> (Agardh) W.M.Smith var. <i>linearis</i>                    |    |    | 6  | 4  |    |
| <i>Tryblionella littoralis</i> (Grunow in Cl. & Grun.) D.G. Mann                     |    |    |    | 2  |    |
| <i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith                                            |    |    | 6  | 10 |    |
| <i>Nitzschia pusilla</i> (Kützing) Grunow                                            |    |    | 6  |    |    |
| <i>Nitzschia recta</i> Hantzsch in Rabenhorst                                        |    | 15 |    |    |    |
| <i>Nitzschia sigma</i> (Kützing) W.M.Smith                                           |    |    | 30 | 4  | 2  |
| <i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (Agardh) Lange-Bertalot                              | 9  |    |    |    |    |

### Elenco delle specie ritrovate nei laghi costieri e le loro abbondanze

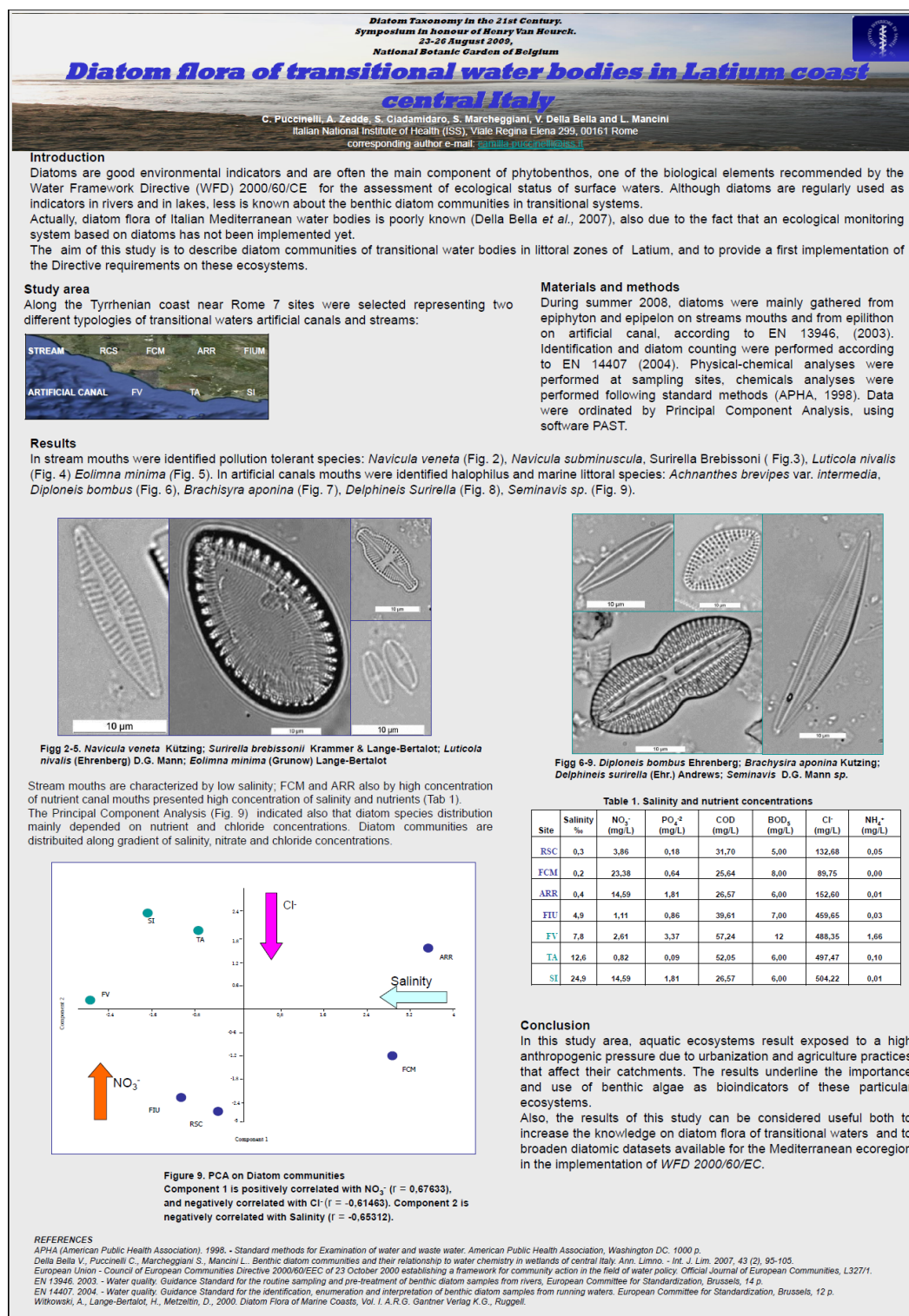
| Nome delle specie                                             | LLB | LSP | LSA | LSC | LCA | LFO | LLO | LOF | LOO | LOG |
|---------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ACHNANTHES J.B.M. Bory de St. Vincent sp.                     |     |     |     |     | 41  |     |     |     | 23  | 24  |
| Achnanthes brevipes(Agardh) Kützing                           | 60  |     |     |     | 48  |     |     |     | 24  | 52  |
| Achnanthes brevipes var. intermedia (Agardh) Kützing          |     |     | 56  | 9   |     | 56  | 9   | 14  |     | 59  |
| Amphora acutiuscula Kützing                                   | 41  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Amphora bigibba var. interrupta (Grunow) Cleve                |     |     |     |     |     |     | 22  |     |     |     |
| Amphora coffeaeformis (Agardh) Kützing var. coffeaeformis     | 62  |     | 76  | 12  |     |     | 17  | 93  | 48  | 42  |
| Amphora crucifera A. Cleve.                                   |     | 14  |     |     | 18  |     |     |     |     |     |
| Amphora hyalina Kützing                                       |     |     |     |     |     |     |     | 34  | 21  | 23  |
| Amphora inariensis Krammer                                    |     |     | 29  |     |     |     |     |     |     |     |
| Amphora kolbei Aleem Witkowski. Metzeltin & Lange-Bertalot    |     |     |     |     |     |     | 18  |     |     |     |
| Amphora laevisissima Gregory                                  |     |     |     |     |     |     | 15  |     |     |     |
| Amphora strigosa Hustedt                                      |     |     | 7   |     |     |     | 16  |     | 17  | 4   |
| Bacillaria paxillifera (O. F. Müller) Hendey                  | 34  |     |     | 9   |     |     | 20  |     | 25  | 1   |
| Brachysira aponina Kützing 1836                               |     |     |     | 8   |     |     |     |     |     |     |
| Brachysira estonarium Witkowski. Lange-Bertalot & Metzeltin   |     |     | 12  |     |     |     |     |     |     |     |
| Caloneis silicula                                             |     |     |     |     | 2   |     |     |     |     |     |
| Cocconeis costata Gregory                                     |     |     | 9   |     |     |     |     |     |     |     |
| Cocconeis placentula Ehrenberg var. placentula                |     |     |     | 33  |     |     |     | 19  |     | 1   |
| Cocconeis placentula Ehrenberg var. lineata (Ehr.) Van Heurck | 1   |     | 12  |     |     | 10  |     |     |     |     |
| Cocconeis scutellum Ehrenberg var. scutellum                  | 75  |     |     | 84  | 1   |     |     |     | 21  | 16  |
| Cyclotella meneghiniana Kützing                               | 1   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Delphineis surirella (Ehr.) Andrews                           |     | 69  |     | 51  |     |     | 8   |     |     |     |
| Dimerogramma                                                  |     |     |     | 9   |     |     |     |     |     |     |
| Diploneis bombus Ehrenberg                                    |     |     |     | 19  | 24  |     |     |     |     |     |
| Diploneis smithii (Brebisson) Cleve var. smithii              |     |     |     |     | 18  |     |     |     |     |     |
