



DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA ANIMALE E DELL'UOMO
UNIVERSITÀ DI ROMA "LA SAPIENZA"
CORSO DI DOTTORATO IN BIOLOGIA ANIMALE
XXII CICLO
(2006 – 2009)

Simone Ciadamidaro



TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

MESSA A PUNTO DI UN METODO DI VALUTAZIONE DELLO
STATO DEI PICCOLI CORSI D'ACQUA URBANI DEL LAZIO
CENTRALE BASATO SUI MACROINVERTEBRATI
BENTONICI

PhD Dissertation

DEVELOPMENT OF A STATUS ASSESSMENT METHOD, BASED
ON BENTHIC MACROINVERTEBRATES, FOR THE URBAN
STREAMS OF CENTRAL LATIUM (ITALY)

Roma, 2009



CORSO DI DOTTORATO IN BIOLOGIA ANIMALE
DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA ANIMALE E DELL'UOMO
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA
“LA SAPIENZA”

XXII CICLO (2006-2009)

TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

**MESSA A PUNTO DI UN METODO DI VALUTAZIONE
DELLO STATO DEI PICCOLI CORSI D'ACQUA URBANI DEL LAZIO CENTRALE
BASATO SUI MACROINVERTEBRATI BENTONICI**

PHD DISSERTATION

DEVELOPMENT OF A STATUS ASSESSMENT METHOD, BASED ON BENTHIC
MACROINVERTEBRATES, FOR THE URBAN STREAMS OF CENTRAL LATIUM (ITALY)

Simone Ciadamidaro

Roma, 2009



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Sommario

RIASSUNTO	3
ABSTRACT	6
1. INTRODUZIONE.....	9
1.1 I piccoli corsi d'acqua nel contesto urbano.....	9
1.2 La Direttiva Europea 2000/60/CE.....	11
1.3 I Macroinvertebrati.....	14
1.3.1 Inquadramento.....	14
1.3.2 Macroinvertebrati come indicatori biologici di qualità ambientale.....	16
1.3.3 I metodi di valutazione.....	17
1.4 I Simulidi, generalità e introduzione del lavoro.....	20
1.5 Scopo.....	22
2. MATERIALE E METODI.....	23
2.1 Area di Studio e scelta dei siti.....	23
2.2 Analisi fisico-chimiche, chimiche, microbiologiche ed applicazione dell'indice LIM.....	30
2.2.1 Analisi fisico-chimiche e chimiche.....	30
2.2.2 Analisi microbiologiche.....	31
2.2.3 Applicazione dell'indice LIM (Livello di Inquinamento da Macrodescrittori).....	32
2.3 Valutazione della Funzionalità Fluviale (indice IFF).....	32
2.4 Uso del suolo (indice LUI, Land Use Index).....	36
2.5 Campionamento e identificazione dei macroinvertebrati bentonici.....	37
2.5.1 Protocollo utilizzato nei campionamenti d'indagine.....	37
2.5.2 Tecnica di campionamento per la raccolta di dati quantitativi.....	37
2.6 Campionamento e identificazione dei Simulidi.....	40
2.7 Analisi statistica.....	44
2.7.1 Test t delle differenze tra dati indipendenti.....	44
2.7.2 Analisi della Varianza a una via.....	44
2.7.3 Test di Friedman.....	44
2.7.4 Coefficiente di correlazione "ρ" di Spearman.....	45
2.7.5 Classificazione o "cluster analysis".....	46
2.7.6 Analisi delle componenti principali (PCA).....	46
2.7.7 Non-metric Multidimensional scaling (N-MDS).....	47
2.7.8 Analisi Canonica delle Corrispondenze (CCA).....	47
2.7.9 Analisi delle Specie Indicatrici a due vie (TWINSPAN).....	47
2.8 Approccio multimetrico per la valutazione delle comunità di macroinvertebrati.....	48
2.8.1 Indice STAR_ICMi.....	53
2.9 Reti neurali artificiali auto-organizzanti (SOM, Self Organizing Maps).....	54
2.9.1 Parametri della mappa: dimensioni e topologia.....	58
2.9.2 Parametri dell'apprendimento.....	59
3. RISULTATI.....	61
3.1 Risultati dei campionamenti d'indagine.....	61
3.1.1 Analisi fisico-chimiche, chimiche e microbiologiche.....	61
3.1.2 Uso del Suolo.....	63
3.1.3 Applicazione dell'indice IFF.....	64
3.1.4 Campionamento d'indagine dei macroinvertebrati bentonici.....	66
3.1.5 Selezione dei 15 siti per lo sviluppo dei metodi di valutazione.....	69
3.2 Risultati dello studio dei 15 siti selezionati.....	72
3.2.1 Risultati chimici, fisico-chimici, microbiologici.....	72
3.2.2 Caratterizzazione dei siti in base ai microhabitat campionati.....	73
3.2.3 Caratterizzazione delle comunità di macroinvertebrati.....	75

3.3 Sviluppo del Metodo multimetrico.....	79
3.3.1 Ordinamento e classificazione ecologica dei campioni (post-classificazione).....	79
3.3.2 Selezione delle metriche.....	83
3.3.3 Combinazione delle metriche in un indice multimetrico (IM).....	92
3.4 Costruzione della Rete autorganizzante “SOM”	96
3.5 Confronto tra i metodi di classificazione applicati in questo studio e con l’indice STAR_ICMi..	104
3.6 Risultati dello studio dei Simulidi.....	107
4. DISCUSSIONI E CONCLUSIONI	123
4.1 Le condizioni dei piccoli corsi d’acqua del territorio romano	123
4.2 Le comunità di macroinvertebrati.....	125
4.3 I metodi di valutazione basati sulla comunità di macroinvertebrati	126
4.4 I Simulidi nella valutazione dello stato ecologico dei corsi d’acqua della provincia di Roma ...	130
4.5 Considerazioni conclusive	136
BIBLIOGRAFIA	139
APPENDICE 1. DETTAGLIO DEI RISULTATI DEI CAMPIONAMENTI D’INDAGINE.....	153
APPENDICE 2. GRAFICI PER LA SELEZIONE DELLE METRICHE	169
APPENDICE 3. MODALITA’ DI CALCOLO DELLE METRICHE SELEZIONATE.....	181
APPENDICE 4. IMMAGINI DELLE PRINCIPALI FAMIGLIE DI MACROINVERTEBRATI BENTONICI RACCOLTI.....	183

RIASSUNTO

Il processo di urbanizzazione legato allo sviluppo della città di Roma sta velocemente modificando l'uso del suolo nel Lazio centrale. Condizioni naturali e paesaggi agricoli vengono sostituiti da aree caratterizzate da forte antropizzazione. Studi svolti in diverse aree urbane evidenziano come tali cambiamenti siano alla base di un numero elevato di fattori di alterazione che generano forti e diversificati impatti sugli ecosistemi legati ai piccoli corsi d'acqua e sulle loro componenti biologiche in particolare. Recentemente, l'emanazione della Direttiva Europea sulle Acque 2000/60/CE ha posto gli elementi biologici al centro delle strategie di tutela e gestione degli ecosistemi acquatici. Tra questi elementi, i macroinvertebrati bentonici sono fino ad oggi quelli più frequentemente utilizzati come indicatori ecologici per la valutazione dello stato dei corsi d'acqua. A tal fine, questi organismi sono stati studiati sia a livello di comunità complessiva sia a livello di alcuni particolari taxa, come da lungo tempo i Chironomidae e gli Ephemeroptera e, ad esempio, i Simuliidae.

Scopo della tesi di dottorato è stato quello di sviluppare un metodo di valutazione, basato sugli invertebrati bentonici, dello stato qualitativo dei piccoli corsi d'acqua dell'area urbana romana. Nello specifico, sono stati perseguiti i seguenti obiettivi: caratterizzare i corsi d'acqua dal punto di vista delle condizioni abiotiche; quantificare la risposta delle comunità macrobentoniche alle variazioni determinate dal gradiente di urbanizzazione; sperimentare due diversi approcci metodologici basati sui macroinvertebrati, un sistema multimetrico ed una rete neurale autorganizzante, per la messa a punto di un metodo di valutazione dello stato dei corsi d'acqua; verificare la possibilità di utilizzare gli stadi preimmaginali della famiglia dei Simulidi per valutare la qualità ambientale dei corsi d'acqua del territorio romano.

Un gruppo di 105 siti iniziali è stato caratterizzato con l'ausilio di analisi cartografiche, osservazioni sul campo, analisi chimiche e fisico-chimiche di campioni d'acqua e campionamento di macroinvertebrati bentonici. Parallelamente sono state effettuate raccolte mirate di larve e pupe di Simulidi, che in alcuni corsi d'acqua sono state ripetute con cadenza bimestrale per un intero anno. Sulla base delle informazioni raccolte è stata effettuata una preclassificazione dei siti, 15 dei quali sono stati selezionati in modo tale da coprire un ampio intervallo di condizioni lungo il gradiente di urbanizzazione presente nell'area di studio. Successivamente sono state effettuate 3 campagne stagionali di campionamento (autunno 2007, inverno 2007-2008 e primavera 2008) sui 15 siti selezionati, con ripetizione delle analisi

chimiche sui campioni d'acqua e raccolte di macroinvertebrati tramite un protocollo mirato allo studio di aspetti quantitativi delle comunità (metodo multihabitat proporzionale).

