



LIFE+ 2008

LIFE+ Programme (European Commission)

Project INHABIT - LIFE08 ENV/IT/000413

Local hydro-morphology, habitat and RBMPs: new measures to improve ecological quality in South European rivers and lakes

ACTION GROUP I2: Relationship between nutrients, community and environmental conditions

Action I2_ISE (month 9-36): Relationship between nutrients, community and environmental conditions by ISE

Deliverable I2d7

Analisi della relazione tra la concentrazione di azoto e la composizione delle comunità acquatiche.

Statistical analysis of the relation between nitrogen concentration and species composition

Giuseppe Morabito¹, Aldo Marchetto¹, Michela Rogora¹, Martina Austoni¹, Pietro Volta¹, Paolo Sala¹, Gabriele A. Tartari¹, Igor Cerutti¹, Angela Boggero¹, Silvia Zaupa¹, Alessandro Oggioni^{1,2}, Antonella Lugliè³, Maria Antonietta Mariani³, Bachisio M. Padedda³, Nicola Sechi³, Elio Sesia⁴, Teo Ferrero⁴, Pierluigi Fogliati⁵, Gabriella Fornaro⁵, Mario Pannocchia⁵, Francesca Vietti⁶ & Marzia Ciampittiello¹

¹CNR-ISE, Verbania Pallanza (VB)

²CNR-IREA, Unità Operativa di Supporto, Milano

³Dipartimento di Scienze Botaniche, Ecologiche e Geologiche, Università di Sassari

⁴ARPA Piemonte, Struttura Specialistica Qualità delle Acque, Asti

⁵ARPA Piemonte, Dipartimento di Torino, Presidio Territoriale di Ivrea

⁶ARPA Piemonte, Dipartimento di Biella

Verbania Pallanza, 31 marzo 2012

INDICE

<i>Summary</i>	3
<i>Riassunto</i>	4
<i>1. Introduzione</i>	5
<i>2. Variabilità ambientale e risposta delle comunità biotiche usate per la classificazione ecologica nei laghi del Progetto InHabit, con particolare riguardo ai composti azotati.</i>	9
2.1. Fitoplancton	9
2.1.1. Parametri analizzati e metodi	9
2.1.1.1. Variabili fisiche e chimiche	9
2.1.1.2. Fitoplancton	10
2.1.1.3. Analisi statistiche	10
2.1.2. Risultati	11
2.1.2.1. Ordini fitoplanctonici e variabili ambientali	11
2.1.2.2. Relazioni con i composti azotati	14
2.1.2.3. Specie e variabili ambientali	16
2.1.2.4. Relazioni con i composti azotati	17
2.1.2.5. Relazioni con il fosforo totale	20
2.2. Macrofite	21
2.3. Fauna bentonica	23
2.3.1 Metodi	23
2.3.2 Risultati	24
2.4. Fauna ittica	27
2.4.1 Metodi	27
2.4.1.1 Ambienti studiati e metodologie di campionamento.....	27
2.4.1.2. Variabili Chimico-fisiche e idromorfologiche (CFI).....	27
2.4.1.3. Analisi statistiche	29
2.4.2. Risultati	29
2.4.2.1. Relazioni tra composti azotati e guilds (CCA).....	31
<i>3. Conclusioni</i>	34
<i>4. Bibliografia</i>	37

Summary

This report presents an analysis of the relationships between environmental variables and organisms belonging to the four biotic communities used to define the lake's ecological quality, according to provisions of the Italian legislation (D.Lgs. 260, November 2010) and the European Water Framework 2000/6. The data analyzed were collected during the sampling surveys carried out within InHabit Project in 13 water bodies, 7 in Piedmont and 6 in Sardinia respectively.

In particular, the aim of the study was to evaluate the possible effects of nitrogen on biotic communities.

Phytoplankton community shown the clearer responses: according to the result of multivariate analysis, total nitrogen and ammonium nitrogen are among the most significant factors explaining the relationships among phytoplankton orders, species and environmental variables. In particular, cyanobacteria increased considerably with increasing availability of ammonium nitrogen. Conversely, high concentrations of this compound suppress the development of diatoms. Other algal groups show a nonlinear response with respect to nitrogen, with a possible limitation under low levels of nitrogen and an inhibition at higher levels. A comparative analysis, carried out to evaluate the response to the gradient of total phosphorus, shows that this nutrient is not as selective as nitrogen in controlling the structure of the algal assemblage in different environmental conditions.

Other biotic communities did not show a clear relationship with nitrogen, but they rather responded to the trophic gradient as a whole: responses by macroinvertebrates seem, especially in the analysis of functional groups, complex and difficult to discriminate, highlighting a possible shifting of the food web towards the presence of large carnivores at high trophic status. Regarding the fish, the results show that nitrogen alone does not seem to be an important controlling factor for the fish communities. However together with the phosphorus, is one of the main elements controlling both biomass and size of the fish fauna, as well as the presence of tolerant, omnivorous or benthofagous species.

In conclusion, the results of our analysis highlight the need for a greater emphasis on nitrogen inputs, which, especially in cases of nitrogen carried by atmospheric deposition, may even affect lake ecosystems relatively distant from direct impacts of human activities, thus altering the structure of biotic communities.

Riassunto

A partire dai dati raccolti con le campagne di campionamento effettuate nell'ambito del progetto InHabit, questo documento presenta un'analisi delle relazioni tra le variabili ambientali e gli organismi appartenenti alle quattro comunità biotiche utilizzate per la definizione della qualità ecologica degli ambienti lacustri, secondo quanto previsto dal D.Lgs. 260 del novembre 2010, che recepisce la Direttiva Europea sulle Acque 2000/60. I campionamenti sono stati condotti in 13 ambienti lacustri, 7 in Piemonte e 6 in Sardegna.

In particolare, lo scopo del lavoro è stato valutare i possibili effetti sulla comunità biotiche di concentrazioni variabili dei composti azotati inclusi tra le variabili considerate.

La comunità che mostra le risposte più chiare è quella fitoplanctonica: come risulta dall'analisi multivariata, sia azoto ammoniacale che azoto totale compaiono tra le variabili significative per spiegare l'ordinamento di ordini e specie fitoplanctoniche. Tra questi, sono soprattutto i cianobatteri che aumentano sensibilmente all'aumentare della disponibilità di azoto ammoniacale. Al contrario, elevate concentrazioni di questo composto deprimono lo sviluppo delle diatomee. Altri gruppi algali mostrano una risposta non lineare rispetto ai composti azotati, con una possibile limitazione a bassi livelli di azoto ed una inibizione a livelli troppo elevati. L'analisi della risposta rispetto al gradiente di fosforo totale, mostra che questo nutriente non è selettivo come l'azoto nel controllare la struttura delle associazioni algali in diverse condizioni ambientali.

Le altre comunità non hanno mostrato una relazione evidente con i composti azotati, ma, piuttosto, con il gradiente trofico complessivo: le risposte evidenziate dalla fauna macroinvertebrata, sembrano, soprattutto nell'analisi dei gruppi funzionali, complesse e difficili da discriminare, evidenziando un possibile spostamento degli equilibri della rete trofica verso i carnivori in presenza di elevati livelli trofici. Relativamente alla fauna ittica, i risultati mostrano che da solo l'azoto non sembra essere un fattore di controllo importante per la comunità ittiche. Tuttavia insieme al fosforo, è uno degli elementi principali a cui si associano positivamente la biomassa e le dimensioni della fauna ittica, nonché la presenza di specie tolleranti, onnivore o bentofaghe.

In conclusione, i risultati della nostra analisi, sottolineano ulteriormente la necessità di porre una maggiore attenzione agli apporti di azoto, che, soprattutto nei casi di azoto veicolato da deposizioni atmosferiche, potrebbero interessare anche ecosistemi lacustri relativamente distanti da impatti diretti delle attività antropiche, alterandone la struttura delle comunità biotiche.

1. Introduzione

Dopo la rivoluzione industriale, drastici cambiamenti si sono verificati nel ciclo dell'azoto a scala globale. La disponibilità e la mobilità di forme azotate sono aumentate enormemente, a seguito dell'incremento nell'uso dei fertilizzanti e dei combustibili fossili, determinando il trasporto di composti azotati dalle aree a maggiore concentrazione di attività agricola ed industriale verso zone a minor concentrazione di questi composti (Vitousek et al., 1997).

L'azoto ritorna al suolo soprattutto nelle aree con maggior deposizione e viene ridistribuito ai corpi idrici a seguito dei fenomeni di leaching che interessano i bacini imbriferi nei quali i terreni sono sovrasaturi di azoto. Attraverso questo meccanismo, anche sistemi acquatici situati in aree remote del pianeta possono andare incontro ad un arricchimento da azoto (Rogora et al., 2008).

Se, in un primo tempo, l'arricchimento in azoto era stato visto come una possibile causa di acidificazione per gli ambienti acquatici, in anni recenti l'attenzione si è spostata verso il ruolo dell'azoto come fattore limitante per la crescita algale e, quindi, come possibile causa di eutrofizzazione. L'importanza del fosforo come unico elemento limitante la produzione fitoplanctonica è stato seriamente rimesso in discussione (Sturner, 2008; Lewis & Wurtsbaugh, 2008), operando una revisione critica del paradigma della limitazione da P, sostenuto da Schindler (1977). Le conclusioni sono che entrambi gli elementi possono essere limitanti e che la compensazione di un deficit di azoto con uno spostamento della struttura della biocenosi algale verso la prevalenza di specie azoto fissatrici è un fenomeno controverso e poco documentato, soprattutto nei laghi oligotrofi. In particolare, Sturner (2008), sottolinea l'importanza di considerare le corrette scale temporali in relazione alla limitazione dei vari nutrienti (non solo P ed N, ma anche i micronutrienti) e di valutare come questa agisca alle scale temporali di sviluppo delle popolazioni algali. In quest'ottica, l'esistenza di differenti tipi di limitazione, legata ai vari nutrienti, appare la regola, piuttosto che l'eccezione.

Meta-analisi di dati sperimentali (Elser et al., 1990; 2007) e risultati di esperimenti di arricchimento (Elser et al., 1990) hanno dimostrato come la limitazione da P e da N siano condizioni che si possono verificare approssimativamente con la stessa frequenza ed entità, ed aumenti evidenti della biomassa fitoplanctonica si osservano in genere quando i due elementi vengono aggiunti in contemporanea. Di conseguenza, variazioni anche piccole negli input di uno dei due elementi possono comportare il passaggio da una condizione all'altra (Sturner 2008). In questo contesto un fattore da tenere sicuramente presente sono gli apporti di azoto da deposizioni atmosferiche: questo input infatti ha conosciuto un forte incremento negli ultimi decenni a causa di urbanizzazione, industrializzazione e intensificazione delle pratiche agricole, che hanno portato ad una crescita sostanziale delle emissioni dei composti di azoto in atmosfera (Galloway et al., 2008). Gli input atmosferici alle acque riguardano principalmente i composti dell'azoto; di conseguenza determinano un aumento nel rapporto N:P e possono comportare uno spostamento da una

condizione di N limitazione ad una di P limitazione, come è stato effettivamente osservato per alcuni laghi Europei e Nordamericani (Bergstrom et al., 2005; Goldman et al., 1993). Esperimenti di arricchimento in N condotti su laghi alpini nelle Rocky Mountain, Colorado, sottoposti ad un gradiente di deposizione, hanno evidenziato una riposta qualitativa del fitoplancton nei laghi soggetti ad apporti elevati ed il passaggio ad una più estesa condizione di limitazione da P (Elser et al., 2009). L'aggiunta di modeste quantità di nutrienti ad ambienti oligotrofi, come i laghi alpini d'alta quota o in generale gli ambienti lacustri in aree remote, può modificarne la composizione in specie e influenzarne la produzione primaria (Jassby et al., 1995; Sickman et al., 2003; Wolfe et al., 2001; Bergstrom & Jansson, 2006; Enders et al., 2008). Gli ecosistemi limitati da azoto sono naturalmente i più sensibili rispetto ad un aumento negli input di questo elemento (e.g. Murphy et al., 2010; Diaz et al., 2007). Studi paleolimnologici hanno dimostrato ad esempio come l'incremento degli apporti di azoto dalle deposizioni possa contribuire a spiegare le modificazioni nelle comunità algali dei laghi di montagna (Saros et al., 2003; Wolfe et al., 2001).

L'effetto dell'azoto sulle macrofite in laghi oligotrofi non è stato investigato su ampia scala, per quanto riguarda le specie coinvolte, le aree interessate o i carichi atmosferici di azoto. In generale, in Europa occidentale, si è assistito al forte declino delle comunità macrofite tipiche di ambienti oligotrofi leggermente acidi (associazioni ad *Isoetes* sp.), acido tolleranti ed in grado di vivere in condizioni di scarsa disponibilità di azoto (Arts, 2002). In alcune regioni, queste associazioni sono state sostituite da specie nitrofile, come *Juncus bulbosus* e *Sphagnum* sp. (Roelofs et al., 2002). Studi condotti su numerosi laghi dell'Europa occidentale indicano che il cambiamento nella vegetazione è legato ad un incremento della disponibilità di nutrienti, soprattutto azoto ammoniacale (Roelofs et al., 1984). Peraltro, pochi studi hanno riguardato ambienti mesotrofi ed eutrofi di pianura, dove è stato dato maggior risalto al ruolo del fosforo nel controllo della biomassa e della profondità di sviluppo delle macrofite. Per esempio Jeppesen et al. (2005), dopo aver valutato 35 laghi di pianura, conclude che, per quei pochi casi dove erano disponibili informazioni sulle macrofite, i risultati sono discordanti: in alcuni laghi l'abbondanza, la copertura, la biomassa e la distribuzione in profondità delle macrofite sommerse aumentano alla riduzione del carico trofico, mentre in altri non vi sono variazioni, nonostante l'evidente aumento della trasparenza delle acque. Tuttavia anche in questo caso, lo studio non separa l'effetto della riduzione dei carichi di fosforo da quella dei carichi di azoto.

Recentemente, Gonzales Sagrario et al. (2005), hanno svolto uno studio sperimentale su 24 mesocosmi in un lago poco profondo, e hanno individuato nell'azoto un importante fattore per il controllo dello sviluppo delle macrofite. Nel loro studio, l'effetto principale è la drastica riduzione della copertura di macrofite, al di sopra del valore soglia di azoto di 2 mg l⁻¹. Tuttavia, lo studio non è poi stato esteso a situazioni naturali.