| Fragilaria (Synedra) fasciculata (Agardh) Lange-Bertalot      |     |     | 19  |     |     |     | 8   | 1   | 4   |     |
| Ulnaria biceps (Kützing) Compère                              |     |     |     | 9   |     |     |     |     |     |     |
| Fragilaria capensis Grunow                                    |     |     |     | 31  |     |     |     |     |     |     |
| Ulnaria ulna (Nitzsch) Compère                                |     |     |     |     | 32  |     |     |     |     |     |
| Gomphonema parvulum Kützing                                   |     |     |     |     | 2   |     |     |     |     |     |
| Gomphonemopsis obscurum(Krasske) Lange-Bertalot               |     |     |     |     |     |     |     | 23  | 21  | 4   |
| Grammatophora macilenta Wm.Smith                              |     |     |     | 44  |     |     |     |     |     |     |
| Grammatophora marina (Lyngbye) Kützing                        |     |     |     |     | 52  | 43  |     |     |     |     |
| Licmophora grandis (Kützing)Grunow in Van Heurck              | 35  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Lyrella clavata(Gregory) D.G.Mann in Round & al               |     |     |     | 9   |     |     | 31  |     |     |     |
| Lyrella lyra (Ehrenb.) Karayeva                               |     | 65  |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Mastogloia adriatica Voigt                                    |     |     |     |     |     | 17  | 35  |     |     |     |
| Mastogloia crucicula (Grun.) Cleve var. crucicula             |     |     |     |     | 44  | 23  |     |     |     |     |
| Mastogloia robusta Hustedt                                    |     |     |     |     | 23  |     |     |     |     |     |
| Melosira moniliformis (O.F.Muller) Agardh v. moniliformis     |     |     | 56  |     |     | 10  |     |     |     |     |
| Navicula arenaria Donkin var. arenaria                        | 1   |     |     |     |     |     |     | 50  | 34  |     |
| Navicula cincta (Ehrenberg) Ralfs                             |     |     |     |     |     |     |     | 2   |     | 3   |
| Navicula directa (W.M.Smith) Ralfs in Pritchard               |     |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Navicula duerrenbergiana Hustedt in Schmidt et al.            |     |     |     | 12  |     |     | 34  |     | 42  | 9   |
| Navicula perminuta Grunow in Van Heurck                       |     |     |     | 12  |     |     |     | 21  |     | 22  |
| Navicula phyllepta Kützing                                    |     |     |     |     |     |     |     | 6   |     |     |
| Navicula phylleptosoma Lange-Bertalot                         |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 3   |
| Fallacia pygmaea (Kützing) Stickle & Mann                     | 1   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Navicula subagnita Proschkina-Lavrenko                        |     |     |     |     |     |     |     | 31  |     | 19  |
| Eolimna subminuscula (Manguin) Moser, L.-B. & Metzeltin       | 1   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Navicula veneta Kützing                                       |     |     |     |     | 1   |     |     |     |     |     |
| Nitzschia amphibia Grunow                                     |     |     | 17  |     |     |     |     |     |     | 1   |
| Nitzschia amplexans Hustedt                                   | 1   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Nitzschia aurariae Cholnoky                                   |     |     | 19  |     |     |     |     |     |     |     |
| Tryblionella calida (Grunow) Mann                             |     |     |     |     |     |     | 11  |     |     |     |
| Nitzschia coarctata Grunow                                    |     |     |     |     |     |     | 21  |     |     |     |
| Tryblionella apiculata Gregory                                |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 19  |
| Nitzschia filiformis (W.M.Smith) Van Heurck var. filiformis   |     |     |     |     | 19  |     |     |     |     |     |
| Nitzschia frustulum (Kützing) Grunow                          | 43  |     | 10  |     | 15  |     | 12  |     |     | 24  |