I risultati relativi alle analisi chimiche, fisico-chimiche e microbiologiche rivelano la presenza di un diffuso inquinamento delle acque dei corsi d'acqua ad altitudini inferiori ai 200 metri. Esso si identifica soprattutto con elevate concentrazioni di nutrienti (nitrati: $7,71 \pm 3,59$ mg/L; fosfati: $1,27 \pm 1,20$ mg/L in media). In accordo con quanto riportato nella letteratura esistente, le concentrazioni degli ioni ortofosfato e dei nitrati raggiungono, in ambiente urbano, valori anche superiori a quelli tipici dei corsi d'acqua in aree agricole (nitrati: 8,9 mg/L contro 7,5 mg/L in media). Ciò è spiegato dall'immissione di scarichi di acque domestiche non trattate e, per quanto riguarda i fosfati, anche dalla mobilitazione di sedimenti conseguente alla trasformazione di terreni agricoli in aree edificabili. Nel contempo, come confermato dall'applicazione dell'indice IFF, la funzionalità (capacità autodepurativa) dei piccoli corsi d'acqua dell'area urbana romana risulta compromessa (78% dei siti sotto la soglia di mediocrità) da diversi fattori: la rimozione degli alberi dal territorio circostante; gli interventi di gestione sulla vegetazione perifluviale, rivolti solo a garantire la funzionalità idraulica del sistema di drenaggio; la banalizzazione dei microhabitat, legata all'apporto di sedimento fine per dilavamento di suoli impermeabilizzati; l'alterazione delle comunità biologiche dovuta a numerose cause concomitanti.

La perdita di ricchezza tassonomica è il più evidente effetto dell'urbanizzazione del territorio sulle comunità di macroinvertebrati, e da una media di circa 29 taxa in ambiente naturale si passa ai circa 4 in aree con più del 40% di urbanizzazione. Le comunità sono così sempre più dominate da organismi appartenenti ai taxa dei Chironomidae e degli Oligochaeta: i primi da soli arrivano a costituirne il 90% in termini di abbondanza. Tra gli organismi più sensibili, l'ordine dei Plecoptera scompare quasi completamente a livelli di urbanizzazione superiori al 10%, mentre Ephemeroptera e Trichoptera si riducono a pochi taxa con basse consistenze numeriche relative.

Un'analisi multivariata (Analisi delle Componenti Principali) è stata effettuata per estrarre i principali assi di variazione dei dati di comunità. Il primo asse, per definizione quello in grado di spiegare la maggior percentuale della varianza totale, è risultato fortemente correlato alla qualità ecologica. Un'altra analisi multivariata (Analisi delle specie indicatrici a due vie-TWINSPAN) è stata invece utilizzata per raggruppare i campioni in base alla composizione e abbondanza di alcuni taxa "indicatori". Sulla base delle due elaborazioni è stato possibile procedere alla selezione delle metriche (grandezze descrittive) che meglio simulano il gradiente lungo il primo asse e discernono tra i diversi gruppi di campioni. Dall'integrazione delle

metriche selezionate è stato approntato un indice multimetrico. Sugli stessi dati di comunità è stata implementata una rete neurale autorganizzata (SOM), una tecnica di classificazione con apprendimento non supervisionato che riduce il numero di dimensioni dell'insieme di dati, disponendo i campioni su una mappa. In seguito all'interpretazione della SOM in gruppi di campioni, tramite una tecnica di visualizzazione dei rapporti di vicinanza tra i neuroni della mappa (matrice U), è stato possibile identificare ciascun gruppo con una classe di qualità ambientale, sulla base della disposizione dei taxa TWINSPAN-indicatori nella mappa stessa. Nuovi dati di comunità, non inclusi nel processo di messa a punto dei due metodi, sono stati utilizzati per testarne l'efficacia nella classificazione.

Lo studio delle specie di Simulidi ha confermato la possibilità di utilizzare questo taxon nella valutazione dello stato ecologico dei corsi d'acqua dell'area di studio. Il mancato rinvenimento di alcune specie segnalate in letteratura (*Simulium reptans*, *S. vernum*, *S. liriense*) sembra essere legato sia all'inquinamento delle acque, sia al cambiamento d'uso del suolo intorno ai corsi d'acqua. L'applicazione dell'Analisi Canonica delle Corrispondenze permette di identificare nell'altitudine il principale fattore che influenza la distribuzione delle specie nei siti. Limitando l'analisi ai siti di pianura diviene preponderante l'aspetto qualitativo: *S. ornatum* s.l. e le specie del gruppo "equinum" (*S. equinum*, *S. pseudequinum*, *S. lineatum*) sono quelle maggiormente resistenti all'inquinamento chimico delle acque. Inoltre, quando sia la chimica delle acque sia il territorio circostante sono alterati a causa dell'urbanizzazione, il solo *S. ornatum* s.l. viene rinvenuto nei corsi d'acqua. Anche quest'ultimo scompare in caso di inquinamento di tipo tossico od eccesso di solidi sospesi. Lo studio bimestrale del medio-alto corso del fiume Aniene e dei suoi affluenti hanno confermato le osservazioni riportate in letteratura sulla successione spazio-temporale delle specie di Simulidi nell'Appennino centrale (zona del gruppo "hirtipes", zona del gruppo "variegatum" e zona mista di più specie). I risultati mostrano anche come le larve del *S. ornatum* siano in grado di soppiantare le altre specie di Simulidi nei periodi dell'anno in cui aumentano le pressioni sui corsi d'acqua.

Questo studio ha permesso di sperimentare tre possibili approcci alla valutazione dei piccoli corsi d'acqua del territorio romano. Per quanto riguarda i metodi basati sulle comunità, la concordanza tra le due metodiche dà maggiore validità alle classificazioni ottenute. Inoltre, i risultati dello studio dei Simulidi, sebbene ancora preliminari, aprono alla possibilità di utilizzare questi organismi nella messa a punto di metriche che apportino ulteriore contenuto informativo alle analisi di qualità. L'incentivazione delle attività di studio e monitoraggio, propedeutiche all'avvio di interventi di ripristino, può rappresentare la base per la salvaguardia e la futura riqualificazione dei corsi d'acqua in ambiente urbano.

ABSTRACT

The process of urbanization in the central portion of Latium, tied to the development of the city of Rome, is rapidly modifying the territory and its use. Subsequently natural environments and agricultural landscapes are constantly being replaced by areas characterized by great anthropization. Studies undertaken in different urban areas have demonstrated that these very changes lead to a multitude of alteration factors which, in turn, have a profound and varied impact on the ecosystems connected to small watercourses and, in particular, their biological components. The recent enacting of the European Water Framework Directive 2000/60 has established that biological communities must be considered the very fulcrum on which tutelage and management strategies of aquatic ecosystems must be centered. To this day, the communities most frequently adopted as ecological indicators for the assessment of watercourses are certainly benthic macroinvertebrates. These organisms have therefore been extensively investigated and there are studies centered on the overall community as well as on specific taxa such as Chironomidae, Ephemeroptera and Simuliidae.

The present study wishes to develop a status assessment method, based on benthic macroinvertebrates, for the urban streams of central Latium; more specifically, the different tasks of study were to: characterize the abiotic conditions of the territory's streams; quantify the macrobenthonic communities' reactions to the changes determined by the urbanization gradient; test two different methodological approaches based on macroinvertebrates, which respectively adopt multimetric analyses and self organizing neural nets, so as to develop a methodology for the assessment of the watercourses of the area addressed; test the efficacy of the preimmaginal stages of the Simuliidae family as environmental indicators of the roman territory's streams.

First of all, 105 sites were characterized using cartographic analysis, on site observations, chemical and physico-chemical analyses of water samples, and benthic macroinvertebrate sampling. Black fly larvae and pupae were selectively collected in all 105 watercourses; in a chosen group of these, sampling was repeated every two months for an entire year. The data thus collected enabled a pre-classification of the sites, 15 of which were chosen so as to cover a wide array of conditions along the urbanization gradient present in the area considered by this study. These 15 sites were then investigated further through three seasonal sampling campaigns (conducted respectively in autumn 2007, winter 2007-2008 and spring 2008) which enabled the collection of ulterior water samples for chemical analyses and of macroinvertebrates for a quantitative evaluation of the communities (proportional multihabitat method).

Chemical, physico-chemical and microbiological analyses indicate the presence of diffused watercourse pollution in areas with altitudes below 200 meters a.s.l.. It especially manifests itself with high concentrations of nutrients (nitrates: $7,71 \pm 3,59$ mg/L; phosphates: $1,27 \pm 1,20$ mg/L in average). In accord with previous studies, the present results indicates that, in urban areas, the concentrations of phosphate ions and nitrates may be even higher than those typically found in the water sources of agricultural areas (in average respectively 8,9 mg/L and 7,5 mg/L). The extremely high concentrations may supposedly be consequence of the introduction into the water system of untreated domestic wastewaters from a multitude of sources. The amount of phosphates may, moreover, be caused by the mobilization of sediments deriving from the transformation of agricultural areas into building lands. The use of the IFF index also indicates that the functionality (self-depurant capacity) of the small watercourses of Rome's urban area has been strongly impaired: 78% of the sites show values below the minimum threshold for mediocrity) by different factors: the removal of trees in the surrounding territory; the management of the river-side vegetation which solely wished to guarantee the hydraulic functionality of the draining system; the trivialization of the micro-habitats due to the input of fine sediments deriving from the scouring of waterproof grounds; the repercussions of different contributory factors on the biological communities.