In ogni caso, i legami tra le modificazioni osservate nella struttura delle associazioni macrofite, l'aumento di N e delle deposizioni non sono completamente inequivocabili, poiché altri fattori, come i processi di sedimentazione, il clima e la competizione tra specie possono giocare un ruolo importante (Bobbink et al., 2010). In alcune situazioni un aumento della trofia, che provoca un

aumento della biomassa fitoplanctonica, potrebbe spostare i rapporti di competizione tra macrofite e fitoplancton, determinando cambiamenti indiretti nella struttura della vegetazione acquatica (Arts, 2002). Caratteristiche specie-specifiche, come l'abilità ad usare forme differenti di azoto, potrebbe favorire alcune specie e svantaggiarne altre. Anche gli interventi di liming, volti a contrastare l'acidificazione delle acque, possono avere come effetto modificazioni della flora macrofita, come si è osservato in alcuni laghi della Norvegia, dove l'associazione ad *Isoetes* è scomparsa a seguito dell'aumento della concentrazione di CO₂ e della alterata disponibilità di N nei sedimenti lacustri (Roelofs et al., 1994).

In generale, comunque, i dati disponibili non sono sufficienti per delineare in modo soddisfacente la risposta delle macrofite all'arricchimento in azoto.

Per quanto riguarda i macroinvertebrati, vi sono scarse evidenze sulla risposta diretta di questo comparto biotico alle deposizioni azotate: in particolare, è nota una riduzione della biodiversità del comparto in episodi di acidificazione provocati da apporti di azoto (Lepori & Keck, 2012). Friberg et al. (2009) hanno analizzato le comunità a macroinvertebrati di 594 corsi d'acqua in Danimarca, trovando che l'inquinamento organico nel suo complesso rappresentava una pressione significativa, ma osservando per sole due specie un cambiamento di dominanza negativamente correlato con l'azoto totale. In tutti gli altri casi, non fu possibile evidenziare alcun effetto specificamente legato all'azoto. Si può supporre l'esistenza di effetti indiretti, mediati dalla risposta delle comunità algali o perfitiche all'arricchimento in azoto, tuttavia, le reazioni della comunità macrobentonica possono essere complesse e difficili da prevedere in termini qualitativi e quantitativi.

Lo stesso si può dire per quanto riguarda la fauna ittica, che potrebbe, eventualmente risentire indirettamente di un arricchimento in azoto delle acque, qualora questo andasse ad impattare la comunità zooplanctonica. In sostanza, secondo Elser et al. (2009a), un apporto eccessivo di azoto alle acque superficiali, è potenzialmente nocivo per l'intera rete trofica, sebbene le risposte siano più o meno evidenti e/o complesse nei diversi comparti trofici.

Nonostante quanto in precedenza descritto, il problema del carico di azoto alle acque superficiali è stato, fino ad ora, sottovalutato: in Italia, mentre per i nitrati nelle acque sotterranee il D.Lgs 152/99 identifica dei valori soglia ai quali corrispondono delle classi di rischio, per le acque superficiali il D.Lgs. 260/2010 individua, per l'azoto inorganico, dei limiti tra le classi Buona e Sufficiente solo nelle acque di transizione. Gruppi di lavoro internazionali, tra cui l'International Nitrogen Initiative (INI) e la European Nitrogen Assessment (ENA; Sutton et al., 2001), nata nell'ambito del ESF-Research Networking Programme 'Nitrogen in Europe, hanno cercato di definire la quantità di azoto accettabile per gli ecosistemi acquatici, cioè il livello oltre il quale è da attendersi un danno significativo allo stato delle acque. Per i nitrati questo livello è stato identificato in 2 mg N l⁻¹, valore spesso ampiamente superato nelle acque di laghi e fiumi in aree ad elevato impatto da azoto. È stato inoltre messo in evidenza come non siano solo i nitrati la forma di N da monitorare ed eventualmente controllare; l'N in tutte le sue forme, sia organica che inorganica, dovrebbe essere oggetto di monitoraggio nell'ambito dei piani di tutela delle acque (Sutton et al., 2001). La misura dell'N totale ad esempio è fondamentale nella valutazione del ruolo dell'N come fattore limitante la

produzione primaria negli ambienti acquatici; numerosi ecosistemi in Europa infatti sono co-limitati da P ed N e la limitazione da N è comune in ambito costiere ed in molti ambienti oligotrofi (Phillips et al., 2008). In base all'analisi condotta dall'ENA, che ha considerato criticamente numerosi studi sugli impatti dell'eccesso di N sulle acque, i limiti normalmente utilizzati per valutare lo stato qualitativo dei corpi idrici devono essere opportunamente rivisti, in un'ottica di "ecological threshold", ovvero allo scopo di prevenire danni significativi all'ecosistema nel suo complesso. È necessario inoltre definire dei limiti sia a breve che a lungo termine, tenendo in considerazione che l'arricchimento in N procede per fasi progressive, e anche livelli di input medio-bassi ma costanti nel tempo, quali quelli ad esempio dovuti alle deposizioni atmosferiche, devono essere opportunamente valutati (Fenn et al., 2003).

A partire dai dati raccolti con le campagne di campionamento effettuate nell'ambito del progetto InHabit, questo documento presenta un'analisi delle relazioni tra le variabili ambientali e gli organismi appartenenti alle quattro comunità biotiche utilizzate per la definizione della qualità ecologica degli ambienti lacustri, secondo quanto previsto dal D.Lgs. 260 del novembre 2010, che recepisce la Direttiva Europea sulle Acque 2000/60.

In particolare, le relazioni individuate saranno discusse alla luce dei possibili effetti sulla comunità biotiche di concentrazioni variabili dei composti azotati inclusi tra le variabili considerate.

2. Variabilità ambientale e risposta delle comunità biotiche usate per la classificazione ecologica nei laghi del Progetto InHabit, con particolare riguardo ai composti azotati.

2.1. Fitoplancton

2.1.1. Parametri analizzati e metodi

L'analisi è stata condotta sui dati ottenuti nel corso della campagna di campionamento, condotta nel corso del 2011, su sette corpi d'acqua del Piemonte, di cui cinque laghi naturali e due invasi, nonché su sei corpi d'acqua localizzati in Sardegna, di cui cinque invasi ed un lago naturale.

In Piemonte, sono stati campionati i laghi Candia, Sirio, Viverone, Mergozzo e Piccolo di Avigliana ed i due invasi Morasco e Serrù; in Sardegna gli invasi Bidighinzu, Sos Canales, Liscia, Torrei, Posada ed il Lago Baratz, unico ambiente lacustre naturale dell'isola. Le caratteristiche morfometriche e morfologiche di tutti questi bacini sono state riportate nel Deliverable I1d1, cui si rimanda per una descrizione dettagliata.

In ogni ambiente sono stati effettuati i prelievi stagionali previsti dal protocollo di monitoraggio nazionale (Buraschi et al., 2008), raccogliendo sei campioni nell'arco dell'anno, con l'eccezione degli invasi Serrù e Morasco, nei quali sono stati raccolti solamente tre campioni, poiché, a causa della quota elevata alla quale si trovano, il periodo in cui è possibile accedere al lago è ridotto all'intervallo giugno-ottobre.

Nelle matrici di dati usate per l'analisi, i laghi sono individuati con le seguenti abbreviazioni: Candia = CND, Sirio = SIR, Viverone = VIV, Mergozzo = MRG, Piccolo di Avigliana = AVI, Morasco = MOR, Serrù = SER, Bidighinzu = BDG, Sos Canales = SCA, Baratz = BAZ. Liscia, Torrei e Posada non compaiono, a causa della mancanza, al momento dell'analisi, delle biomasse fitoplanctoniche e di alcuni dati sulle variabili chimico-fisiche.

2.1.1.1. Variabili fisiche e chimiche

I prelievi per le analisi chimiche sono stati effettuati prelevando cinque campioni lungo la colonna d'acqua, a profondità variabile in relazione alla stratificazione termica, secondo il protocollo di monitoraggio nazionale (Sollazzo et al., 2008), che prevede la raccolta di un campione in prossimità della superficie, uno nello strato epilimnico (4/5 dell'epilimnio), uno nello strato metalimnico, uno nell'ipolimnio superficiale, uno nell'ipolimnio profondo.

Le variabili considerate nell'analisi sono: temperatura, conducibilità, alcalinità, pH, ossigeno disciolto, saturazione percentuale di ossigeno, fosforo reattivo solubile, fosforo totale, azoto ammoniacale, azoto nitrico, azoto totale, silice reattiva, trasparenza e clorofilla totale.

Per avere un dato correlabile con quello integrato relativo alla biomassa fitoplanctonica, i valori ottenuti a profondità discrete sono stati mediati aritmeticamente per ogni campione, ad eccezione della trasparenza e della clorofilla integrata nella zona eufotica. I dati grezzi delle singole variabili sono stati trasformati in doppia radice quadrata, per avere ordini di grandezza confrontabili per tutte le variabili.

2.1.1.2. Fitoplancton

I prelievi per il fitoplancton sono stati effettuati integrando serie di campioni discreti raccolti nello strato eufotico, secondo quanto previsto dal protocollo nazionale di monitoraggio. Gli organismi fitoplanctonici sono stati conteggiati con il metodo del microscopio invertito (Utermöhl, 1958), classificando i *taxa* rinvenuti fino al livello di specie, dove possibile. La biomassa algale è stata calcolata equiparando la morfologia delle cellule a solidi geometrici semplici ed utilizzando le formule per il calcolo del biovolume cellulare riportate in Hillebrand et al. (1999) e Sun & Liu (2003).

L'esame tassonomico dei campioni ha portato all'identificazione di oltre 290 unità tassonomiche, molte delle quali presenti solo occasionalmente e con biomasse poco rilevanti. Allo scopo di selezionare le specie più interessanti per valutare la relazione con l'azoto e semplificare la matrice dei dati originali, i *taxa* sono stati, in una prima fase, raggruppati al livello di ordini, riducendo il numero di unità tassonomiche a 23. La prima fase dell'analisi statistica ha permesso di evidenziare quali fossero gli ordini meglio correlati con i composti dell'azoto, consentendo, quindi di selezionare solo le specie algali appartenenti a questi ordini. Un'ulteriore selezione è stata fatta eliminando quelle specie che non superavano, come somma di tutti i campioni, il valore di $10 \text{ mm}^3 \text{ m}^{-3}$. In questo modo, il numero di specie in matrice si è ridotto a 51.

Per effettuare le analisi statistiche sono stati utilizzati sempre i dati di biomassa, trasformati in doppia radice quadrata, per ridurre il peso degli ordini o delle specie più abbondanti e, successivamente, convertiti in percentuale.

2.1.1.3. Analisi statistiche

La relazione tra ordini/specie e variabili ambientali è stata esplorata per mezzo della Canonical Correspondence Analysis (CCA) e della redundancy analysis (RDA), utilizzando il pacchetto CANOCO 4.5 (ter Braak & Smilauer, 2002). La significatività delle variabili da includere nel modello è stata testata per mezzo del test di permutazione di Monte Carlo con 499 permutazioni.

La relazione di ogni ordine/specie con i composti azotati inclusi come variabili significative nel modello è stata analizzata usando i modelli additivi generalizzati (GAM, Generalized Additive Models). In questo tipo di modelli, la risposta della variabile dipendente non è espressa attraverso una combinazione lineare dei valori della variabile indipendente, ma applicando un termine di *smoothing*, che definisce la forma della curva. La bontà dei modelli testati è stata valutata con la statistica AIC, scegliendo il modello con il valore più basso per questo parametro.

2.1.2. Risultati

2.1.2.1. Ordini fitoplanctonici e variabili ambientali

La percentuale di varianza spiegata dai primi due assi di ordinamento della CCA equivale al 49%, valore che sale al 61% se si considera anche il terzo asse, con un valore di inerzia di 1.23. Le variabili più significative incluse nel modello, identificate con il test di permutazione di Monte Carlo, sono le seguenti: conducibilità (Cond; $p=0.002$), alcalinità (Alk; $p=0.002$), azoto ammoniacale (NH_4 , $p=0.002$), silice reattiva (RSi; $p=0.04$), azoto totale (TN; $p=0.044$), fosforo totale (TP; $p=0.056$).

In figura 1 è riportato il diagramma che mostra la posizione dei singoli campioni lungo i due assi di ordinamento della CCA. Il primo asse di ordinamento è individuato, nella sua parte positiva, da fosforo reattivo e conducibilità, secondariamente da temperatura ed alcalinità, mentre nella parte negativa si trovano ossigeno disciolto e percentuale di saturazione, sebbene la loro correlazione con l'asse 1 sia meno evidente. Le variabili che individuano il secondo asse sono, in particolare, azoto ammoniacale sul lato positivo e trasparenza sul lato negativo.

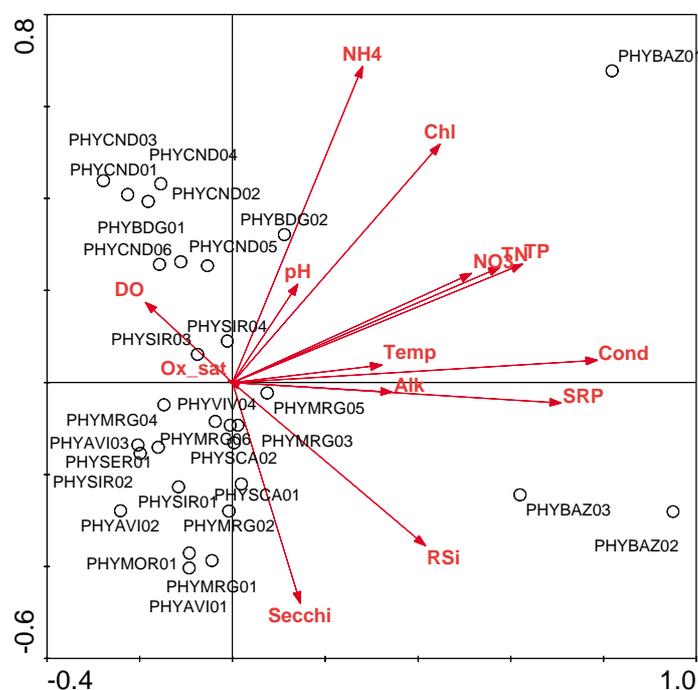


Fig. 1. Ordinamento dei singoli campioni lungo i primi due assi della CCA: il codice indica il tipo di campione (PHY=fitoplancton), il lago (abbreviazioni nel testo) ed il numero progressivo del prelievo in ordine cronologico (01 è il primo campione dell'anno, 02 il secondo e così via).