|                                                                    |   |    |    |    |   |    |    |    |  |    |
|--------------------------------------------------------------------|---|----|----|----|---|----|----|----|--|----|
| <i>Nitzschia laevis</i> Hustedt                                    |   |    |    | 53 |   |    |    |    |  |    |
| <i>Nitzschia lanceolata</i> W.M.Smith 1853                         |   | 69 |    |    |   |    | 13 |    |  |    |
| <i>Nitzschia lorenziana</i> Grunow in Cleve et Muller              |   | 59 |    |    |   |    |    |    |  |    |
| <i>Nitzschia panduriformis</i> Gregory var. <i>panduriformis</i>   |   |    |    | 12 |   |    |    |    |  |    |
| <i>Nitzschia pararostrata</i> (Lange-Bertalot)                     |   |    |    |    |   |    |    |    |  | 1  |
| <i>Nitzschia prolongata</i> Hustedt                                |   |    | 33 |    |   |    |    |    |  |    |
| <i>Nitzschia pusilla</i> (Kutzing) Grunow                          |   |    |    |    |   |    | 16 |    |  |    |
| <i>Nitzschia recta</i> Hantzsch in Rabenhorst                      | 1 |    |    |    |   |    |    |    |  |    |
| <i>Nitzschia scalpelliformis</i> (Grunow) Grunow in Cleve & Grunow |   |    | 17 |    |   |    |    |    |  | 1  |
| <i>Nitzschia sigma</i> (Kutzing)W.M.Smith                          |   |    | 23 |    |   |    | 7  |    |  |    |
| <i>Nitzschia spectabilis</i> (Ehrenberg) Ralfs.                    |   | 56 |    |    |   |    |    |    |  |    |
| <i>Nitzschia valdestriata</i> Aleem & Hustedt                      |   |    |    |    |   |    |    |    |  | 1  |
| <i>Oscillatoria fulgens</i>                                        |   |    | 6  |    |   |    |    |    |  |    |
| <i>Raphoneis ampiceros</i> Ehr.                                    |   |    |    | 13 |   |    |    |    |  |    |
| SEMINAVIS D.G. Mann sp                                             | 1 | 90 |    |    |   | 70 | 43 | 37 |  | 60 |
| <i>Seminavis barbara</i> Witkowski. Lange-Bertalot & Metzeltin     |   |    |    |    |   |    |    | 33 |  |    |
| <i>Toxarium undulatum</i> J.W. Bailey                              |   |    |    |    | 3 |    |    |    |  |    |

## Appendice 2

Poster presentato al Convegno: “Diatom Taxonomy in the 21<sup>th</sup> Century. Symposium in honour of Henry Van Heurck”. Svoltosi presso il National Botanic Garden di Brussel, svoltosi da 23-26 Agosto 2009.



---