The most evident consequence, on the existing macroinvertebrate communities, of the urbanization of the territory was the loss of taxonomic variety. While, on average, 29 taxa were found in natural environments, the average was of only 4 in areas with urbanization above 40%. In such areas the communities are characterized especially by Chironomidae and Oligochaeta, the first of which, abundance wise, constitute approximately 90% of the overall communities. Plecoptera seem to be particularly sensitive and they disappear almost completely in sites with urbanization above 10% whereas the number of taxa and the relative abundances of both Ephemeroptera and Trichoptera show drastic reductions.

Multivariate analysis (Principal Components) was conducted so as to identify the axes along which the community data showed greatest variation. The first axis, by definition the one capable of explaining the greatest variation, resulted highly correlated to ecological quality. An ulterior multivariate analysis (two way indicator species analysis-TWINSPAN) was conducted to group the samples on the basis of both the composition and the abundance of determined indicator taxa. These analyses enabled the identification of the descriptive metrics that could best simulate the gradient along the first axis and best discriminate among the different groups. The integration of the selected metrics enabled the formulation of a multimetric index. The data was also used to implement a self-organizing neural net (SOM), which is a classification technique,

based on unsupervised learning, capable of reducing the number of dimensions of the overall data and of giving a visual representation of the results by plotting them onto a map. A U matrix was used to estimate the distances between the different neurons on the map. The inclusion of the TWINSpan-indicator taxa in the map enabled the assessment of each group's specific level of "environmental quality". Ulterior data, not included in the development of the two methods, was adopted to test classification efficacy.

The results indicate black flies may indeed be efficaciously adopted, in the area object of the present study, as environmental indicators to evaluate the ecological conditions of the watercourses. The comparison of species sampled and those attested in literature enabled to note the absence, in the samples collected, of certain species (*Simulium reptans*, *S. vernum*, *S. liriense*), perhaps due to both pollution of the watercourses and changes in use of the surrounding land. Correspondence analysis enabled the identification of altitude as the main factor influencing species' distribution in the different sites considered. However, quality becomes the main factor when taking into account exclusively the sites in the plains: *S. ornatum* s.l. and the "equinum" species (*S. equinum*, *S. pseudequinum*, *S. lineatum*) are the ones that show the greatest tolerance to chemical water pollution. Furthermore, when urbanization alters both the chemistry of the waters and the condition of the surrounding territory, *S. ornatum* s.l. is the sole of these species still present in the streams; it too, however, is incapable of enduring toxic pollution and suspended solids. The mid-high course of the Aniene river and its tributaries were sampled every two months, enabling the confirmation of the spatial-temporal black fly successions observed in the central Apennine region (area belonging to the "hirtipes" group, to the "variegatum" group and to a mixed one with more species) and reported in literature. The results also indicate the larvae of *S. ornatum* may supplant the other species of black flies in the periods in which there is greater pressure on watercourses.

This study made it possible to test three different approaches to stream assessment in the roman territory. The consistence of the two community based methodologies provides higher validity to the obtained classification. Furthermore, the black fly study results, through preliminary, open up to the use of this organisms in the development of metrics useful in the analyses of watercourses' quality. The enhancement of study and monitoring activities, propedeutic to the beginning of biological restoration measures, can represent the basis for the tutelage and future recovery of the urban streams.

1. INTRODUZIONE

1.1 I piccoli corsi d'acqua nel contesto urbano

I processi di antropizzazione e urbanizzazione del territorio in corso in vaste aree del globo hanno stimolato lo sviluppo di numerose linee di ricerca sull'ecologia dei sistemi ambientali interessati da questo fenomeno (Walsh et al., 2005a). Gli studi sull'ecologia degli ambienti fortemente antropizzati si sono occupati da una parte degli impatti dello sviluppo urbano sugli ecosistemi naturali preesistenti, dall'altra degli ambienti urbani considerati essi stessi come ecosistemi (Grimm et al., 2000). In entrambe le aree di ricerca, una posizione di primo piano spetta ai corsi d'acqua, in quanto la loro disposizione nel paesaggio, sempre nel punto meno elevato, rende questi ecosistemi particolarmente vulnerabili agli impatti associati al cambiamento d'uso del suolo. Inoltre i corsi d'acqua hanno un ruolo preminente negli ecosistemi urbani in quanto rappresentano i principali vettori d'acqua, sono luogo di trasformazione di tutto ciò che nell'acqua è contenuto, forniscono habitat per un biota potenzialmente vario e produttivo e possono costituire centri d'interesse sociale e culturale per le persone che abitano nei relativi bacini idrografici.

Una vasta letteratura internazionale illustra i cambiamenti apportati dall'urbanizzazione del territorio agli ecosistemi lotici, e sui piccoli corsi d'acqua in particolare (ampie rassegne sono presentate da Suren, 2000; Walsh et al., 2005a). Questi lavori riportano i diversi modi in cui i corsi d'acqua che drenano bacini urbanizzati sono ecologicamente degradati, segnalando una pluralità di effetti definiti nel loro insieme "sindrome del corso d'acqua urbano" (*Urban stream syndrome*; Meyer et al., 2005). La lista dei sintomi principali di questa "sindrome" include: un'idrologia più incostante, caratterizzata dall'aumento del fenomeno del ruscellamento (Wong et al., 2000), dalla diminuzione del flusso di base (Nilsson et al., 2003) e dall'aumento di frequenza degli eventi di piena (Wong et al., 2000); un'alterazione del rapporto tra la falda e il reticolo superficiale, con la diminuzione della ricarica delle falde (Groffman et al., 2003); un'elevata concentrazione di nutrienti e inquinanti (Hatt et al., 2004); un'alterazione della morfologia e alla stabilità dell'alveo e delle aree riparie (Grimm et al., 2005); una riduzione della ricchezza biologica dell'ecosistema (Wang & Lyons, 2003; Walsh, 2004). Sui cambiamenti degli ecosistemi lotici che più frequentemente sono stati associati all'urbanizzazione del territorio

sono stati svolti molti studi in varie città del mondo (Walsh et al., 2005a; Cottingham et al., 2003). Diversi autori sono comunque concordi nel ritenere che il fenomeno del cambiamento d'uso del suolo possa avere differenti effetti su corsi d'acqua che si trovano in diverse aree geografiche, in base a fattori quali le infrastrutture di drenaggio, il modello di sviluppo urbano, la natura delle aree riparie (Morley & Karr, 2002; Walsh, 2004; Taylor et al., 2004) e quindi non sia sempre possibile fare delle generalizzazioni troppo spinte, e ciascuna area deve essere studiata singolarmente.

Per quanto riguarda il reticolo idrografico della territorio della città di Roma, lo sviluppo e l'andamento di questi fenomeni è stato finora oggetto di un limitato numero di studi. Questo territorio presenta una ricca rete di piccoli corsi d'acqua (Ventriglia, 1990), sui quali, dal secondo dopoguerra in poi, grava il processo urbanizzazione del territorio legato all'enorme sviluppo della città di Roma, la cui area metropolitana è ormai arrivata ad estendersi per oltre 3000 km² (Macchi, 2001). E' indubbio che l'urbanizzazione di un'area così vasta deve coincidere, per i corsi d'acqua in essa compresi, con l'insorgere dei sintomi della "sindrome" di Meyer, ma finora sono stati portati avanti solo alcuni degli studi necessari per caratterizzarla. In particolare, tra gli aspetti maggiormente studiati c'è l'alterazione del rapporto tra il sistema delle acque sotterranee e i corsi idrici superficiali (La Vigna et al., 2008). Nell'area urbana e nelle vicine zone agricole si trova un elevato numero di pozzi, regolari e non, che operano continuo emungimento d'acqua, pressoché incontrollato, per attività economiche di diversa natura. Inoltre lo sviluppo urbanistico del territorio comporta la riduzione degli apporti alle circolazioni idriche sotterranee, a causa dell'impermeabilizzazione del suolo che non lascia più filtrare le acque meteoriche (Ladson, 2005), limitando di fatto la possibilità di ricarica della falda e andando a minacciare gli affioramenti superficiali puntuali e diffusi, garanzia di perennità per il regime dei corsi d'acqua, sempre più spesso soggetti a periodi di siccità (Capelli & Mazza, 2005).

Anche sulla qualità chimica e microbiologica dell'acqua dei corpi idrici romani sono state svolte in passato campagne d'analisi, legate soprattutto a emergenze igienico-sanitarie (D'Arca Simonetti et al., 1976). I risultati mostrarono elevatissimi valori d'inquinamento da nutrienti e microorganismi d'origine fecale in gran parte dei corsi d'acqua esaminati. Come conseguenza di queste analisi, con gli interventi di messa in sicurezza attuati negli anni seguenti, molti dei corsi d'acqua furono convogliati ai depuratori e i loro alvei interrati. L'urbanizzazione diffusa della fine del secolo passato si è andata a sovrapporre a questi interventi, generando una complicata situazione di degrado e frammentarietà nel sistema dei corsi d'acqua del territorio romano (Macchi, 2001). Una prima conferma biologica di questa situazione di forte alterazione dei sistemi dulciacquicoli dell'area romana è stata fornita dallo studio degli invertebrati viventi nei

corsi d'acqua che scorrono all'interno del perimetro cittadino (Mancini et al., 2005; Ciadamidaro & Mancini, 2006). Nel complesso, tutte le comunità studiate sono risultate estremamente povere e con abbondanze numeriche sproporzionate verso gli organismi più tolleranti a fenomeni di inquinamento massiccio.