Per quanto riguarda la posizione dei campioni, si osserva che i tre campioni del Lago Baratz si separano nettamente dagli altri lungo il primo asse. Ciò è dovuto, in particolare, a valori decisamente elevati di conducibilità. Inoltre, la posizione del campione BAZ01 indica anche una concentrazione particolarmente elevata di azoto ammoniacale. Gli altri laghi si dividono in due gruppi distinti lungo l'asse 2: sul lato negativo troviamo i campioni dei laghi Sirio, Mergozzo, Morasco, Serrù, Avigliana, mentre Candia e Bidighinzu sono sul lato positivo. Questa collocazione sembra rispecchiare il gradiente trofico: infatti, i campioni del quadrante inferiore sono associati ad una trasparenza elevata, mentre quelli del quadrante superiore sono caratterizzati da concentrazioni più alte di azoto ammoniacale e di clorofilla, nonché da valori più alti di pH, condizioni che riflettono una maggiore produttività fitoplanctonica.

Per quanto riguarda l'ordinamento degli ordini fitoplanctonici (Fig. 2), nei quadranti di destra troviamo ordini caratteristici di ambienti a trofia elevata (Oscillatoriales, Chlorellales, Volvocales, Nostocales), particolarmente abbondanti nei laghi Baratz e Bidighinzu. Nei quadranti di sinistra dell'ordinamento si collocano diversi ordini che includono organismi flagellati (Peridinales, Gymnodinales, Prymnesiales, Cryptomonadales, Chromulinales: questi ordini includono organismi che prediligono ambienti oligotrofi a moderata alcalinità (per es. *Mallomonas* e *Synura*) o che tollerano una forte stratificazione termica, in quanto capaci di raggiungere nutrienti segregati in strati d'acqua difficilmente raggiungibili da alghe non flagellate (Reynolds et al., 2002).

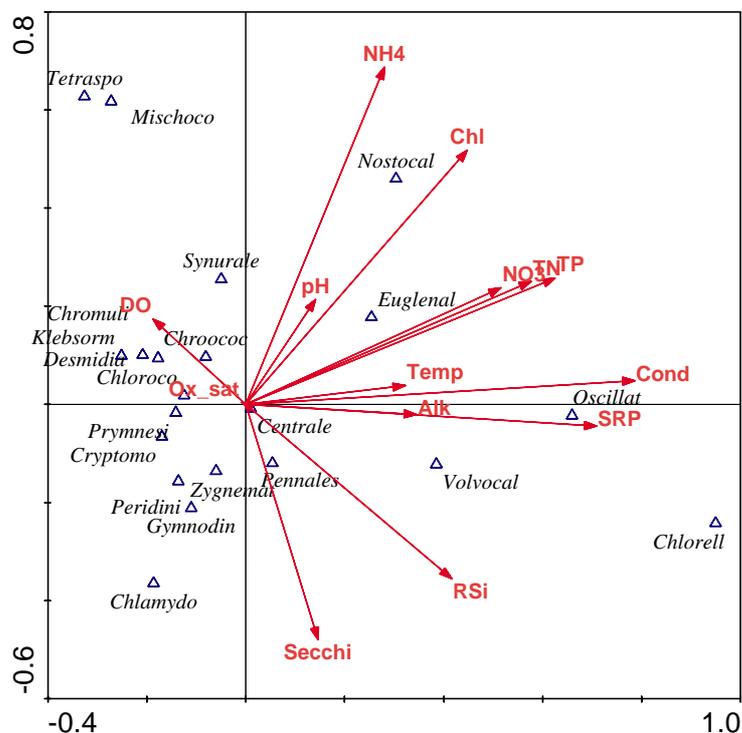


Fig.2 . Ordine degli ordini fitoplanctonici lungo i primi due assi della CCA.

Inoltre, questi organismi possono ricorrere ad un metabolismo eterotrofo per far fronte alla scarsità di composti inorganici. Nel secondo quadrante spicca la posizione di Tetrasporales e Mischococcales, che caratterizzano il solo Lago di Candia.

La figura 3 fornisce un quadro complessivo della abbondanza dei diversi ordini nei laghi campionati. In generale, i laghi che ospitano la maggiore diversità di ordini sono Candia, Mergozzo e Sirio, mentre gli ambienti più poveri sono Serrù e Morasco. Le Oscillatoriales si confermano un ordine ubiquitario, che può diventare importante anche in ambienti a trofia moderata (come il Mergozzo), grazie al suo posizionamento nella nicchia metalimnetica, dove i nutrienti si accumulano nel periodo di stratificazione estiva, in quanto la sedimentazione delle particelle organiche è rallentata dal forte gradiente termico. Interessante anche l'abbondanza di Peridinales che caratterizza il Viverone: questo ambiente presenta, in fase di stratificazione, un epilimnio con trasparenza elevata e molto povero di nutrienti, che si accumulano negli strati metalimnetici. Una colonna d'acqua con queste caratteristiche è favorevole allo sviluppo dei dinoflagellati (Reynolds et al., 2002), che possono sfruttare le migliori condizioni di luce e nutrienti, migrando tra epilimnio ed ipolimnio.

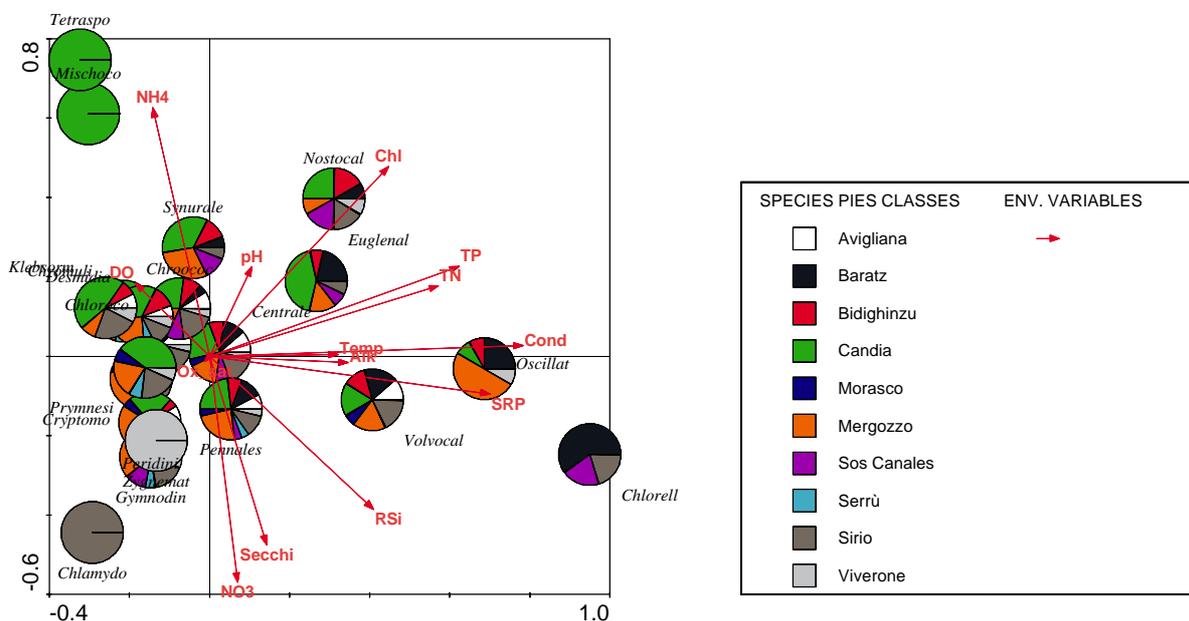


Fig. 3. Ordinamento degli ordini fitoplanctonici lungo i primi due assi della CCA. Le frazioni di torta rappresentano l'abbondanza di ogni singolo ordini negli ambienti studiati.

2.1.2.2. Relazioni con i composti azotati

Sulla base dei risultati del test di Monte Carlo, azoto totale ed ammoniacale sono i composti azotati che contribuiscono significativamente a definire gli assi di ordinamento: quindi, usando i modelli additivi generalizzati, è stata valutata la risposta dei singoli ordini fitoplanctonici al gradiente di queste due variabili. In tabella 1 sono riportati i valori di p per gli ordini fitoplanctonici per i quali è stato possibile interpolare un modello rappresentativo.

Tabella 1. Ordini fitoplanctonici e valori di significatività dei modelli previsionali per le due variabili predittive associate all'azoto, risultate significative nel test Monte Carlo: p *n.l.* rappresenta la significatività del test di deviazione dalla linearità nella risposta. In grassetto gli ordini che hanno dato una risposta significativa ad una delle due variabili, evidenziati quelli che hanno risposto significativamente ad entrambe. L'assenza di parametri indica che non è stato possibile interpolare un modello.

Ordine	NH ₄				TN			
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>AIC</i>	<i>p n.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>AIC</i>	<i>p n.l.</i>
Chlorellales					1.53	0.2346	450	----
Chlorococcales	5.42	0.0107	538	0.0028	2.63	0.091	634	0.0748
Chromulinales					2.14	0.1551	868	----
Chroococcales	4.31	0.0242	655	0.0069	2.83	0.1039	737	----
Cryptomonadales	2.84	0.0768	1057	0.0431	3.67	0.0658	1057	----
Desmidiiales					2.61	0.1174	456	----
Euglenales	2.09	0.1601	624	----	2.46	0.1052	606	0.0455
Klebsormidiales	2.42	0.1083	144	0.0425				
Mischococcales					8.40	0.0015	40	0.0012
Nostocales	19.02	<0.0001	659	0.0359	26.78	<0.0001	758	----
Oscillatoriales	9.39	0.0008	1264	0.0003	9.79	0.0041	1488	----
Pennales	6.67	0.0046	831	0.0131				
Peridiniales	3.08	0.0967	581	----				
Prymnesiales					2.80	0.0792	568	0.0765
Synurales	2.68	0.1134	545	----	3.77	0.0364	498	0.0108
Tetrasporales	2.73	0.0837	73	0.0514				
Volvocales					1.42	0.2555	1084	----

Si può osservare come siano numerosi gli ordini che hanno mostrato una relazione significativa con almeno una delle due variabili azotate, ma solamente due di essi, cioè Nostocales ed Oscillatoriales, hanno risposto significativamente alla variazione di entrambe le variabili. La risposta alle variazioni di concentrazione dell'azoto ammoniacale è, nella maggior parte dei casi, di tipo non lineare, come indicano i valori del test di deviazione dalla linearità.

Una rappresentazione grafica delle curve interpolate dai modelli additivi generalizzati, per gli ordini che hanno mostrato una risposta statisticamente significativa, è riportata nelle figure 4 e 5.

Per quanto riguarda l'azoto ammoniacale, gli ordini rappresentati mostrano tre tipi differenti di risposta.

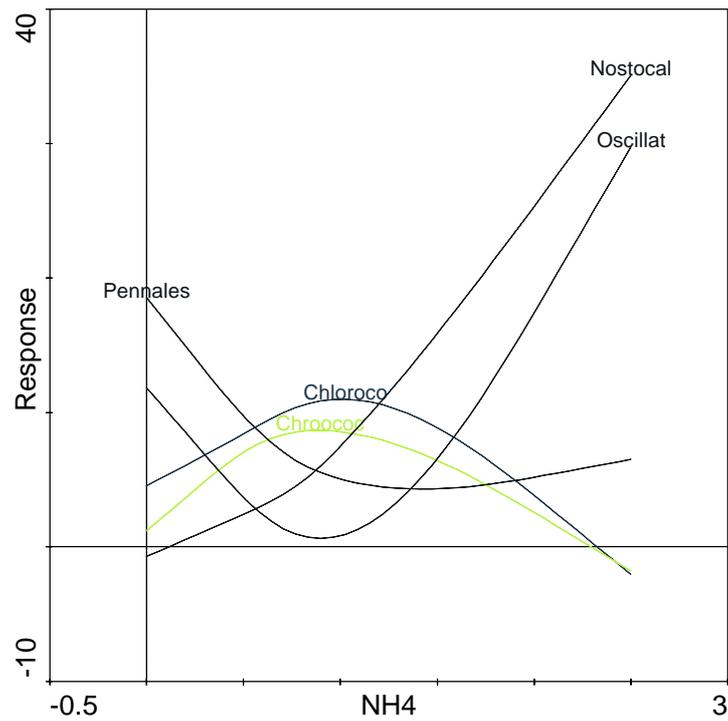


Fig. 4. Curve di risposta degli ordini fitoplanctonici significativi al variare della concentrazione di azoto ammoniacale. "Response" è espressa in percentuale di biomassa, "NH4" in doppia radice quadrata della concentrazione (mg l^{-1}).

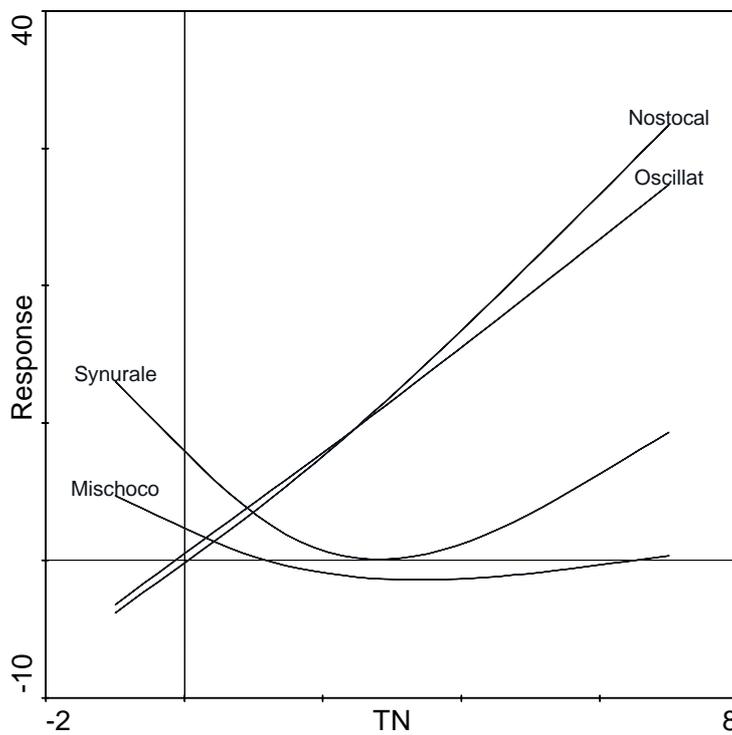


Fig. 5. Curve di risposta degli ordini fitoplanctonici significativi al variare della concentrazione di azoto totale. "Response" è espressa in percentuale di biomassa, "TN" in doppia radice quadrata della concentrazione (mg l^{-1}).

Le Pennales vanno diminuendo all'aumentare della concentrazione di NH_4 , Chlorococcales e Chroococcales sembrano preferire ambienti con livelli intermedi di azoto ammoniacale, mentre Nostocales ed Oscillatoriales sono decisamente favorite in presenza di concentrazioni elevate. Questi due ordini mostrano una risposta analoga nei confronti dell'azoto totale, dove, però, la relazione diventa lineare anche alle basse concentrazioni. Tra gli altri ordini che rispondono significativamente ad una variazione di TN, vi sono Synurales e Mischcoccales, che sembrano preferire ambienti con basse concentrazioni di azoto, sebbene il modello di risposta di questi due gruppi indichi una certa tolleranza, soprattutto nel caso delle Synurales.

2.1.2.3. Specie e variabili ambientali

In una seconda fase dell'analisi è stata testata la risposta del fitoplancton ad un livello tassonomico inferiore, selezionando le specie o i generi appartenenti agli ordini che avevano mostrato una relazione significativa con le variabili azotate.

In questo caso la CCA ha restituito un valore di inerzia (misura della varianza totale) superiore a 6: una causa potrebbe essere la ripartizione troppo disomogenea delle specie nei diversi campioni. Per questo motivo si è scelto di analizzare le relazioni tra specie e variabili ambientali usando la RDA, invece che la CCA.

Il risultato dell'analisi spiega circa il 40% della varianza nella relazione tra specie e variabili ambientali, considerando i primi due assi di ordinamento, valore che sale al 53% includendo il terzo asse. Il test Monte Carlo ha selezionato le seguenti variabili significative: conducibilità (Cond; $p = 0.002$), alcalinità (Alk; $p = 0.002$), silice reattiva (RSi; $p = 0.002$), azoto totale (TN; $p = 0.002$), azoto ammoniacale (NH_4 ; $p = 0.004$) e fosforo reattivo solubile (SRP, $p = 0.018$).

Il diagramma di ordinamento, riportato in figura 6, si differenzia da quello ottenuto con la CCA soprattutto per la posizione della silice e dell'ossigeno, sempre in contrapposizione, ma collocati ora nel I e III quadrante, rispettivamente, invece che nel II e IV. Lungo il primo asse è evidente la separazione di un gruppo più piccolo di specie, localizzate in prevalenza nel I quadrante, ed associate a fosforo reattivo e totale, silicati, azoto totale. In questo gruppo troviamo alcuni cianobatteri rappresentati di ambienti meso-eutrofi o eutrofi (*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix*), insieme a diatomee di piccole dimensioni (*Navicula*, *Cymbella* e *Nitzschia*): questi *taxa* sono rappresentativi dei laghi Baratz e Bidighinzu, che, analogamente a quanto visto per l'ordinamento basato sugli ordini, si separano dagli altri, soprattutto per le elevate concentrazioni di fosforo reattivo. Nel II quadrante troviamo quasi esclusivamente organismi appartenenti alle Cryptophyta (*Cryptomonas erosa*, *C. obovata*, *C. reflexa*, *C. marsoni*, *C. curvata*, *C. phaseolus*, *Plagioselmis nannoplanctica*), associati ad alcalinità, azoto ammoniacale e pH.

Nel III quadrante l'ordinamento delle specie è meno chiaro, anche se l'associazione di questi *taxa* con la trasparenza ed una buona ossigenazione della colonna d'acqua potrebbe indicare questo gruppo di specie come rappresentativo di ambienti a bassa trofia: interessante anche la posizione delle grandi diatomee pennate, in questo ordinamento chiaramente contrapposte al vettore della

silice, posizione che potrebbe rispecchiare il maggior consumo di questo nutriente in presenza di diatomee fortemente silicizzate.

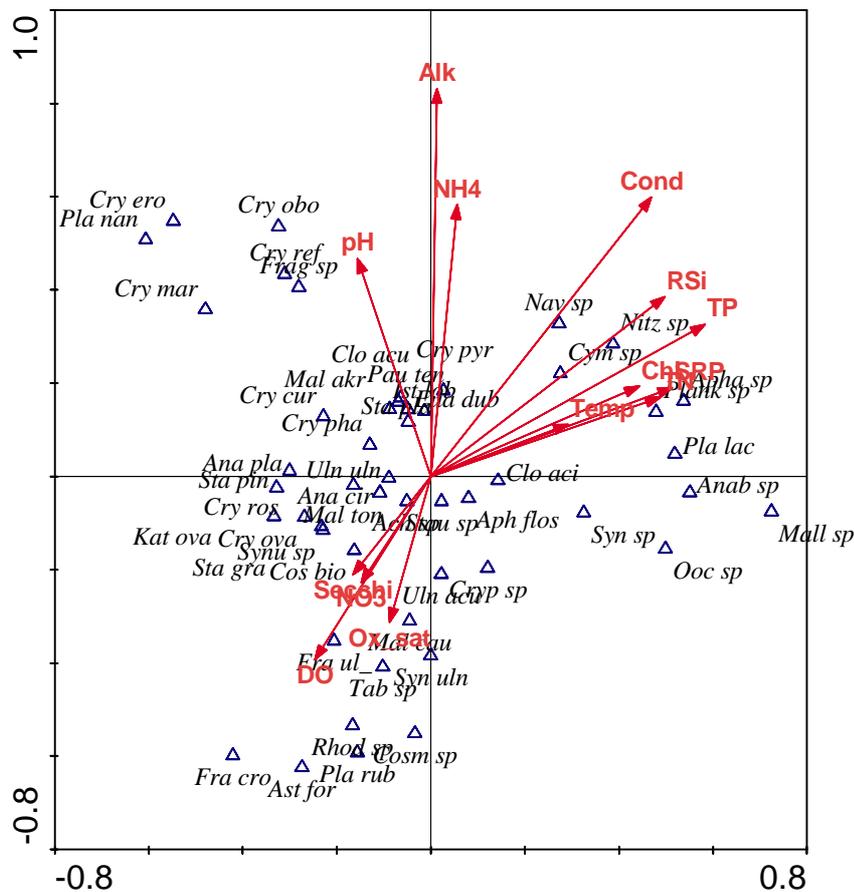


Fig. 6. Ordinamento dei taxa fitoplanctonici appartenenti agli ordini di figura 2, lungo i primi due assi della RDA.

2.1.2.4. Relazioni con i composti azotati

Analogamente a quanto fatto con gli ordini, la risposta ai gradienti dei composti azotati risultati significativi nel test Monte Carlo, è stata valutata con l'uso dei modelli additivi generalizzati. La tabella 2 riporta i parametri dei modelli interpolati per le specie fitoplanctoniche considerate nell'analisi RDA.

I risultati riportati in tabella 2 mettono in evidenza l'esistenza di una risposta più complessa e diversificata a livello di singole specie, rispetto a quanto osservato per i generi. Infatti, le specie che rispondono all'azoto ammoniacale non sono le stesse che rispondono all'azoto totale, ad eccezione di *Closterium acutum* ed *Isthmochloron lobulatum*, di cui solo il primo mostra una risposta significativa ad entrambe le variabili. Considerando solo il genere, *Aphanizomenon* e *Planktothrix* confermano la risposta significativa di Nostocales ed Oscillatoriales, mentre la risposta di *Cryptomonas* ad entrambe le variabili rappresenta un elemento di diversità rispetto a quanto

osservato a livello di ordini. Anche a livello di specie, la risposta è, in molti casi, ben descritta da un modello non lineare, come si evidenzia nelle figure 7 e 8, che rappresentano le curve di risposta specifica all'azoto ammoniacale e all'azoto totale, rispettivamente.

Tabella 2. Specie fitoplanctoniche e valori di significatività dei modelli previsionali per le due variabili predittive associate all'azoto, risultate significative nel test Monte Carlo: *p n.l.* rappresenta la significatività del test di deviazione dalla linearità nella risposta. In grassetto gli ordini che hanno dato una risposta significativa ad una delle due variabili, evidenziati quelli che hanno risposto significativamente ad entrambe. L'assenza di parametri indica che non è stato possibile interpolare un modello.

Specie	NH ₄				TN			
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>AIC</i>	<i>p n.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>AIC</i>	<i>p n.l.</i>
Aphanizomenon flos aquae	7.16	0.0033	946	0.0056				
Asterionella formosa	4.86	0.0160	1515	0.1268				
Closterium aciculare	7.31	0.0030	84	0.0211				
Closterium acutum	7.23	0.0122	64	----	5.01	0.0145	63	0.010
Cosmarium sp.	6.7	0.0045	473	0.0096				
Cryptomonas erosa	6.59	0.0048	1515	0.0084				
Cryptomonas marssonii	7.5	0.0027	660	0.0044				
Cryptomonas reflexa	2.34	0.1168	535	0.1028				
Fragilaria crotonensis	10.98	0.0026	1215	----				
F.ulna var. angustissima	2.55	0.1216	478	----				
Fragilaria sp.	2.05	0.1633	493	----				
Isthmochloron lobulatum	2.71	0.0854	41	0.0328	4.57	0.0200	37	0.0129
Mallomonas akrokomos	3.69	0.0652	424	----				
Komma caudata	4.01	0.0304	296	0.0093				
Paulschulzia tenera	5.83	0.0228	107	----				
Plagioselmis nannoplanctica	2.81	0.0784	1054	0.0681				
Planktothrix rubescens	8.91	0.0011	631	0.0231				
Rhodomonas sp.	4.81	0.0166	741	0.0100				
Synedra ulna	2.58	0.1199	286	----				
Tabellaria sp.	3.58	0.0424	101	0.0779				
Ulnaria acus	3.93	0.0321	691	0.0095				
Ulnaria ulna	3.33	0.0793	353	----				
Aphanizomenon sp.					156	<0.001	164	<0.001
Cryptomonas ovata					2.53	0.0994	684	0.0979
Cryptomonas phaseolus					8.38	0.0016	94	0.0014
Cryptomonas pyrenoidifera					2.84	0.0767	140	0.0452
Cryptomonas rostrata					3.23	0.0559	222	0.0297
Euastrum dubium					7.8	0.0022	41	0.0017
Katablepharis ovalis					2.67	0.0881	772	0.0762
Nitzschia sp.					2.34	0.1375	834	----
Planktothrix sp.					5200	<0.001	1327	<0.001
Staurastrum pingue					2.22	0.1288	335	0.0917
Staurastrum planctonicum					3.68	0.0392	39	0.0248
Synura sp.					6.15	0.0065	241	0.0046

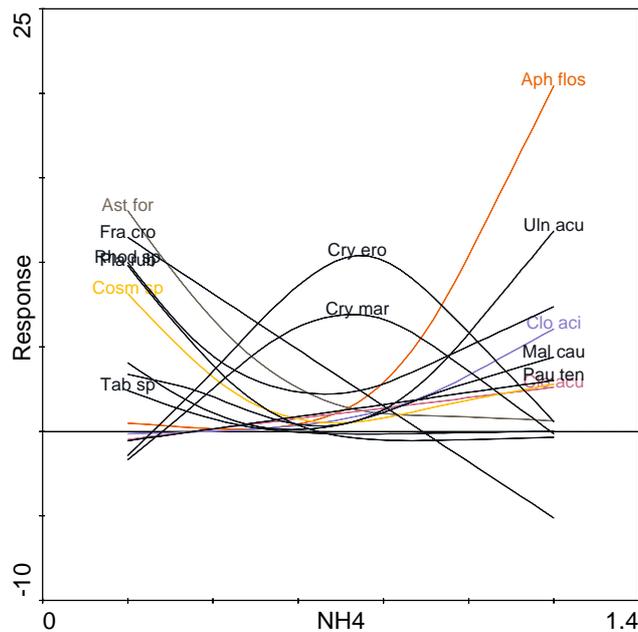


Fig. 7. Curve di risposta di specie significative al variare della concentrazione di azoto ammoniacale. “Response” è espressa in percentuale di biomassa, “NH4” in doppia radice quadrata della concentrazione (mg l^{-1}). Le abbreviazioni dei taxa riportano le prime tre lettere del nome generico e di quello specifico (vedi tabella 2).

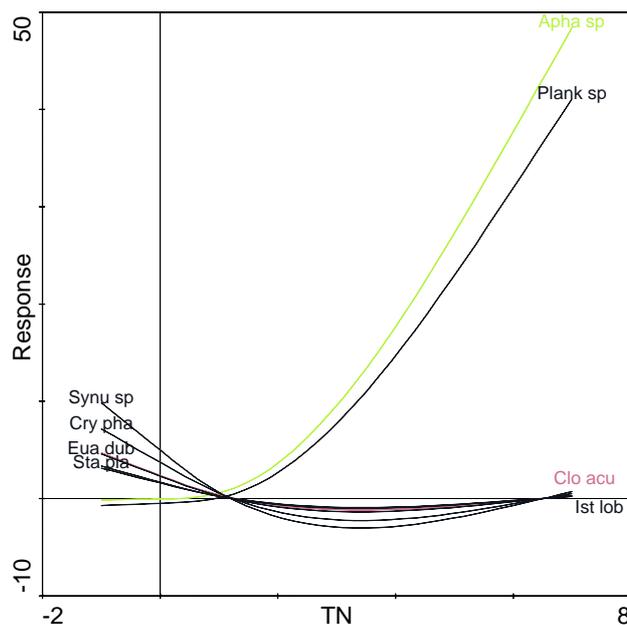


Fig. 8. Curve di risposta di specie significative al variare della concentrazione di azoto totale. “Response” è espressa in percentuale di biomassa, “NH4” in doppia radice quadrata della concentrazione (mg l^{-1}). Le abbreviazioni dei taxa riportano le prime tre lettere del nome generico e di quello specifico (vedi tabella 2).

Per quanto riguarda la risposta ad NH_4 , si osserva una relazione positiva tra questo composto ed *Aphanizomenon flos aquae*, mentre le diatomee pennate tendono a diminuire con l’aumento dell’ammonio, ad eccezione di *Ulnaria ulna*, che sembra adattata anche ad alti livelli di questo composto. Rispetto all’azoto totale, solo *Aphanizomenon* e *Planktothrix* evidenziano una chiara risposta positiva all’aumentare della disponibilità di questo nutriente.

2.1.2.5. Relazioni con il fosforo totale

La ragione di analizzare anche la risposta al fosforo totale (il P reattivo non è stato considerato, in quanto escluso dalle variabili significative col test di Monte Carlo) si spiega con la necessità di stabilire se la risposta ai composti azotati fosse specifica per il gruppo dei cianobatteri, oppure se questi rispondessero in modo analogo anche ad un altro nutriente. In questo secondo caso, la relazione con l'azoto sarebbe stata meno interessante ed avrebbe assunto il significato di una risposta generica all'aumento dei nutrienti.