Tra le cause della situazione descritta vi è stata, per lungo tempo, la mancanza di un sistema normativo in grado di proteggere gli ambienti acquatici, e lotici nello specifico, ponendo al centro dell'attenzione il loro valore come ecosistemi naturali. La legislazione italiana sulle acque reflue è stata scarsa e confusa fino al 1976, anno in cui è stata approvata e pubblicata la Legge 319/76, meglio conosciuta come "Legge Merli". Essa presentava comunque grandi limiti, tra cui sicuramente il fatto che poneva l'accento più sul rispetto di valori limite di emissione, per salvaguardare la qualità del corpo idrico ricevente, piuttosto che sull'importanza di salvaguardare le caratteristiche biologiche, fisico-chimiche e idromorfologiche delle acque superficiali stesse. Il processo di riforma della legislazione in materia di acque in Italia ha compiuto un grande passo avanti con l'emanazione del D. Lgs. 152/99, recante disposizioni sulla tutela delle acque superficiali, sotterranee e marine dall'inquinamento, integrato e modificato dal D. Lgs. 258/2000. Il D. Lgs 152/99 ha definito la disciplina generale per la tutela delle acque superficiali e sotterranee attraverso la riduzione dell'inquinamento e il perseguimento di usi sostenibili e durevoli delle risorse idriche; tale decreto ha condiviso e in parte anticipato impostazioni ed obiettivi della Direttiva 2000/60/CE, il cui iter legislativo per il recepimento in Italia si deve ancora concludere, nonostante il D. Lgs 152/2006 (Italia, 2006) e successive integrazioni (Italia, 2008; Italia, 2009) abbiano in parte, ma non compiutamente, risposto alle indicazioni della Direttiva, soprattutto per quanto riguarda i provvedimenti relativi all'inversione di tendenza ed il raggiungimento degli obiettivi, tramite una programmazione integrata volta al risanamento dei corpi idrici.

1.2 La Direttiva Europea 2000/60/CE

A partire dagli anni Settanta, si è assistito ad una evoluzione della normativa europea in materia di protezione delle acque, sempre più orientata ad uno sviluppo sostenibile e ad una gestione integrata delle risorse idriche. Questo processo è culminato nell'anno 2000 nell'emanazione della Direttiva Quadro Europea sulle Acque 2000/60/CE (Comunità Europea, 2000), con la quale si adotta un approccio ecologico che integra il monitoraggio fisico-chimico, chimico e idromorfologico con il monitoraggio biologico. La Direttiva non fissa di per sé valori limite per le emissioni, ma coordina quelli stabiliti da altre norme, in particolare la Direttiva

96/61/CEE (Direttiva Nitrati), facendo proprie anche le norme di qualità ambientale (obiettivi di qualità) fissate dalla Direttiva 76/464/CEE sulle sostanze pericolose. Gli obiettivi chiave della Direttiva, come riportato nell'Articolo 1, sono:

- prevenire l'ulteriore deterioramento, proteggere e migliorare lo stato degli ecosistemi acquatici e delle zone umide associate;
- promuovere un utilizzo sostenibile dell'acqua basato sulla protezione a lungo termine delle risorse idriche disponibili;
- assicurare la progressiva riduzione dell'inquinamento delle acque sotterranee e prevenire il loro ulteriore inquinamento;
- contribuire a mitigare gli effetti delle inondazioni e della siccità.

Ci sono due cambiamenti principali introdotti dalla Direttiva riguardo alla gestione degli ambienti acquatici. Il primo consiste nel fatto che le precedenti legislazioni europee miravano a proteggere particolari usi dell'ambiente acquatico dagli effetti dell'inquinamento e a proteggere l'ambiente acquatico soprattutto da sostanze chimiche dannose, mentre la Direttiva introduce degli obiettivi ecologici per proteggere e, dove necessario, risanare la struttura e la funzione degli ecosistemi acquatici, e di conseguenza salvaguardare l'utilizzo sostenibile delle risorse idriche. La seconda novità è l'introduzione di un sistema integrato di gestione del bacino fluviale che rappresenta il meccanismo chiave per assicurare la gestione integrata di acque sotterranee, fiumi, canali, laghi, bacini artificiali, estuari.

Questa legge quadro europea ha introdotto un approccio innovativo in relazione alla valutazione dello stato di qualità dei corpi idrici dando particolare enfasi agli aspetti biologici. Infatti uno dei principali obiettivi della Direttiva stessa è il raggiungimento dello stato "buono" della qualità ecologica dei corpi idrici presenti sul territorio europeo entro il 2015. L'articolo V della Direttiva prevede lo sviluppo e l'armonizzazione dei sistemi di valutazione dello stato di qualità ecologica per tutti i corpi idrici superficiali. Lo stato ecologico, una misura degli effetti dell'attività umana sugli ecosistemi acquatici, è espresso mediante elementi di qualità biologici, supportato da elementi idromorfologici e fisico-chimici; gli elementi di qualità biologica sono gli aspetti tipici di un ecosistema acquatico le cui caratteristiche possono essere misurate. Quattro elementi biologici (fitobenthos, macrofite acquatiche, macroinvertebrati bentonici, pesci) sono inseriti nelle norme europee come elementi obbligatori per il monitoraggio delle acque correnti. Nello specifico, ciò che viene richiesto dalla Direttiva è l'analisi dell'alterazione delle comunità di questi gruppi e una valutazione del grado di discostamento dalle comunità di riferimento, comunità presenti in condizioni prossime alla naturalità. Alla base di tale modello è l'idea che la distribuzione dei taxa possa variare, a prescindere da situazioni di stress, in funzione di variabili

ambientali quali regione geografica, temperatura, pH, velocità della corrente, durezza. In funzione di tali fattori viene individuata la comunità attesa se il sito fosse privo di inquinamento e viene valutato, tramite una metodica da definirsi, di quanto la comunità osservata con il campionamento se ne discosta.

Lo stato di qualità dei corpi idrici viene quindi definito come rapporto di qualità ecologica (EQR), calcolato rapportando “i valori dei parametri biologici riscontrati in un dato corpo idrico superficiale a quelli costatabili nelle condizioni di riferimento applicabili al medesimo corpo. Il rapporto è espresso come valore numerico compreso tra 0 ed 1: i valori prossimi a 1 tendono allo stato ecologico elevato, quelli prossimi allo 0 allo stato ecologico pessimo” (Allegato V, 1.4.1, iii). Tramite tecniche di inferenza statistica sono definiti i limiti di 5 classi di stato ecologico di cui la Direttiva fornisce una generica descrizione; queste classi sono: ottimo, buono, sufficiente, scarso, cattivo. Ognuna delle 5 classi di stato ecologico definita dalla Direttiva rappresenta un differente livello di disturbo rispetto ad uno stato di riferimento. Con l’eccezione dei bacini artificiali o dei corpi idrici fortemente modificati, le condizioni di riferimento sono quelle in cui il disturbo antropico sugli elementi di qualità fisico-chimica, idromorfologica e biologica di un corpo d’acqua risulta essere assente o presente in maniera molto ridotta. Le condizioni di riferimento forniscono quindi una base rispetto alla quale misurare gli effetti delle attività umane pregresse ed attuali in relazione ad ogni corpo idrico. L’identificazione delle condizioni di riferimento viene richiesta, inoltre, per garantire la distinzione tra le naturali variazioni di base degli ecosistemi acquatici rispetto alle variazioni dovute all’attività antropica. La definizione delle condizioni di riferimento richiede due passaggi a monte, consistenti nella definizione delle “idrocoregioni” e successivamente dei “tipi fluviali” (processo di tipizzazione). La metodologia seguita in Italia è fondamentalmente l’estensione del metodo usato per la regionalizzazione in Francia, spiegato in dettaglio da Wasson et al. (2002) e fa riferimento essa stessa a quella proposta da Omernick (1987) e usata dall’US EPA. Lo scopo è stato quello di delimitare delle regioni naturali che appaiano relativamente omogenee dal punto di vista della funzionalità dell’ecosistema fluviale, nell’ottica di minimizzare le differenze intra-regionali e massimizzare quelle inter-regionali. Dato che uno degli obiettivi è di porre le basi per identificare le condizioni di riferimento, ovvero le condizioni naturali attese in assenza di disturbo antropico, i parametri utilizzati non devono essere influenzati da attività umane. In questo approccio, quindi, la geologia, l’orografia e il clima sono considerati come i principali fattori che determinano le caratteristiche degli ecosistemi d’acqua corrente a scala di bacino. Una volta definiti i valori delle condizioni di riferimento, i sistemi di monitoraggio possono essere utilizzati per misurare di quanto le condizioni ecologiche del corpo

idrico siano state alterate dalle pressioni, cioè di quanto si siano allontanate dalle relative condizioni di riferimento.

Tra gli elementi biologici previsti dalla Direttiva Europea, e dalle normative italiane che ad oggi la recepiscono in parte (D.M. 56/09), i macroinvertebrati bentonici sono il gruppo che ha visto finora il più ampio utilizzo (Hellawell, 1986; Bonada et al., 2006) e anche in Italia sono stati i primi ad essere inclusi in una normativa (D.Lgs. 152/99) per la valutazione dello stato ecologico dei corsi d'acqua.

1.3 I Macroinvertebrati

1.3.1 Inquadramento

Per convenzione, il termine “macroinvertebrati” fa riferimento alla fauna a invertebrati acquatici trattenuta da una rete o setaccio con apertura di maglia pari a 500 μm . Questa definizione, generalmente accettata ai fini del biomonitoraggio, esclude comunque gli stadi giovanili precoci di molti macroinvertebrati, che possono essere invece importanti per lo studio della struttura di popolazione, delle relazioni trofiche e di altre caratteristiche ecologiche delle specie. Per questi approcci vengono allora utilizzate reti a maglia più fine, ad esempio 125 μm .

I macroinvertebrati sono quasi ubiquitari nelle acque correnti di tutto il mondo. Solo gli ambienti lotici nelle condizioni più estreme, a regime fortemente temporaneo o quelli gravemente inquinati non presentano nessuno dei rappresentanti di questo gruppo di organismi. Solitamente sia i fiumi sia i corsi d'acqua più piccoli ospitano una grande varietà di macroinvertebrati, con comunità formate da diverse centinaia di specie appartenenti a numerosi *phyla* (Roy et al., 2003; Hose et al., 2004) comprendenti Artropodi (Insetti, Aracnidi e Crostacei), Molluschi (Gasteropodi e Bivalvi), Anellidi (Oligocheti e Irudinei), Nematodi e Platelminti. In Appendice 4 vengono riportate immagini relative a organismi appartenenti alle famiglie più frequentemente rinvenute in questo studio. La maggior parte delle specie di macroinvertebrati di ambienti lotici sono bentoniche, quindi associate alle superfici del fondo (come massi, sassi o sedimento) o altre superfici stabili (come legni, radici o vegetazione acquatica). Alcuni degli insetti nuotatori tipici delle acque ferme (Eterotteri, Coleotteri) possono comunque essere rinvenuti nelle zone a carattere più lenticale dei corsi d'acqua, come le pozze dei torrenti. Su larga scala, la struttura delle comunità di macroinvertebrati cambia passando dalle sorgenti ai tratti iniziali, al medio corso ed ai tratti potamali (ad es., Hildrew & Eddington, 1979). Ciò avviene in risposta ai cambiamenti nella struttura e nel funzionamento degli ecosistemi lotici in cui essi vivono, influenzati da processi idrologici, disponibilità trofiche,

vegetazione riparia e diversi altri fattori, tutti caratterizzati dal fatto di cambiare lungo un profilo longitudinale del corso d'acqua (Stanford et al., 2005; Vannote et al., 1980).

L'importanza dei macroinvertebrati all'interno delle reti trofiche dei corsi d'acqua, in qualità di legame tra la materia organica (foglie morte, alghe, detrito) e i pesci, insieme con le loro caratteristiche di varietà e ubiquitarità, sono tra le ragioni principali per cui essi sono stati e sono a tutt'oggi uno degli oggetti centrali dello studio dell'ecologia fluviale (Hynes, 1970; Cummins, 1974; Allan, 1995; Hauer et al., 2000; Boyero & Bailey, 2001; Lamouroux et al., 2004). Altro motivo di interesse sono i molteplici adattamenti che i diversi gruppi di macroinvertebrati hanno sviluppato per risolvere i problemi legati alla vita nelle acque correnti, come quelli per la respirazione o la resistenza alla corrente. Tra gli insetti, ad esempio, alcune specie hanno sviluppato strutture per ottenere ossigeno dall'atmosfera (certi Ditteri, Eterotteri); altre possono immagazzinare riserve d'ossigeno in bollicine d'aria quando s'immergono (Coleotteri); un piccolo numero ha sviluppato pigmenti respiratori analoghi all'emoglobina dei vertebrati (alcuni Ditteri); molte specie, infine hanno branchie tracheali per respirare l'ossigeno disciolto in acqua (Efemerotteri e molti altri; Eriksen et al., 1996). Anche più numerosi sono i diversi adattamenti morfologici sviluppati per resistere alla corrente: appiattimento del corpo (Gammaridi, Asellidi, Irudinei, Efemerotteri, altri); proiezioni laterali dei bordi del corpo e delle zampe per formare alette che premono l'organismo al substrato (alcuni Efemerotteri; Hauer & Lamberti, 2006); corpi idrodinamici; ventose e branchie modificate per l'attacco a superfici lisce (Irudinei, Gasteropodi, Efemerotteri); uncini per l'aggancio a superfici ruvide e secrezioni d'ancoraggio (Simulidi).

Anche il ciclo vitale di molti macroinvertebrati mostra adattamenti a specifiche caratteristiche degli ambienti d'acqua corrente. Gli ambienti lotici sono estremamente dinamici sotto il profilo idrologico, spaziale, termico e trofico e i cicli vitali dei macroinvertebrati riflettono ciò attraverso un'enorme varietà d'adattamenti (Butler, 1984). Ad esempio, alcune specie sono specificatamente adattate a corsi d'acqua effimeri tramite uova dormienti di resistenza (Williams, 1987), mentre specie sistematicamente molto vicine con nicchie trofiche simili possono diversificare i tempi di crescita e sviluppo degli adulti all'interno dello stesso tratto fluviale (Hauer & Stanford, 1986). Anche la lunghezza del ciclo vitale presenta una grande variabilità tra i diversi macroinvertebrati: alcune specie possono completare più cicli completi nello stesso anno (polivoltine), altre due cicli per anno (bivoltine), uno solo per anno (univoltine), o anche richiedere più anni per completare un singolo ciclo (semivoltine). Non mancano poi i casi di specie con cicli vitali univoltini o semivoltini in diverse aree geografiche (Hauer & Stanford, 1982).

1.3.2 Macroinvertebrati come indicatori biologici di qualità ambientale

L'uso di organismi acquatici per valutare la qualità dell'acqua è un approccio che ha ormai raggiunto i cento anni di impiego (Kolkwitz & Marsson, 1909). Ciononostante, fino agli anni '70 in America e addirittura fino alla fine del secolo passato in Europa, i programmi di monitoraggio degli ambienti acquatici si sono basati esclusivamente sugli elementi chimici e fisici. Ma mentre questi ultimi sono solamente in grado di fornire un'istantanea dell'ambiente nel momento in cui viene raccolto il campione, il monitoraggio biologico fornisce informazioni sia sulla condizione presente sia sul passato, dando una misura integrata sia nello spazio sia nel tempo della salute dell'ecosistema.

Tra tutti gli organismi che sono stati presi in considerazione per l'applicazione nel monitoraggio biologico, i macroinvertebrati bentonici sono quelli più spesso utilizzati (Hellowell, 1986; Bonada et al., 2006). Questo utilizzo preferenziale è legato ai numerosi vantaggi che questi rappresentanti del biota dulciacquicolo offrono come indicatori biologici (Rosenberg & Resh, 1993). Tra questi:

- ubiquitarietà, che ne permette l'utilizzo in tutti i tipi di corpi idrici e habitat;
- gran numero di specie, con relativo ampio spettro di risposte alle perturbazioni;
- sedentarietà, che permette l'analisi spaziale degli effetti dei disturbi;
- cicli vitali relativamente lunghi, che permettono un'analisi temporale degli effetti dei disturbi;
- tecniche di campionamento semplici e poco costose;
- buona conoscenza della tassonomia dei gruppi e disponibilità di chiavi dicotomiche;
- pluralità di tecniche d'analisi delle comunità.

Esistono comunque delle difficoltà e degli svantaggi che devono essere presi in considerazione per avere un quadro completo della validità dei macroinvertebrati come indicatori. Ad esempio:

- richiesta di un gran numero di campioni per l'analisi quantitativa, con costi anche elevati;
- possibile presenza di più fattori, oltre alla qualità ambientale, che influenzano la distribuzione e l'abbondanza delle specie;
- variabilità stagionale;
- propensione alla deriva (*drift*) di certi taxa, che complica l'analisi;
- difficile identificazione tassonomica di alcuni gruppi;
- mancanza di sensibilità a certe perturbazioni, come i patogeni umani.

I macroinvertebrati sono stati studiati per la valutazione degli stress d'origine antropica a tutti i livelli di organizzazione biologica: a livello molecolare-fisiologico (Buchwalter et al., 2004); a livello di organismo (Martinez et al., 2002); più comunemente, almeno quando l'effetto del disturbo viene studiato in natura, a livello di comunità.

Ecosistemi naturali e di buona qualità sono in genere caratterizzati da comunità complesse, le cui componenti sono in stretta relazione e dipendenza le une dalle altre e capaci di rispondere a piccole perturbazioni senza essere danneggiate, ripristinando le condizioni iniziali. L'alterazione degli equilibri di un ecosistema, per cause sia naturali sia d'origine antropica, può causare squilibri tali da portare alla scomparsa delle specie più esigenti e sensibili, e all'insediamento di altre che mostrano intervalli di tolleranza più ampi. La struttura delle comunità viene così alterata in modo più o meno irreversibile, in base all'entità e alla durata della perturbazione: condizioni di stress prolungato portano allo sviluppo di comunità semplificate e caratterizzate dalla dominanza di poche specie tolleranti.

1.3.3 I metodi di valutazione

Un aspetto critico nell'uso delle comunità di bioindicatori per l'analisi della qualità delle acque riguarda il tradurre queste informazioni, che hanno un preciso significato per chi sa leggere le liste di specie, in giudizi comprensibili anche per i non specialisti. Molti autori nel secolo scorso hanno proposto sistemi di traduzione dei dati biologici in valori numerici comparabili. Questi metodi sono storicamente riconducibili a tre gruppi principali: sistemi saprobici, indici di diversità e indici biotici.

Il primo metodo biologico di valutazione della qualità dei corsi d'acqua fu il Sistema Saprobio (Kolkowitz & Marsson, 1909; Zelinka & Marvan, 1961) che, inizialmente basato su organismi planctonici e perifiton, successivamente incluse anche i macroinvertebrati bentonici. Esso è basato sulle modificazioni indotte nelle comunità biologiche dai processi di autodepurazione che si verificano lungo il profilo longitudinale di un corso d'acqua a valle del punto di immissione di uno scarico di acque nere.