La risposta al TP è stata testata per gli ordini fitoplanctonici, utilizzando i modelli additivi generalizzati. Il risultato ottenuto è mostrato in figura 9, dove è evidente come il TP sia un fattore di controllo importante per lo sviluppo di numerosi ordini, senza essere una variabile discriminante rispetto alla crescita dei cianobatteri. Il risultato, quindi, conferma il ruolo decisivo dei composti azotati come nutrienti in grado di favorire un aumento di cianobatteri.

A fronte di quanto osservato con gli ordini fitoplanctonici, non si è ritenuto necessario ripetere l'analisi con le specie/genere selezionati nel paragrafo precedente.

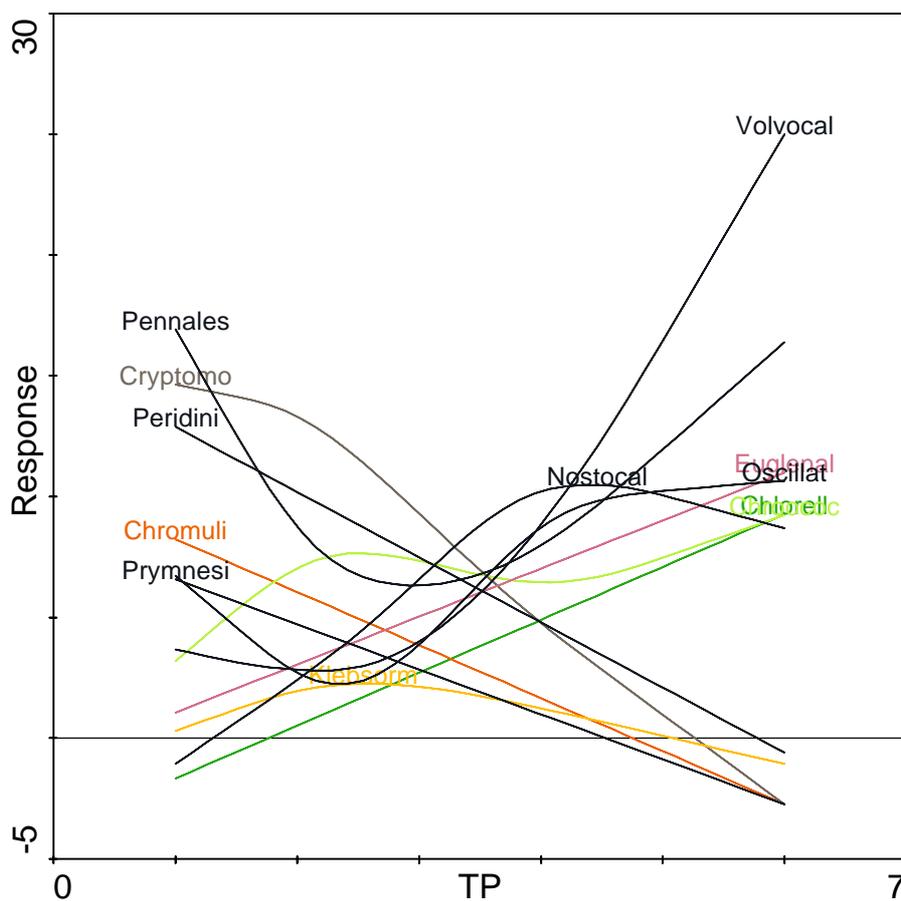


Fig. 9. Curve di risposta degli ordini fitoplanctonici significativi al variare della concentrazione di fosforo totale. "Response" è espressa in percentuale di biomassa, "TP" in doppia radice quadrata della concentrazione ($\mu\text{g l}^{-1}$).

2.2. Macrofite

Nell'ambito del progetto InHabit sono state esaminate, con il protocollo previsto dal D.M. 8 novembre 2010, n. 260, le coperture delle macrofite in tutti i laghi naturali compresi nel progetto InHabit, oltre che nei soli due bacini artificiali sardi dove le macrofite avevano uno sviluppo significativo (Liscia e Sos Canales). Si noti che il protocollo di campionamento, analogamente a quanto avviene per i metodi ufficiali degli altri Paesi europei, esclude la fascia a canneto, ma limita l'area di studio alla parte effettivamente e permanentemente coperta dall'acqua. Nel caso del Lago di Mergozzo, nonostante l'estesa fascia a canneto che ne caratterizza la sponda orientale, il campionamento non ha permesso di ritrovare nessuna macrofita sommersa, emergente o flottante.

La relazione tra le caratteristiche ambientali e a distribuzione delle macrofite nei diversi laghi ed invasi è stata esplorata con il metodo dell'Analisi Canonica delle Corrispondenze (CCA), utilizzando come dati di origine le percentuali di copertura normalizzata di ciascuna specie, normalizzati attraverso la trasformazione radice quadrata. I risultati sono riassunti nel grafico di Figura 10. L'analisi complessiva dei dati è fortemente influenzata dalle comunità presenti nel Lago di Baratz e nei due invasi sardi (Liscia e Sos Canales), che si differenziano notevolmente dai laghi piemontesi. Le variabili ambientali che paiono meglio correlate con questa distribuzione sono il pH e la conducibilità elettrica delle acque, quest'ultima fortemente influenzata dal forte contenuto ionico del Lago di Baratz, situato a poche decine di metri dalla costa occidentale sarda. Limitando l'analisi ai soli laghi piemontesi (Fig. 11), il numero di laghi disponibile scende a quattro, limitando il possibile numero di variabili predittive. L'analisi mostra comunque che la varianza maggiore tra i siti si dispone lungo un asse di trofia, tra il Lago di Avigliana Piccolo, oligotrofo e quello di Viverone eutrofo, dominati da specie diverse del genere *Potamogeton*. Oltre a questo gradiente trofico, appare una diversificazione tra il Lago Sirio, il lago che ha la più bassa concentrazione di ammonio (NH_4) e il Candia, che invece è il lago con maggior concentrazione di ammonio. *Lemna minor* e *Myriophyllum verticillatum* si trovano solo nel primo, mentre *Nymphoides peltata* si trova solo nel secondo, dove si ha anche un'elevata copertura di *Trapa natans*, *Nelumbo nucifera*, *Nuphar luteus* e del genere *Najas*.

Tuttavia questi risultati devono essere considerati puramente descrittivi, in quanto il basso numero di siti impedisce ogni trattamento statistico di questi dati.

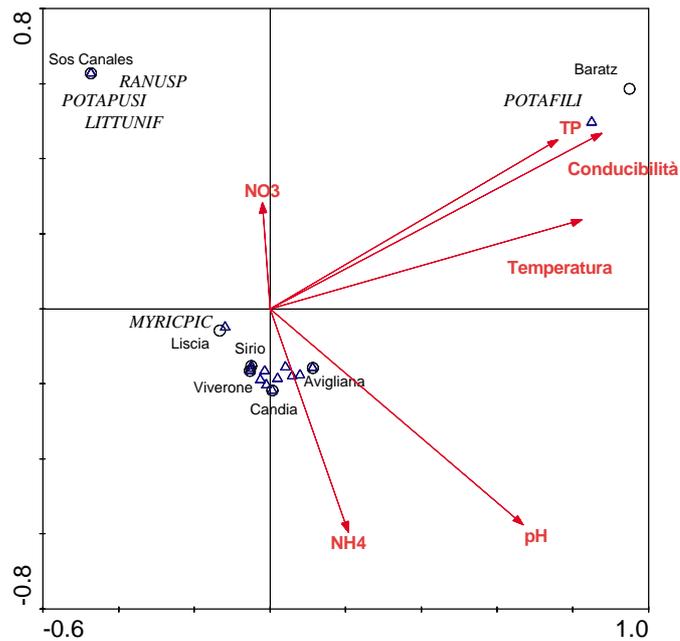


Figura 10. Analisi canonica delle corrispondenze per la copertura percentuale delle macrofite. I centroidi delle specie (triangoli) sono individuati dai codici delle specie solo per quelli che si trovano all'esterno della distribuzione centrale. LITTUNIF: Littorella uniflora, MYRICPIC: Myriophyllum spicatum, POTAFILI: Potamogeton filiformis, POTAPUSI: Potamogeton pusillus, RANUSP: Ranunculus.

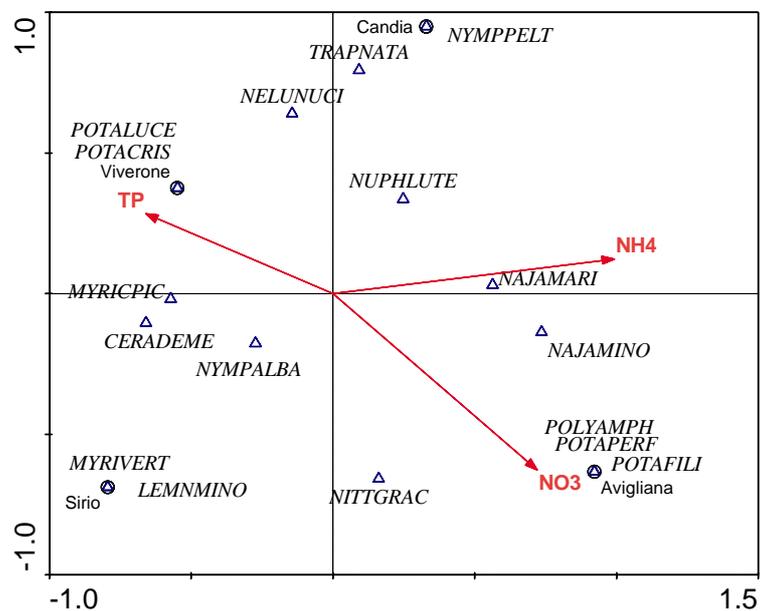


Figura 11. Analisi canonica delle corrispondenze per la copertura percentuale delle macrofite nei soli laghi piemontesi. I centroidi delle specie (triangoli) sono individuati dai codici delle specie. CERADEME: Ceratophyllum demersum, LEMNMINO: Lemna minor, MYRICPIC: Myriophyllum spicatum, MYRIVERT: Myriophyllum verticillatum, NAJAMARI: Najas marina, NAJAMINO: Najas minor, NELUNUCI: Nelumbo nucifera, NITTGRAC: Nittella gracilis, NUPHLUTE: Nuphar lutea, NYMPALBA: Nymphaea alba, NYMPPELT, Nymphoides peltata, POLYAMPH: Polygonum amphibium, POTACRIS: Potamogeton crispus, POTAFILI: Potamogeton filiformis, POTALUCE. Potamogeton lucens, POTAPERF: Potamogeton perfoliatus, TRAPNATA: Trapa natans.

2.3. Fauna bentonica

2.3.1 Metodi

La fauna bentonica lacustre è stata analizzata per le sue correlazioni con l'azoto sui dati ottenuti sino ad oggi grazie all'attività di campagna svolta nella sola stagione primaverile su 5 laghi naturali (piccolo di Avigliana, Candia, Sirio, Viverone e Mergozzo) e su 1 invaso (L. di Morasco), tutti situati in Piemonte. L'analisi del materiale relativo alla seconda campagna di campionamento sui laghi piemontesi e su entrambe le campagne effettuate sugli invasi sardi sarà oggetto di un'analisi statistica successiva, che permetterà di approfondire il discorso ed eventualmente confermare o invalidare quanto riscontrato in questa sede.

La metodica e la programmazione dell'attività di campionamento si è basata su quanto previsto dalle linee guida adottate a livello nazionale (Bazzanti et al., 2007; Boggero et al., 2011), seguendo la modalità "di minima", che prevede la raccolta di campioni in due periodi stagionali estremi per gli ambienti lacustri: la circolazione e la stratificazione. Nel presente report si fa quindi riferimento al solo campionamento alla circolazione. I campioni sono stati prelevati, tramite draga, lungo transetti, in replicati di 3 per sito a tre diverse profondità (quando presenti), rappresentative rispettivamente delle tre fasce batimetriche generalmente riconosciute come rappresentative dell'epilimnio, del metalimnio e dell'ipolimnio. Poiché gli ambienti di studio sono morfometricamente molto diversi fra loro, le metodiche hanno dovuto essere adattate alla tipologia di ambiente.

Nell'analisi statistica successivamente adottata i codici relativi ad ogni sito tengono quindi conto del nome del lago, del numero del transetto (quando un lago ne contiene più di uno) e della fascia di campionamento. Non risulta un riferimento al replicato perché questi, pur venendo trattati separatamente, alla fine vengono proposti come media dei tre campioni. Solamente nel caso del L. di Candia il codice non segue tale procedura, in quanto nel lago, data la scarsa profondità, si è potuta riconoscere la sola zona litorale. Le metodiche di campionamento quindi non hanno sfruttato la tecnica dei transetti, ma un sistema *random*: i codici rappresentano quindi tre zone diverse del lago, tutte litorali, Dx (destra), Sx (sinistra) e Ce (centro lago), ossia punto di massima profondità. I tre replicati sono, anche in questo caso, stati raggruppati in un valore medio. In generale, i codici identificativi sono gli stessi utilizzati nella banca dati (Deliverable D1d2).

I campioni raccolti sono stati sottoposti a *sorting*, identificazione tassonomica spinta (specie, laddove possibile) e conteggio, utilizzando sia uno microscopio stereoscopico (80x) che un microscopio (1000x).

Per quanto riguarda gli aspetti fisico-chimici, i campioni sono stati prelevati tramite bottiglie a strappo alle medesime profondità previste per il campionamento biologico. Le analisi eseguite secondo le modalità in uso presso il CNR-ISE (Tartari & Mosello, 1997) hanno previsto: temperatura, trasparenza tramite disco di Secchi, pH, lo spettro ionico completo ed i nutrienti espressi come azoto totale, azoto ammoniacale e nitrico, fosforo reattivo e totale.

I dati biologici ottenuti, espressi come abbondanze relative, sono stati analizzati statisticamente tramite analisi multivariata (CCA) con CANOCO 4.5 (ter Braak & Smilauer, 2002) dopo trasformazione in radice quadrata. Per i parametri abiotici sono stati considerati per la parte morfometrica e geografica: la profondità del lago (Prof) e di campionamento (Profcamp), l'area del lago (Area) e l'altitudine (Alt), e la trasparenza (Trasp). Per la parte idrochimica ci si è limitati a considerare quei parametri che attraverso l'esperienza si sapeva sicuramente correlati con la fauna bentonica: la conducibilità (Cond), l'alcalinità (Alc), la percentuale di saturazione di ossigeno (O₂), il fosforo totale (TP), l'azoto totale (TN), e la Clorofilla *a* (Chl *a*). Tali dati sono stati trasformati in Log10 prima di applicare l'analisi.