Gli indici di diversità, invece, misurano la così detta "diversità globale" delle comunità, definita come una funzione del numero di specie trovate in un biotopo e dell'uniformità con cui gli individui sono distribuiti tra le singole specie (detta equitabilità, o "evenness" con terminologia anglosassone). L'uso di questi indici per l'analisi della qualità di un ambiente si basa sul fatto che, in linea di principio, ambienti relativamente indisturbati sostengono comunità ben diversificate con nessuna specie nettamente dominante; al contrario comunità stressate presentano poche specie e squilibri nella distribuzione numerica degli individui. Un indice appartenente a questa tipologia molto usato è l'indice di Shannon (1948). Un punto debole degli indici di diversità classici è la necessità di identificare tutti gli organismi a livello di specie, il che può non essere agevole o addirittura possibile senza rivolgersi a degli specialisti. Inoltre diversi

ambienti possono avere naturalmente differenti diversità globali, e dunque in questi casi gli indici di diversità non possono essere utilizzati per confrontarne la qualità.

Gli indici biotici, infine, si basano sia sulla sensibilità di alcuni taxa agli inquinanti, sia sulla ricchezza in taxa delle comunità macrobentoniche. Tra i più noti il TBI (Trent Biotic Index; Woodiwiss, 1964), il BMWP (Biological Monitoring Working Party, Armitage et al., 1983) e l'EBI (Extended Biotic Index; Woodiwiss, 1978). Proprio da un adattamento di questo ultimo alla situazione italiana è stato derivato, alla fine del secolo passato, l'Indice Biotico Esteso (IBE; Ghetti, 1995, 1997). Il metodo IBE permette di classificare i corsi d'acqua secondo una scala di valori di qualità biologica compresi tra 1 (estrema alterazione) e 12-14 (mancanza di alterazione). Il metodo prevede che si compili una lista dei taxa di macroinvertebrati (Unità Sistematiche, US) raccolti lungo un transetto, riconosciuti fino al livello di genere o di famiglia (secondo quanto specificato in Ghetti, 1995). L'intersezione dell'informazione sul numero di US con quella relativa al taxon più sensibile rinvenuto fornisce il valore IBE, a cui corrisponde un giudizio di qualità. L'inclusione di questo indice nella normativa italiana per la valutazione dello stato ecologico delle acque correnti (Italia, 1999) ne ha determinato un ampio utilizzo in ambito nazionale, con l'organizzazione di corsi di accreditamento per il sistema delle ARPA (Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente) e la realizzazione di studi specifici a livello regionale per caratterizzare l'intero reticolo idrografico da un punto di vista ecologico (ad esempio, Mancini & Arcà, 2000), permettendo lo sviluppo di competenze e professionalità in ambito ambientale profondamente radicate nel territorio.

La mancanza di una completa conformità dell'Indice Biotico Esteso con le indicazioni della Direttiva Europea 2000/60/CE, in particolare a causa dell'assenza nel metodo di un'analisi della struttura della comunità e di un confronto con comunità di riferimento specifiche per ogni tipo di corso d'acqua, hanno di fatto reso necessario uno sforzo per l'individuazione di un nuovo indice di valutazione dei corsi d'acqua. Questa necessità si è venuta a presentare sia per l'Italia sia per altri Paesi Europei, come ad esempio la Germania, che pur possiede, per lo studio dei macroinvertebrati, un'esperienza particolarmente grande. Gli approcci recentemente più utilizzati per l'analisi delle comunità di macroinvertebrati sono l'approccio "multimetrico" e l'approccio "multivariato" (Hauer & Lamberti, 2006). La principale distinzione tra i due consiste nel modo in cui sono definite le variabili analizzate. Infatti nell'approccio multimetrico le variabili sono derivate valutando alcune caratteristiche (dette metriche) sinteticamente descrittive dei campioni di macroinvertebrati raccolti nei diversi siti; tra queste caratteristiche sono incluse la ricchezza e la composizione percentuale di certi gruppi tassonomici o trofici, misure di diversità di specie ed equità, indici biotici basati su sensibilità e tolleranza dei taxa. Una

volta valutata la metrica, essa (o una combinazione di esse, detta indice multimetrico) viene confrontata tra diversi campioni. Nell'approccio multivariato, invece, i campioni di macroinvertebrati sono comparati per la loro posizione ottenuta da una procedura di ordinamento o classificazione basata sulle misure di abbondanza di ciascun taxon in ciascun sito. In generale, comunque, i dati necessari per effettuare valutazioni basate sui due metodi sono praticamente identici. In Italia è ormai in via di ufficiale adozione l'indice STAR_ICMi (Buffagni & Erba, 2007b), un indice multimetrico già utilizzato in Europa allo scopo di intercalibrare i vari metodi di valutazione dei Paesi Membri, verificarne cioè l'uniformità di giudizio. Si tratta di un indice che ha quindi le necessarie caratteristiche di conformità ai principi della Direttiva Europea, e verrà utilizzato per la classificazione di tutti i corsi d'acqua guadabili presenti in Italia.

La definizione di un unico indice nazionale presenta il vantaggio di rendere immediatamente confrontabili i risultati del monitoraggio all'interno dello stesso Paese. Le ricerche per la messa a punto di sistemi di valutazione sono comunque scese ad un dettaglio maggiore, orientandosi allo sviluppo di indici specifici per le diverse tipologie di corsi d'acqua (AQEM consortium, 2002; Buffagni et al., 2004; Pinto et al., 2004). In questi metodi sono stati anche presi in considerazione i maggiori fattori di alterazione dei singoli tipi fluviali: inquinamento organico, alterazione morfologica e acidificazione delle acque. In alcuni casi sono stati valutati una serie di fattori di stress, considerati sia individualmente sia nel loro complesso, come generico degrado del corso d'acqua (Hering et al., 2004). L'utilità di questi indici disturbo-specifici emerge soprattutto dalla richiesta della normativa europea (Direttiva 2000/60/CE) di impostare programmi di monitoraggio diversificati in base agli scopi: un monitoraggio detto "operativo", finalizzato soprattutto alla classificazione dello stato dei corpi idrici (e per il quale l'Italia ha adottato l'indice STAR_ICMi), ed un monitoraggio detto di "sorveglianza", finalizzato non solo alla classificazione dello stato dei corsi d'acqua, ma anche a tenere sotto osservazione le variazioni nel tempo dello stato stesso, causate dalle diverse attività umane, e conseguentemente alla progettazione efficace di futuri programmi di monitoraggio. Diversi tipi di metodi di valutazione dello stato sono quindi necessari in base alle diverse fonti di disturbo che si intende seguire nel tempo. Tra queste l'urbanizzazione del territorio è una delle più difficili da valutare, considerando che, come già detto, essa genera sugli ecosistemi lotici una serie di impatti difficilmente riconducibili a singoli fattori. In questo studio, per la messa a punto di un metodo di valutazione della qualità ambientale dei corsi d'acqua nell'area urbana romana, viene sperimentata l'applicazione sia di un metodo multimetrico sia di una particolare forma di tecnica multivariata.

1.4 I Simulidi, generalità e introduzione del lavoro

I Simuliidae Newman 1834 (Diptera, Nematocera) sono piccoli ditteri ben noti in alcune aree del mondo per l'attacco all'uomo e agli animali domestici degli adulti femmine. Gli stadi preimmaginali sono estremamente specializzati in quanto sempre legati alle acque correnti, a partire dai rivoli di scioglimento delle nevi fino ai grandi fiumi di pianura (Crosskey, 1990). Le larve, filtratrici passive, vivono infatti prevalentemente ancorate a substrati levigati dei tratti a carattere più o meno lotico dei corsi d'acqua. L'ancoraggio è garantito da un disco adesivo formato da molte serie di uncini che si agganciano ad una sostanza vischiosa emessa dalle larve stesse. Questi organismi hanno un ruolo chiave nell'ecologia dei corsi d'acqua e sono membri importanti della rete trofica. Mentre gli adulti maschi sono esclusivamente nettariivori, le femmine necessitano di un pasto di sangue per completare lo sviluppo delle uova, e vanno quindi attivamente alla ricerca di un vertebrato da pungere. Come ectoparassiti ematofagi sono importanti vettori di agenti eziologici di malattie sia umane sia animali, quali virus, vermi filarioidi e protozoi (Ascoli et al., 2002; Cheke et al., 2006). In alcune aree tropicali, essi sono responsabili della trasmissione del nematode *Onchocerca volvulus*, causa dell'oncocercosi o "cecità dei fiumi", una malattia umana fortemente debilitante e diffusa sia in Africa sia in Sud America. In Europa essi sono invece causa di imponenti morie di bovini per reazione allergica a massicce dosi di saliva (Simuliotossicosi). In considerazione dell'importanza a livello medico e veterinario, i Simulidi sono tra i gruppi meglio studiati tra gli insetti acquatici, e nuove ricerche vengono continuamente svolte in svariati campi, come morfologia, sistematica, biologia cellulare, parassitologia, epidemiologia, lotta biologica ed ecologia degli ambienti lotici.

I Simulidi, negli stadi preimmaginali, hanno generalmente una ben definita distribuzione altitudinale e stagionale; di conseguenza è possibile, in base alla "successione ecologica" delle specie, distinguere in un corso d'acqua in buone condizioni di conservazione, delle zone, ciascuna caratterizzata da determinate specie e gruppi di specie (Zahar, 1951; fiumi della Scozia). D'altra parte numerosi studi hanno dimostrato come la composizione delle associazioni di specie di Simulidi in un corso d'acqua sia anche controllata da diverse variabili ambientali direttamente collegate a pressioni antropiche sull'ecosistema fluviale (Rivosecchi & Mancini, 1983; Lautenschlager & Kiel, 2005). Tra queste, ad esempio, la perdita della vegetazione riparia (Feld et al., 2002), la degradazione chimica e fisica dell'acqua (Glotzel, 1973; Seitz, 1992; Kachvoryan et al., 2006) e le modificazioni idromorfologiche dell'alveo (Lorenz et al., 2004). Questa stretta relazione è spiegata dalle caratteristiche autoecologiche delle diverse specie di Simulidi. Sulla distribuzione delle larve di Simulidi in un corso d'acqua hanno particolare importanza la velocità di corrente ed il buon substrato di appoggio; questo può essere costituito

da rocce, da erbe o da qualsiasi altro oggetto sommerso, purchè sia stabile e il più possibile levigato, senza muschi, alghe filamentose o patine gelatinose batteriche tipiche di acque eutrofiche. Inoltre le larve, in quanto organismi filtratori che respirano ossigeno disciolto, sono generalmente danneggiate dall'inquinamento, anche se talune specie sono favorite da aumenti della sostanza organica. Infatti questa, decomposta ad opera dei batteri mineralizzanti o semplicemente frantumata in piccole particelle dalla corrente, favorisce fino ad un certo punto le specie che se ne nutrono. L'eccessivo aumento della materia organica comporta però anche una diminuzione dell'ossigeno disciolto, utilizzato dai batteri per decomporla, con la scomparsa delle specie di Simulidi più esigenti in fatto d'ossigeno. Infine l'eccesso di eutrofizzazione comporta che persino le specie più tolleranti vengano a trovarsi in difficoltà, fino anche a sparire del tutto (Rivosecchi, 1971). Non solo sugli stadi preimmaginali, strettamente legati all'ambiente acquatico, si concentrano gli effetti delle pressioni antropiche sull'ecosistema fluviale. E' stato infatti dimostrato come la distribuzione delle specie di Simulidi sia fortemente legata alle condizioni del paesaggio circostante il corso d'acqua (Rivosecchi, 2005). Come riportato nella letteratura citata, il cambiamento d'uso del suolo, sempre più caratterizzato da deforestazione, agricoltura intensiva e nuove pratiche di zootecnia, ha stravolto le disponibilità sia spaziali sia trofico-parassitarie degli adulti di alcune specie di Simulidi, con la conseguente loro scomparsa in favore di altre che al contrario possono trarre beneficio sia dalle modifiche del paesaggio boschivo o agrario, sia da livelli intermedi di eutrofia, che, favorendo la crescita degli organismi fotosintetici, causano un momentaneo aumento dell'ossigeno, dando così luogo ad improvvise "esplosioni demografiche" con conseguenti attacchi all'uomo e al bestiame (Majori et al., 1986).

I Simulidi della provincia di Roma sono stati da tempo oggetto di varie osservazioni a carattere occasionale. In particolare, le prime notizie in merito si trovano nella fauna dell'URSS (Rubzov, 1956) e riguardano la segnalazione di alcune specie ritrovate nei dintorni della città di Roma. Nel 1963 sono state fatte le prime segnalazioni sui Colli Albani e nella bonifica di Maccarese. Nel 1966 ancora segnalazioni dalla tenuta di Castelporziano. Finalmente nel 1974 è stato svolto il primo studio accurato sulla distribuzione zonale e stagionale dei Simulidi negli affluenti e nell'emissario del Lago di Bracciano (f. Arrone; Rivosecchi et al., 1974). Nello stesso anno uno studio sul bacino del fiume Mignone prese in considerazione una parte della provincia di Roma (Rivosecchi et al., 1974). Infine nel 1996 è stato svolto uno studio dei Simulidi della città di Roma (considerata come l'area all'interno dell'autostrada del Grande Raccordo Anulare; Rivosecchi et al., 1996) con qualche cenno ai Simulidi del territorio circostante per confronto.

Nel complesso risulta evidente come non sia stato ancora intrapreso un lavoro d'insieme sulle specie presenti nell'area e sulla loro distribuzione. L'utilità di affrontare un lavoro del

genere emerge sia alla luce del comprovato valore che i Simulidi hanno come indicatori ecologici delle acque correnti, con probabile validità anche nello studio degli effetti dell'urbanizzazione, sia per la non sottovalutabile importanza che i Simulidi hanno anche in campo medico-veterinario, tanto più in un territorio così densamente popolato come quello romano. Lo studio dei Simulidi, svolto a livello di specie ma in maniera integrata con le analisi delle comunità macrobentoniche, effettuate a livelli tassonomici superiori, può inoltre essere utile per un confronto tra i risultati ottenuti dai due approcci.

1.5 Scopo

Il progetto di ricerca alla base di questa tesi di dottorato ha previsto l'analisi di parametri ambientali, biotici e abiotici, dei corsi d'acqua del reticolo minore del Lazio centrale, all'incirca corrispondente con la provincia di Roma. Sono state effettuate quattro successive campagne di raccolta di campioni e osservazioni sul campo volte alla determinazione di variabili chimiche e fisico-chimiche, analisi della funzionalità degli ecosistemi lotici, analisi dell'uso del suolo e studio delle comunità di invertebrati bentonici, con particolare attenzione alle specie della famiglia dei Simulidi. Lo scopo di questo lavoro è sviluppare un metodo di valutazione, basato sugli invertebrati bentonici, dello stato qualitativo dei piccoli corsi d'acqua dell'area urbana romana. Nello specifico, gli obiettivi principali del lavoro di tesi possono essere sintetizzati come segue:

- caratterizzare i piccoli corsi d'acqua del Lazio centrale in considerazione del processo di urbanizzazione in corso in seguito allo sviluppo della città di Roma;
- quantificare la risposta delle comunità di macroinvertebrati acquatici al gradiente di antropizzazione presente nel territorio urbano ed extraurbano romano;
- sviluppare un metodo di valutazione dello stato qualitativo, basato sulle comunità di invertebrati bentonici, dei piccoli corsi d'acqua della parte dell'area di studio interessata da urbanizzazione;
- verificare la possibilità di utilizzare le specie della famiglia dei Simulidi, in considerazione del loro valore di indicatori ecologici, per valutare lo stato dei corsi d'acqua del territorio romano; particolare attenzione è stata rivolta anche alla valenza sanitaria di questi ditteri.

2. MATERIALE E METODI

2.1 Area di Studio e scelta dei siti

Il territorio della Provincia di Roma, interamente compreso nel settore centrale del Lazio, ha una superficie di 5353 km², con un territorio molto articolato da un punto di vista geografico ed ecologico, grazie al complesso sistema di fattori geologici, orografici, idrografici e geoclimatici (Bologna et al., 2007). Il territorio provinciale è divisibile in tre zone geografiche. Il settore più orientale è una porzione del sistema appenninico centrale, formato dai massicci carbonatici dei Monti Lucretili, dei Monti Ruffi, dei Monti Prenestini e dei Monti Simbruini. Si trovano in quest'area le cime più elevate della Provincia, con il massimo raggiunto dal Monte Autore a 1853 m s.l.m.. La fascia di territorio intermedia è caratterizzata dal corso del fiume Tevere, con una piana alluvionale posta a separare aree collinari vulcaniche quali il sistema Sabatino e quello Cerite a nord e il complesso dei Colli Albani verso sud. All'estremità meridionale si trova l'ultima propaggine del sistema carbonatico dell'Antiappennino laziale, rappresentato dai Monti Lepini. La terza e più occidentale zona, stretta tra il mar Tirreno e l'Antiappennino, è costituita dalla fascia costiera. Il sistema idrografico è sostanzialmente composto dalla porzione terminale del bacino del fiume Tevere, e dalla gran parte di quello del suo principale affluente nel Lazio, il fiume Aniene. Altri bacini importanti sono: la porzione montana del bacino del Sacco a sud; parte del bacino del fiume Mignone a nord; il bacino del fiume Arrone. Altri bacini minori raggiungono direttamente il mar Tirreno o sono riferibili ad affluenti dei corsi d'acqua principali (Ventriglia, 1989).

Nella definizione dell'area di studio e dei siti di campionamento sui corsi d'acqua si è tenuto conto del processo di "tipizzazione" (Buffagni et al., 2006) e della conseguente suddivisione del territorio nazionale in "Idroecoregioni", in base a quanto previsto dalla Direttiva 2000/60/CE e dal Decreto Ministeriale 131/2008 (Italia, 2008). Il processo di tipizzazione ha lo scopo di individuare aree che presentino al loro interno una limitata variabilità per le caratteristiche chimiche, fisiche, e biologiche (regionalizzazione in idroecoregioni), al cui interno possono essere riconosciuti dei "tipi fluviali" in base a maggiore omogeneità di

caratteristiche dei corsi d'acqua. I criteri utilizzati in Italia per le prime due fasi del processo di tipizzazione dei corsi d'acqua sono riportati in tabella 1.