2.3.2 Risultati

Nei 6 laghi studiati e nelle 22 stazioni di campionamento considerate sono stati raccolti ed identificati 3152 individui appartenenti a 13 gruppi faunistici diversi, 7 Classi e 18 famiglie, per un totale di 86 differenti entità tassonomiche. Per comprendere quali entità tassonomiche sarebbe stato utile prendere in considerazione per una analisi statistica, queste sono state suddivise in 4 classi considerando dapprima la frequenza ed in seconda istanza l'abbondanza. Nel primo caso le 4 classi rappresentano le specie rare, frequenti, molto frequenti e ubiquiste. In particolare, se le specie erano presenti in meno di tre stazioni di campionamento sono state definite rare, se in un numero di stazioni compreso fra 3 e 6 sono state definite frequenti, se fra 7 e 9 molto frequenti, ed infine ubiquiste, se in un numero di stazioni superiore a 9. Analogamente nel secondo caso si sono suddivise le medesime specie in 4 classi considerando l'abbondanza come parametro di riferimento. I taxa sono quindi stati considerati scarsi quando presenti con abbondanze < 5%, comuni se presenti con abbondanze comprese fra 5 e 10%, molto comuni se fra 10-15%, e abbondanti se con abbondanze = 15%. Dalla valutazione incrociata delle distribuzioni di frequenza ed abbondanza delle specie si è potuto decidere quali e quanti taxa considerare nell'analisi statistica successiva (18 in totale).

Dall'analisi dei risultati della CCA (Fig. 12), si può osservare come i primi due assi spieghino il 39.4% della varianza totale. Il primo asse è positivamente correlato con la percentuale di saturazione di ossigeno disciolto e la temperatura, ma negativamente con il fosforo totale, la profondità di campionamento, l'azoto ammoniacale, conducibilità e alcalinità, mentre il secondo asse è significativamente correlato con l'area superficiale e la profondità dei laghi, e mostra una correlazione negativa con l'azoto totale e nitrico, e la trasparenza.

Si possono quindi riconoscere due diversi gruppi di laghi e stazioni di campionamento chiaramente separate lungo un gradiente trofico, rappresentato dal primo asse: sulla destra del grafico troviamo quindi tutti quei laghi e/o tutte quelle stazioni di campionamento caratterizzate dall'aver buoni quantitativi di ossigeno anche nelle stazioni più profonde (laghi Morasco e Mergozzo), in particolare la parte alta del primo quadrante rappresenta il L. di Viverone, il più vasto ed uno dei più

Si sono quindi distinte 5 diverse categorie: filtratori (che utilizzano la materia organica particellata presente in sospensione nell'acqua); detritivori (che ingeriscono la materia organica particellata al di sopra o all'interno del sedimento); detrito_erbivori (che ingeriscono particellato e cellule algali); erbivori (che si nutrono di materiale vegetale di diverse dimensioni) e carnivori (che si nutrono di prede ingerendo l'intero animale o nutrendosi dei suoi fluidi). Ognuna di queste categorie è rappresentata da entità tassonomiche anche molto diverse fra loro e, in questo caso, non si è operata alcuna eliminazione (specie rare o scarse), in quanto tutte potevano fornire un contributo al gruppo di appartenenza.

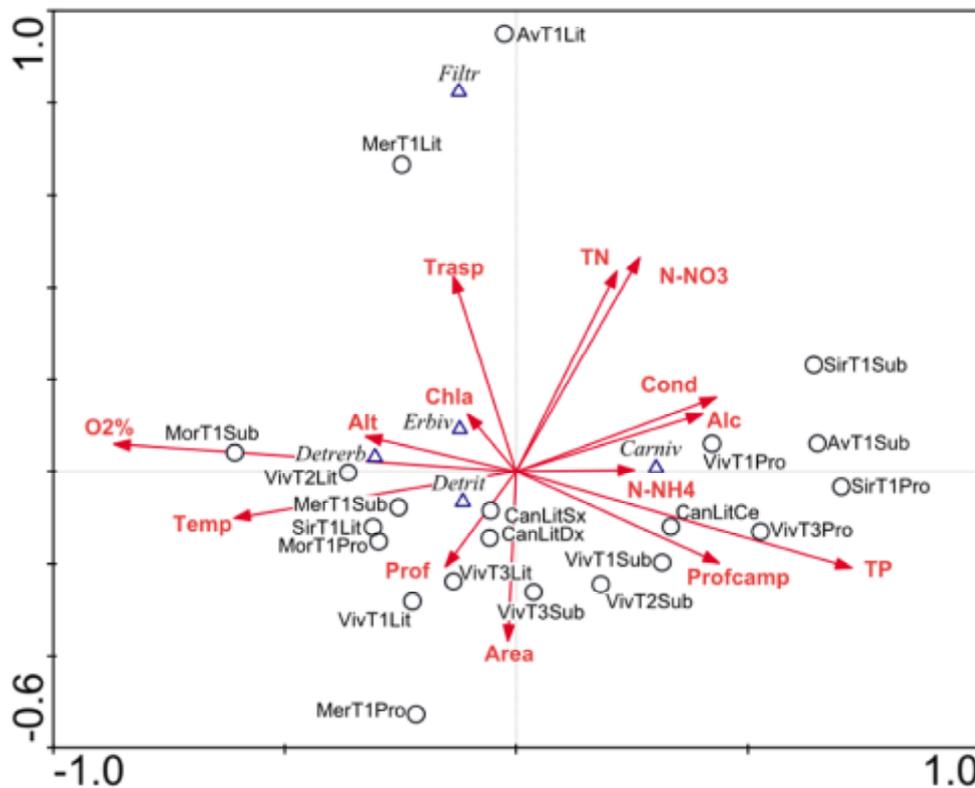


Fig. 13. Ordinamento delle categorie funzionali dello zoobentos (triangoli) e dei campioni (circoli) lungo i primi due assi della CCA.

L'immagine che ne risulta, e che spiega il 65.5% della varianza totale, evidenzia nuovamente un gradiente trofico sul primo asse positivamente legato alle concentrazioni di fosforo totale e alla presenza dei soli carnivori, mentre risulta negativamente correlato alla temperatura ed alle concentrazioni di ossigeno in quei laghi dove prevale la catena del detrito.

Il secondo asse evidenzia una correlazione positiva con azoto nitrico e totale, e trasparenza delle acque dove dominano i filtratori.

2.4. Fauna ittica

2.4.1 Metodi

2.4.1.1 Ambienti studiati e metodologie di campionamento

Le analisi sono state condotte su un totale di 8 laghi, 4 collocati nella regione Piemonte, 4 nella regione Sardegna (Tab. 3). Ogni lago è stato associato ad un codice di tre lettere utilizzato successivamente nell'analisi dei dati.

I campionamenti effettuati sono stati condotti in accordo con quanto previsto dal protocollo CEN EN14757 per le reti multi-maglia, e CEN EN14011 per l'elettropesca, declinati entrambi in Italia nel "Protocollo di campionamento della fauna ittica nei laghi italiani" (APAT 2007, Report CNR-ISE 03-11). Negli invasi Serrù, Morasco e Sos Canales, data la tipologia della zona litorale (troppo profonda, o priva di vegetazione e rifugi), non è stata eseguita l'elettropesca.

Le specie rinvenute sono state classificate e catalogate utilizzando due codici. Uno relativo alla specie (Tab. 4) e un secondo relativo alla *guild* (Tab. 5), ovvero la categoria occupata nella rete trofica o relativa ad una particolare caratteristica ecologica in accordo con quanto riportato nel Deliverable 3.4-4 "*Fish indicators for ecological status assessment of lakes affected by eutrophication and hydromorphological pressures*" del progetto Europeo WISER.

Tab. 3 - Laghi analizzati, codice identificativo, data di campionamento e relative caratteristiche principali.

Lago	Codice	Regione	Tipologia	Superficie (km ²)	Altitudine (m.s.l.m.)	Profondità media (m)
Candia	CND	Piemonte	Naturale	1.4	266	4.7
Mergozzo	MRG	Piemonte	Naturale	1.8	195	45.4
Morasco	MOR	Piemonte	Invaso	0.5	1815	31.0
Serrù	SER	Piemonte	Invaso	0.5	2240	25.0
Posada	POS	Sardegna	Invaso	3.8	47	10.4
Liscia	LIS	Sardegna	Invaso	5.6	178	19.0
Bidighinzu	BDG	Sardegna	Invaso	1.5	330	8.4
Sos Canales	SCA	Sardegna	Invaso	0.3	707	10.4

2.4.1.2. Variabili Chimico-fisiche e idromorfologiche (CFI)

I prelievi concernenti le analisi chimiche sono stati condotti seguendo le linee guida del protocollo di monitoraggio nazionale (Sollazzo *et al.*, 2008). Tutti i valori delle variabili considerate sono stati trasformati in doppia radice quadrata al fine di ottenere delle grandezze aventi ordini confrontabili. Anche per le variabili CFI sono stati creati dei codici abbreviativi riportati di seguito (Tab.6). Per quanto riguarda il metodo e il punteggio finale del *Lake Habitat Survey* si rimanda rispettivamente a Rowan *et al.*, 2006 e al precedente *Deliverable* INHABIT I1d1.

Tab. 4 - Elenco delle specie campionate e relativi codici utilizzati nelle matrici; quando le categorie sono separate dalla virgola la specie è stata collocata in entrambe le *guilds*, quando separata da /, la specie è stata collocata in base alla lunghezza nella *guilds* corrispondente.

Nome scientifico	Nome comune	Codice	Codice <i>guilds</i>
<i>Gymnocephalus cernua</i>	Acerina	Ace	inv, tol
<i>Alosa agone</i>	Agone	Ago	plank, intol
<i>Alburnus arborella</i>	Arborella	Albo	plank
<i>Anguilla anguilla</i>	Anguilla	Ang	onn
<i>Lota lota</i>	Bottatrice	Bott	onn
<i>Salaria fluviatilis</i>	Cagnetta	Cagnt	smlit
<i>Carassius carassius</i>	Carassio	Carass	bent, tol
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpa	Carp	bent, tol
<i>Squalius cephalus</i>	Cavedano	Cave	onn, tol
<i>Cobitis taenia</i>	Cobite	Cob	smlit
<i>Coregonus lavaretus</i>	Coregone lavarello	Core	plank, intol
<i>Padogobius martensii</i>	Ghiozzo padano	Ghiop	smlit
<i>Gobio gobio</i>	Gobione	Gob	smlit
<i>Atherina boyeri</i>	Latterino	Latt	onn
<i>Esox lucius</i>	Luccio	Lucc	pisc
<i>Sander lucioperca</i>	Lucioperca	Luciop	pisc
<i>Perca fluviatilis</i>	Pesce persico	Pers	pisc (>15cm)/inv (10-15 cm)/plank (<10cm)
<i>Ameiurus melas</i>	Pesce gatto	Pgat	onn
<i>Lepomis gibbosus</i>	Persico sole	Psol	inv
<i>Micropterus salmoides</i>	Persico trota	Ptrot	pisc (>10cm)/plank (<10cm)
<i>Rhodeus sericeus</i>	Rodeo amaro	Rode	inv
<i>Rutilus rutilus</i>	Rutilo	Rut	onn (>10cm)/ plank (<10cm), tol
<i>Salvelinus fontinalis</i>	Salmerino di fonte	Salfnt	pisc (>30cm)/ inv, intol
<i>Salvelinus alpinus</i>	Salmerino alpino	Salpn	pisc (>30cm)/ inv, intol
<i>Phoxinus phoxinus</i>	Sanguinerola	Sang	plank, intol
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	Scardola	Scar	plank (<10cm)/onn, tol
<i>Cottus gobio</i>	Scazzone	Scazz	smlit, intol
<i>Tinca tinca</i>	Tinca	Tinc	bent, tol
<i>Rutilus aula</i>	Triotto	Trio	plank
<i>Salmo trutta (trutta)</i>	Trota fario	Trotaf	pisc (>20cm)/inv, intol
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Trota iridea	Trotir	pisc (>20cm)/inv, intol

Tab. 5- *Guilds* con relative caratteristiche e codice identificativo utilizzato per le matrici nell'elaborazione dei dati. I codici sotto riportati, quando preceduti dalla sigla NP e BP, si riferiscono rispettivamente all'NPUE (Number per unit effort) e al BPUE (Biomass per unit effort). Se invece seguiti dalle lettere R o E si riferiscono rispettivamente al catturato con reti o con elettropesca.

<i>Guilds</i>	Caratteristiche	Codice
Bentofagi	Dieta a base di benthos reperito smuovendo il substrato	bent
Onnivori	Dieta varia influenzata da ciò che l'ambiente offre	onn
Invertivori	Dieta caratterizzate in prevalenza da invertebrati	inv
Piscivori	Dieta caratterizzata in prevalenza da pesci	pisc
Planctivori	Solitamente pelagici, si nutrono esclusivamente di plankton	plank
Tolleranti	In grado di tollerare alti livelli di eutrofia, inquinamento e variazioni termiche	tol
Intolleranti	Tipiche di acque con un basso grado di trofia, fredde e ben ossigenate	intol
Piccole specie tipiche del litorale	Specie strettamente associate all'area litorale	smlit

Tab. 6 - Variabili CFI utilizzate, unità di misura e codici identificativi

Parametro	Unità di misura	Codice
Alcalinità	mg/L	Alkal
Clorofilla	µg/L	Chl_a
Conducibilità	µS/cm 20°C	Cond
Azoto ammoniacale	mg/L	NH4
Azoto nitrico	mg/L	NO3
Saturazione ossigeno	%	Ox_sat
pH	-	pH
Silice reattiva	mg/L	Rsi
Trasparenza	m	Secchi
Fosforo reattivo	µg/L	SRP
Temperatura	°C	Temp
Azoto totale	mg/L	TN
Fosforo totale	µg/L	TP
Profondità media	m	Pft_med
Altitudine	m.s.l.m.	Aldn
Superficie	Km ²	Sup
Latitudine	Gradi decimali	Lat
Punteggio <i>Lake Habitat Survey</i>	-	LHS

2.4.1.3. Analisi statistiche

Le analisi statistiche sono state condotte attraverso una *Redundancy Analysis* (RDA) per i valori di Npue e Bpue totali, per il numero totale delle specie, la lunghezza media (*Lmed*) e il peso medio (*Pmed*) del catturato di reti ed elettropesca ordinati rispetto alle variabili CFI sopra descritte.

Sono poi state eseguite quattro *Canonical Correspondence Analysis* (CCA) rispettivamente tra i valori (espressi come abbondanze percentuali) di Npue e Bpue delle *guilds* del catturato delle reti e dell'elettropesca rispetto alle variabili CFI. La scelta di operare un RDA è stata vincolata dall'impossibilità di esprimere in percentuale alcune tipologie (es lunghezza media) di parametri analizzati. Le analisi sopra descritte sono state operate attraverso il software CANOCO 4.5 (ter Braak & Smilauer, 2002).

Prima di procedere alle analisi si è operato trasformando in doppia radice quadrata i valori di abbondanza (numerica o biomassa) per poi convertirli in percentuale. Tale operazione ha avuto lo scopo di ridurre il “peso” delle categorie o delle specie più abbondanti.

2.4.2. Risultati

Di seguito sono riportati i due grafici riguardanti le analisi delle ridondanze effettuati per i parametri, relativi alle specie, spiegati in precedenza. Per quanto riguarda il catturato delle reti (fig.14) i valori di lunghezza media e di peso medio sembrano essere quelli maggiormente influenzati dalla concentrazione di nutrienti (TP e TN), evidenziando quindi una relazione logica

che implicherebbe a livelli di trofia elevata la presenza d'individui mediamente più lunghi e più pesanti. Diversamente l'NPUE, sembra svincolato dai composti dell'azoto e dal fosforo, ma legato invece alla saturazione d'ossigeno, parametro che individua (parte positiva) il secondo asse insieme alla silice reattiva (parte negativa). Analizzando il grafico dell'elettropesca, rappresentativa della sola zona litorale, il primo asse nella sua parte positiva è individuato da profondità media e nitrati, secondariamente dalla saturazione d'ossigeno (fig.15). *Lmed* e *Pmed*, come visto per il catturato delle reti, dimostrano la loro dipendenza dal grado di trofia del lago.

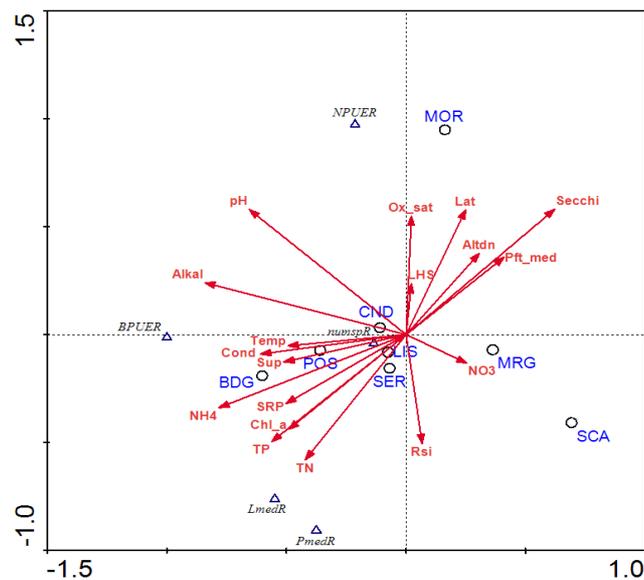


Fig.14. Analisi delle ridondanze (RDA): in blu, il codice a 3 lettere indica il lago, in rosso le variabili chimiche ed ambientali, in nero sono riportate la NPUE, la BPUE, il numero totale delle specie (numspR), la lunghezza media (*LmedR*) e il peso medio (*PmedR*) relativi al catturato totale delle reti.

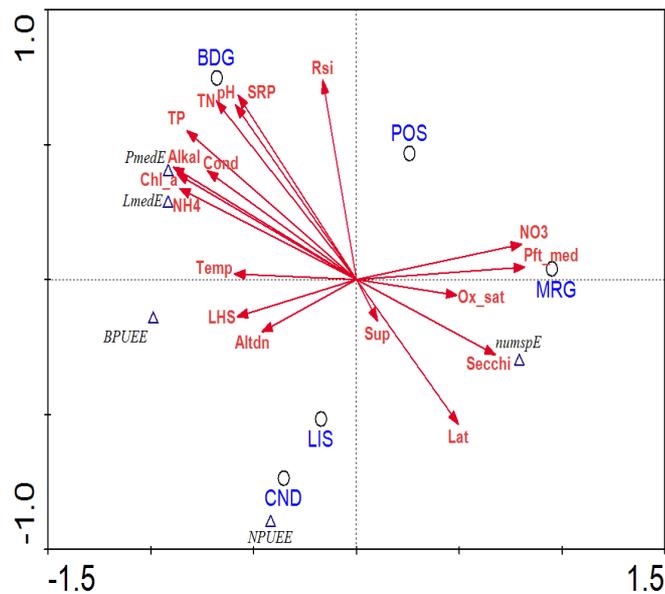


Fig.15. Analisi delle ridondanze (RDA): in blu, il codice a 3 lettere indica il lago, in rosso le variabili chimiche ed ambientali, in nero sono riportate la NPUE , la BPUE, il numero totale delle specie (numspE), la lunghezza media (LmedE) e il peso medio (PmedE) relativi al catturato totale dell'elettropesca.

2.4.2.1. Relazioni tra composti azotati e guilds (CCA)

Analizzando le NPUE delle *guilds* (Fig. 16) riguardo alle variabili sopra elencate si ha una percentuale di varianza dell'86% sui primi due assi della CCA e si arriva al 93% includendo anche il terzo asse, con un valore d'inerzia pari a 0.65. Il primo asse della CCA viene individuato dal punteggio dell'LHS nella sua parte positiva e da temperatura e conducibilità nella parte negativa. Il pH individua il secondo asse (parte positiva) mentre i nitrati e la silice reattiva, per quanto poco decisivi, individuano la parte negativa del secondo asse.

L'ordinamento delle categorie mostra come i bentivori, gli onnivori e le specie tolleranti siano tipici di ambienti con elevati valori di azoto ammoniacale, azoto totale, fosforo totale, clorofilla e con una più elevata temperatura media, valore quest'ultimo che individua insieme alla conducibilità la parte negativa del secondo asse. Le specie poco tolleranti dimostrano invece di popolare i laghi (Morasco, Serrù e Sos Canales) collocati ad altitudini maggiori, aventi una maggiore trasparenza delle acque e un grado di trofia inferiore agli altri bacini indagati.

Per quanto riguarda le NPUE delle *guilds* che si riferiscono all'elettropesca (Fig. 17) la percentuale di varianza evidenziata dai primi due assi raggiunge l'82%, valore che incrementa sensibilmente (96%) se si aggiunge il terzo asse. L'inerzia ha un valore pari a 0.27. Dal grafico emerge come fosforo reattivo e azoto totale individuano la parte positiva del primo asse mentre la latitudine individua la parte negativa. Le relazioni riscontrate precedentemente per le reti vengono confermate anche se leggermente ridimensionate. Solo i bentivori, infatti, sembrano confermare la tendenza a occupare il quadrante che si riferisce a condizioni di trofia elevata (azoto tot. e ammoniacale, fosforo tot. e reattivo) ed elevati valori di conducibilità, mentre le specie poco tolleranti e le piccole del litorale, prediligono ambienti caratterizzati da valori di trofia ridotti.

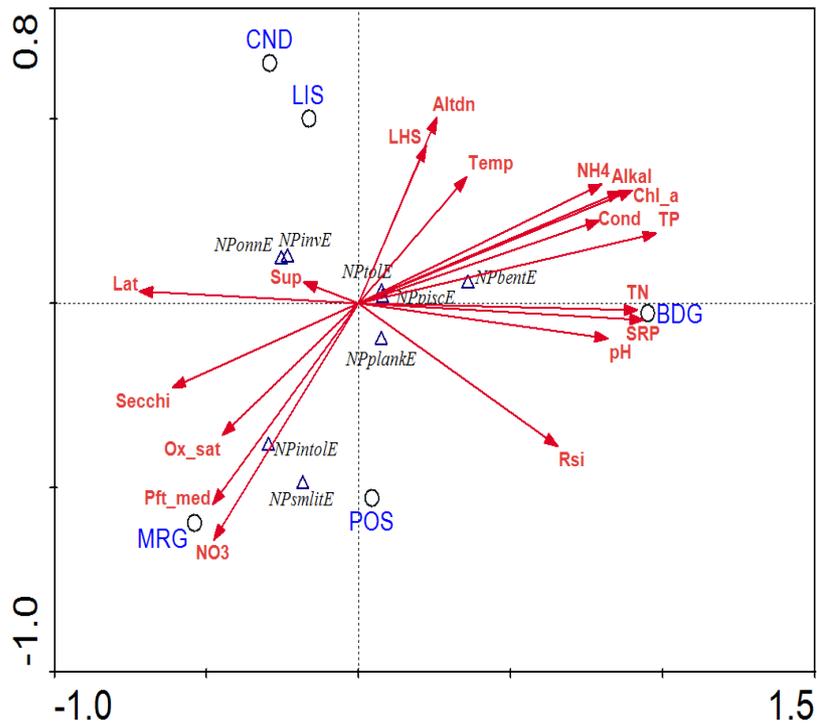


Fig.17. Ordinamento lungo i due assi della CCA: in blu, il codice a 3 lettere indica il lago, in rosso le variabili chimiche ed ambientali, in nero sono riportate le NPUE delle *guilds* relative al catturato dell'elettropesca.

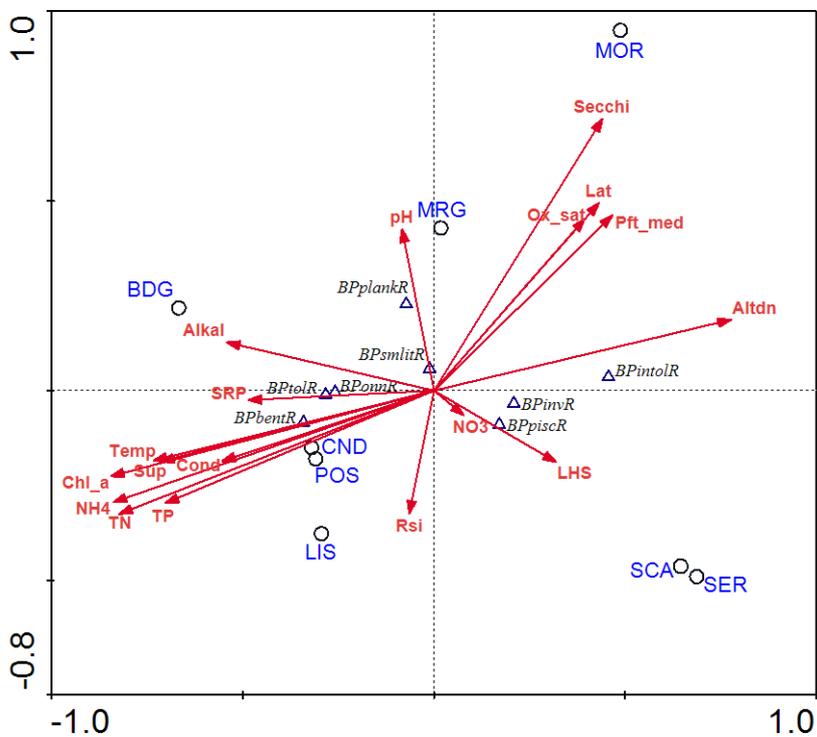


Fig.18. Ordinamento lungo i due assi della CCA: in blu, il codice a 3 lettere indica il lago, in rosso le variabili chimiche ed ambientali, in nero sono riportate le BPUE delle *guilds* relative al catturato delle reti.

più elevati di azoto ammoniacale. Tuttavia, come dimostrato sperimentalmente da Domingues et al. (2011), anche le alghe verdi sarebbero in grado di utilizzare l'ammonio come sorgente preferita di azoto: nel nostro caso, la risposta delle Chlorococcales è stata non lineare, con una riduzione dell'abbondanza alle concentrazioni più elevate di ammonio. Tuttavia, a livello di specie, *Closterium aciculare* e *C. acutum* hanno mostrato un aumento dell'abbondanza al crescere dell'azoto ammoniacale. Inoltre, la relazione osservata, nel nostro caso, tra concentrazione di ammonio e diatomee pennate, sia a livello di ordine che di specie, sembra confermare quanto descritto da Domingues et al. (2011), che osservano un effetto inibente dell'ammonio sulla crescita di questo gruppo algale, suggerendo un possibile effetto tossico.

Ciò che emerge chiaramente dall'analisi delle relazioni tra organismi algali e disponibilità di azoto, nel gruppo di laghi studiati, è un deciso incremento dei cianobatteri appartenenti a Nostocales ed Oscillatoriales, all'aumento della disponibilità di azoto, non solo come ammonio, ma anche come azoto totale. Quindi, questo gruppo appare decisamente avvantaggiato in presenza di apporti crescenti di questo nutriente. Tuttavia, il ruolo dell'azoto nella dominanza dei cianobatteri è oggetto di discussione (Jeppesen et al., 2011): uno studio condotto da Jeppesen et al. (2009), ha messo in evidenza come, mantenendo costante la concentrazione di fosforo, si osservi, in laghi di morfometria comparabile, un aumento dei cianobatteri all'aumentare dell'azoto totale. Poiché il ruolo dei cianobatteri azotofissatori nel promuovere un aumento delle concentrazioni di azoto, è risultato trascurabile in molti laghi (Lewis & Wurtsbaugh, 2008), se ne può dedurre che l'aumento dell'azoto nelle acque, legato sia alle deposizioni atmosferiche, che all'incremento del runoff da terreni coltivati, sia, almeno in parte, responsabile di un'accresciuta importanza dei cianobatteri, anche in ambienti dove le concentrazioni di fosforo sono moderate (Jeppesen et al., 2011).

I risultati ottenuti analizzando le relazioni tra le variabili ambientali e gli altri elementi di qualità biologica hanno fornito indicazioni che sembrano più puntare verso un ruolo discriminante delle variabili indicatrici di stato trofico, in generale, senza che emerga un ruolo dell'azoto come fattore discriminante. Le evidenze principali sono riassunte di seguito.

Per quanto riguarda la biocenosi macrofittica, i dati ottenuti dalla campagna di prelievo dell'estate del 2011 non consentono di ottenere indicazioni chiare su un possibile ruolo dei composti azotati come fattore di controllo.

Nel caso degli invertebrati bentonici, le risposte evidenziate dalla fauna macroinvertebrata, in questa prima tornata di analisi, sembrano, soprattutto nell'analisi dei gruppi funzionali, complesse e difficili da discriminare, evidenziando un possibile spostamento degli equilibri della rete trofica verso i carnivori in presenza di elevati livelli trofici.

Relativamente alla fauna ittica, il presente lavoro ha permesso di evidenziare le relazioni tra alcuni parametri chimico fisici, e le caratteristiche delle comunità ittiche indagate. I risultati mostrano che da solo l'azoto non sembra essere un fattore di controllo importante per la comunità ittiche. Tuttavia insieme al fosforo, è uno degli elementi principali a cui si associano positivamente la biomassa e le dimensioni della fauna ittica, nonché la presenza di specie tolleranti, onnivore o bentofaghe.

In conclusione, i risultati della nostra analisi, sottolineano ulteriormente la necessità di porre una maggiore attenzione agli apporti di azoto, costantemente in crescita negli ultimi decenni, in relazione a varie attività antropiche: gli effetti dell'aumentato carico di azoto sugli ecosistemi acquatici sono stati, fino ad ora, scarsamente studiati, poiché l'attenzione è stata focalizzata soprattutto sul fosforo (Elser et al., 2009a). Tuttavia, in vista dell'adozione di interventi di risanamento, volti a ridurre gli apporti di fosforo, l'azoto può diventare un fattore di controllo importante nella crescita del fitoplancton: infatti, nei casi in cui dovesse venire meno la limitazione da parte di questo nutriente, è plausibile aspettarsi modificazioni strutturali e funzionali delle reti trofiche lacustri (Elser et al., 2009b). Soprattutto nei casi di azoto veicolato da deposizioni atmosferiche, queste modificazioni potrebbero interessare anche ecosistemi lacustri relativamente distanti da impatti diretti delle attività antropiche (Elser et al., 2009b).

4. Bibliografia

- Arts, G.H.P. 2002. Deterioration of atlantic soft water macrophyte communities by acidification, eutrophication and alkalinisation. *Aquatic Botany*, 73: 373–393.
- Bazzanti, M., A. Boggero, V. Lencioni, L. Mastrantuono, B. Rossaro & A. Solimini. 2007. *Protocollo di campionamento e analisi dei macroinvertebrati negli ambienti lacustri*. MATTM-APAT, Roma: 16 pp.
- Bergström, A., M. Jansson. 2006. Atmospheric nitrogen deposition has caused nitrogen enrichment and eutrophication of lakes in the northern hemisphere. *Global Change Biology*, 12, 635–643.
- Bergstrom, A-K., P. Blomqvist, M. Jansson. 2005. Effects of nitrogen deposition on nutrient limitation and phytoplankton biomass in unproductive Swedish lakes. *Limnology & Oceanography*, 50:987–994.
- Blomqvist, P., A. Petterson, P. Hyenstrand. 1994. Ammonium-nitrogen – A key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen- fixing cyanobacteria in aquatic systems. *Archiv fuer Hydrobiologie*, 132: 141-164.
- Bobbink, R, J.G.M. Roelofs. 1995, Nitrogen critical loads for natural and semi-natural ecosystems: The empirical approach. *Water Air And Soil Pollution*, 85: 2413-2418.
- Bobbink, R., K. Hicks, J. Galloway, T. Spranger, R. Alkemade, M. Ashmore, M. Bustamante, S. Cinderby, E. Davidson, F. Dentener, B. Emmett, J.W. Erisman, M. Fenn, F. Gilliam, A. Nordin, L. Pardo, and W. De Vries. 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological Applications* 20:30-59.
- Boggero, A., S. Zaupa, B. Rossaro, V. Lencioni & F. Gherardi. 2011. Guida tecnica alla programmazione del campionamento e alla scelta della strumentazione idonea per lo studio della fauna macroinvertebrata lacustre. *CNR-ISE Report*, 02.11: 58 pp.
- Buraschi E., F. Buzzi, L. Garibaldi, G. Morabito, A. Oggioni, G. Tartari, N. Salmaso et al. 2008. Protocollo per il campionamento di fitoplancton in ambiente lacustre. *Metodi biologici per le acque*. Parte I. APAT: 15 pp. http://www.apat.gov.it/site/it-IT/APAT/Pubblicazioni/metodi_bio_acque.html
- Ciampittiello M., A. Marchetto, A. Oggioni, A. Boggero, G. Morabito, P. Volta, N. Riccardi, P. Sala & S. Zaupa, 2010. Indicazioni generali e protocolli di campo per l'acquisizione di informazioni idromorfologiche e di habitat. Parte B: LAGHI. Deliverable progetto INHABIT.
- Diaz, M., F. Pedrozo, C. Reynolds and P. Temporetti. 2007. Chemical composition and the nitrogen-regulated trophic state of Patagonian lakes. *Limnologica*, 37, 17–27.
- Domingues, R. B., A. Barbosa, U. Sommer, H. M. Galvao. 2011. Ammonium, nitrate and phytoplankton interactions in a freshwater tidal estuarine zone: potential effects of cultural eutrophication. *Aquatic Sciences*, 73: 331-343.
- Dortch, Q. 1990. The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 61: 183–201.
- Dugdale, R. C., F. P. Wilkerson, V. E. Hogue and A. Marchi. 2007. The role of ammonium and nitrate in spring bloom development in San Francisco Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73: 17-29.
- Elser, J.J., E.R. Marzolf and C.R. Goldman. 1990. Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwaters of North America: a review and critique of experimental enrichments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 47, 1468–1477.
- Elser J.J., M.E.S. Bracken, E.E. Cleland et al. 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 10:1135–1142.

- Elser J.J., M. Kyle, L. Steger, K. R. Nydick and J. S. Baron. 2009a. Nutrient availability and phytoplankton nutrient limitation across a gradient of atmospheric nitrogen deposition. *Ecology*, 90: 3062-3073.
- Elser J.J., T. Andersen, J. S. Baron, A-K. Bergström, M. Jansson, M. Kyle, K. R. Nydick, L. Steger and D. O. Hessen. 2009b. Shifts in Lake N:P Stoichiometry and Nutrient Limitation Driven by Atmospheric Nitrogen Deposition. *Science*, 326: 835-837.
- Enders, S.K., M. Pagani, S. Pantoja, J.S. Baron, A.P. Wolfe, N. Pedentchouk, L. Nunez. 2008. Compound-specific stable isotopes of organic compounds from lake sediments track recent environmental changes in an alpine ecosystem, Rocky Mountain National Park (United States of America). *Limnology and Oceanography*, 53, 1468–1478.
- Fenn, M.E., R. Haeuber, G.S. Tonnesen, J.S. Baron, S. Grossman-Clarke, D. Hope, D.A. Jaffe, S. Copeland, L. Geiser, H.M. Rueth, J.O. Sickman. 2003. Nitrogen emissions, deposition, and monitoring in the western United States. *Bioscience*, 53: 391-403.
- Friberg, N., J. Skriver, S.E. Larsen, M.L. Pedersen and A. Buffagni. 2009. Stream macroinvertebrate occurrence along gradients in organic pollution and eutrophication. *Freshwater Biology* 55:1405-1419.
- Galloway, J.N., A.R. Townsend, J.W. Erisman, M. Bekunda, Z. Cai, J.R. Freney, L.A. Martinelli, S.P. Seitzinger, M.A. Sutton. 2008. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science* 320:889–892.
- Goldman, C.R., A.D. Jassby, S.H. Hackley. 1993. Decadal, Interannual, and seasonal variability in enrichment bioassays at lake Tahoe, California-Nevada, Usa. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 30 (7): 1489-1496.
- Gonzalez Sagrario, M.A., E. Jeppesen, J. Goma, M. Sondergaard, J.P. Jensen, T. Lauridsen, F. Landkildehus. 2005. Does high nitrogen loading prevent clear-water conditions in shallow lakes at moderately high phosphorus concentrations? *Freshwater Biology*, 50: 27-41.
- Hillebrand, H., C.D. Dürselen, D. Kirschtel, D. Pollinger, and T. Zohary. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35: 403–424.
- Lepori, F. & F. Keck. 2012. Effects of Atmospheric Nitrogen Deposition on Remote Freshwater Ecosystems. *Ambio*, DOI 10.1007/s13280-012-0250-0.
- Lewis, WM, William M., Wurtsbaugh, WA. 2008. Control of Lacustrine Phytoplankton by Nutrients: Erosion of the Phosphorus Paradigm. *International Review of Hydrobiology*, 93 (4-5): 446-465.
- Jassby, A.D., C.R. Goldman, J.E. Reuter. 1995. Long-term change in Lake Tahoe (California, Nevada, USA) and its relation to atmospheric deposition of algal nutrients. *Archiv fuer Hydrobiologie*, 135: 1–21.
- Jeppesen, E., M. Sondergaard, J.P. Jensen, K.E. Havens, O. Anneville, L. Carvalho, M.F. Coveney, R. Deneke, M.T. Dokulil, B. Foy, D. Gerdeaux, S.E. Hampton, S. Hilt, K. Kangur, J. Kohler, E.H.H.R. Lammens, T.L. Lauridsen, M. Manca, M.R. Miracle, B. Moss, P. Noges, G. Persson, G. Phillips, R. Portielje, C.L. Schelske, D. Straile, I. Tatrai, E. Willen, M. Winder. 2005. Lake responses to reduced nutrient loading - an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshwater Biology*, 50: 1747-1771.
- Jeppesen, E., B. Kronvang, M. Meerhoff, M. Søndergaard, K. M. Hansen, H. E. Andersen, T. L. Lauridsen, L. Liboriussen, M. Beklioglu, A. Ozen & J. E. Olesen. 2009. Climate change effects on runoff, catchment phosphorus loading and lake ecological state, and potential adaptations. *Journal of Environmental Quality* 38: 1930–1941.
- Jeppesen, E., B. Kronvang, J.E. Olesen, J. Audet, M. Sondergaard, C.C. Hoffmann, H.E. Andersen, T.L. Lauridsen, L. Liboriussen, S.E. Larsen, M. Beklioglu, M. Meerhoff, A. Ozen, K. Ozkan. 2011. Climate change effects on nitrogen loading from cultivated catchments in Europe: implications for nitrogen retention, ecological state of lakes and adaptation. *Hydrobiologia*, 663: 1-21.

- Lewis, W. M. & W. A. Wurtsbaugh, 2008. Control of lacustrine phytoplankton by nutrients: erosion of the phosphorus paradigm. *International Review of Hydrobiology*, 93: 446–465.
- Merritt, R.W. & K.W. Cummins (Eds). 1996. An introduction to the aquatic insects of North America. 3rd ed. Kendall/Hunt, Dubuque, IA.
- Murphy C.A., P.L. Thompson and R.D. Vinebrooke 2010. Assessing the sensitivity of alpine lakes and ponds to nitrogen deposition in the Canadian Rocky Mountains. *Hydrobiologia*, 648, 83-90.
- Phillips, G., O.-P. Pietilainen, L. Carvalho, A. Solimini, A. Lyche-Solheim and A.C. Cardoso. 2008 Chlorophyll-nutrient relationships of different lake types using a large European dataset. *Aquatic Ecology*, 42 (2). 213-226.
- Reynolds, C.S., V. Huszar, C. Kruk, L. Naselli-Flores and S. Melo. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 24: 417-428.
- Roelofs, J.G.M., J. Schuurkes, and A.J.M. Smits. 1984. Impact of acidification and eutrophication on macrophyte communities in soft waters. 2. Experimental studies. *Aquatic Botany* 18:389-411.
- Roelofs, J.G.M., T.E. Brandrud, and A.J.P. Smolders. 1994. Massive expansion of *Juncus-bulbosus* l after liming of acidified SW Norwegian lakes. *Aquatic Botany* 48:187-202.
- Roelofs, J.G.M., E. Brouwer, and R. Bobbink. 2002. Restoration of aquatic macrophyte vegetation in acidified and eutrophicated shallow soft water wetlands in the Netherlands. *Hydrobiologia* 478:171-180.
- Rogora, M., J. Massaferrò, A. Marchetto, G. Tartari, and R. Mosello. 2008. The water chemistry of some shallow lakes in Northern Patagonia and their nitrogen status in comparison with remote lakes in different regions of the globe. *Journal of Limnology* 67:75-86.
- Rowan, J. S., J. Carwardine, R. W. Duck, O. M. Bragg, A. R. Black, M. E. J. Cutler, I. Soutar & P. J. Boon, 2006. Development of a technique for lake habitat survey (LHS) with applications for the European Union Water Framework Directive. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 16: 637-657.
- Saros, J. E., S.J. Interlandi, A.P. Wolfe, and D.R. Engstrom, D.R., 2003: Recent changes in the diatom community structure of lakes in the Beartooth Mountain Range, U.S.A. *Arctic, Antarctic & Alpine Research*, 35: 18-25.
- Schindler, D.W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*, 195: 260–262.
- Sickman, J.O., J.M. Melack, and D.W. Clow. 2003. Evidence for nutrient enrichment of high-elevation lakes in the Sierra Nevada, California. *Limnology and Oceanography*, 48: 1885-1892.
- Sollazzo, C., G. Scanu, F. Aste, M. Belli, S. Balzamo, C. Martone, F. Cadoni, S. Bernabei, G. Tartari, E. Buraschi, D. Copetti, A. Marchetto, G. Morabito, A. Oggioni, A. Dal Miglio, F. Buzzi, S. Pozzi, L. Garibaldi, N. Salmaso & A. Lugliè, 2008. Protocollo per il campionamento dei parametri chimico-fisici a sostegno degli elementi biologici in ambiente lacustre, Ispra Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale. *Metodi Biologici per le Acque parte I*:1-17.
- Sterner, R.W. 2008. On the Phosphorus Limitation Paradigm for Lakes. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 93 2008 4–5 433–445.
- Sun, J. and D. Liu. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 25: 1331-1346.
- Sutton, M. A., C.M. Howard, J.W. Erisman, G. Billen, A. Bleeker, P. Grennfelt, H. van Grinsven and B. Grizzetti, (eds.). 2001. *European Nitrogen Assessment*. Cambridge University Press, UK, pp. 345-376. ISBN 9781107006126.
- Tartari, G.A. & R. Mosello. 1997. Metodologie analitiche e controlli di qualità nel laboratorio chimico dell'Istituto Italiano di Idrobiologia. *Documenta Istituto italiano Idrobiologia*, 60: 160 pp.

- Ter Braak, C.J.F. & Smilauer, P., 2002. Canoco Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination Version 4.5. Microcomputer Power, Ithaca, NY.
- Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol., 9: 1–38.
- Vitousek, P.M., J.D. Aber, R.W. Howarth, G.E. Likens, P.A. Matson, D.W. Schindler, W.H. Schlesinger, and G.D. Tilman. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7:737-750.
- Wolfe, A.P., J.S. Baron and R.J. Cornett. 2001. Anthropogenic nitrogen deposition induces rapid ecological change in alpine lakes of the Colorado Front Range (USA). *Journal of Paleolimnology*, 25: 1-7.