Tabella 1. Descrittori utilizzati nel primo e secondo livello di tipizzazione dei corsi d'acqua (Decreto 131/2008; Italia, 2008)

Table 1. List of considered features in the first two levels of the Italian watercourse typization (Decreto 131/2008; Italia, 2008)

Descrittori utilizzati per il livello 1 del processo di tipizzazione (idroecoregioni)	
Classi di descrittori	Descrittori
<i>Localizzazione geografica</i>	Altitudine, Latitudine, Longitudine
<i>Descrittori morfometrici</i>	Pendenza media del corpo idrico
<i>Descrittori climatici</i>	Precipitazioni Temperatura dell'aria
<i>Descrittori geologici</i>	Composizione geologica del substrato
Descrittori utilizzati per il livello 2 del processo di tipizzazione (tipi fluviali di massima)	
Classi di descrittori	Descrittori
<i>Descrittori idromorfologici</i>	Distanza dalla sorgente (indicatore della taglia del corso d'acqua) Morfologia dell'alveo (per i fiumi temporanei) Perennità e persistenza
<i>Descrittori idrologici</i>	Origine del corso d'acqua Possibile influenza del bacino a monte sul corpo idrico

Il processo di tipizzazione dei corsi d'acqua italiani ha portato, per quanto riguarda la Provincia di Roma, al riconoscimento di tre differenti idroecoregioni: la 14, Tuscia e Roma; la 13, Basso Lazio; la 15, Appennino Centrale (figura 1). Buona parte del territorio provinciale romano ricade nella sola idroecoregione 14, comprendente i sistemi vulcanici Sabatino e Laziale; l'idroecoregione 13 è rappresentata dalle propaggini settentrionali del bacino del fiume Sacco; l'idroecoregione 15, infine, comprende i sistemi del Preappennino e i Monti Simbruini.

Durante una prima fase di sopralluogo, sono state localizzate stazioni di campionamento in tutti e tre le idroecoregioni, proporzionalmente alla loro rappresentatività nell'area di studio. La figura 2 mostra tutti i 35 corsi d'acqua presi in esame nella prima fase dello studio, indicati da un codice alfabetico, e la localizzazione dei 105 siti sui quali sono stati svolti il sopralluogo e i campionamenti d'indagine (primavera 2007). La tabella 2 riporta il nome dei corsi d'acqua, il nome del sito ed il codice alfanumerico corrispondente al sito stesso: per semplificare la lettura dei risultati, sia nel testo sia nei grafici e nelle tabelle, le lettere individuano il corso d'acqua e i numeri, che mantengono sempre la numerazione progressiva da 1 a 105, rappresentano i siti.

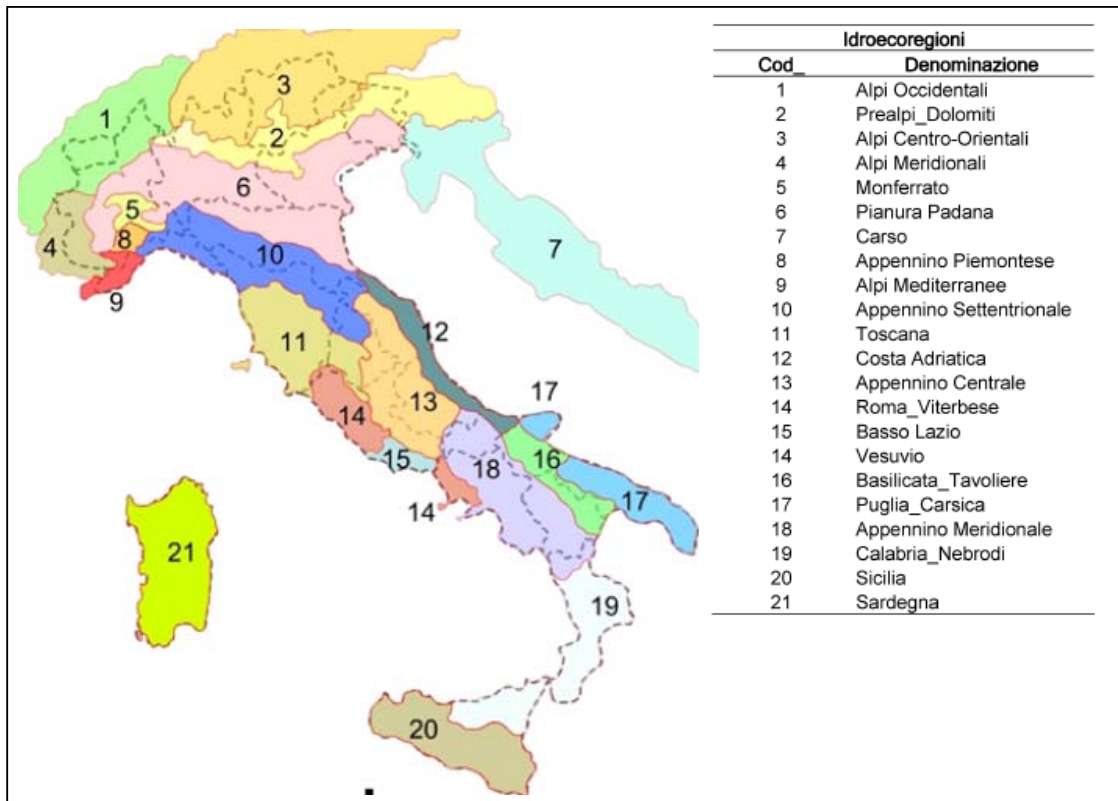


Figura 1. Suddivisione del territorio nazionale in idroecoregioni (DM 131/2008)
Figure 1. Subdivision of Italian territory in hydro-ecoregions (DM 131/2008)

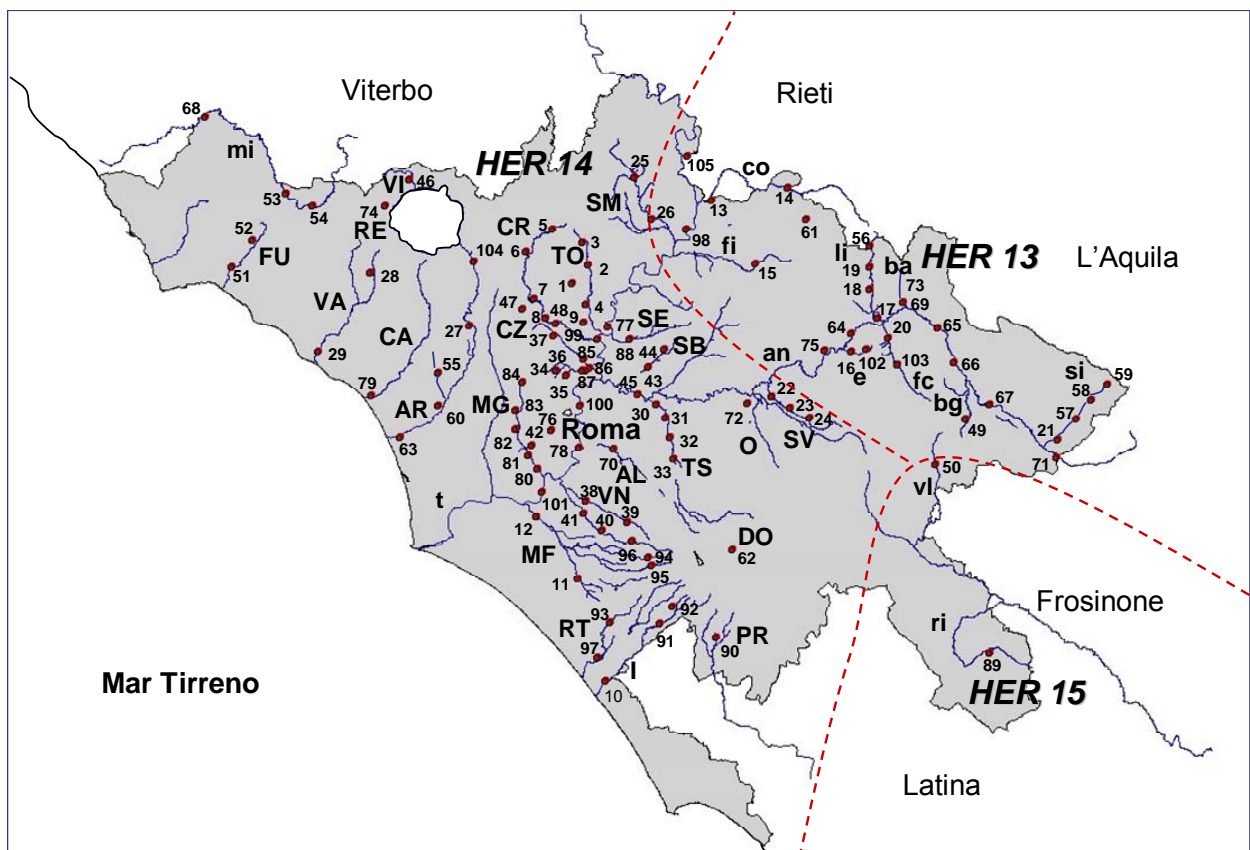


Figura 2. Area di studio e siti di campionamento (le linee tratteggiate schematizzano i confini delle idroecoregioni-HER; legenda dei codici nella tabella 2)
Figure 2. Study area and sampling sites (dotted lines represent hydro-ecoregion-HER boundaries; code legend as in table 2)

Tabella 2. Codice, nome del corso d'acqua e nome delle stazioni campionate.
Table 2. Codes, watercourse names and sampled site names

Codice	Corso d'acqua	Sito	Codice	Corso d'acqua	Sito
FU51	Fiume	Valle maneggio	VN38	Vallerano_A.	Acquacetosa
FU52	Fiume	Monte affluente	VN39	Vallerano_A.	Castel di Leva
mi53	Mignone	Agriturismo	VN40	Vallerano	Medaglia
mi54	Mignone	Rota	VN41	Vallerano	Valleranello
mi68	Mignone	Confine	VN96	Vallerano	Falcognana
VA28	Vaccina	Bracciano	TS30	Tor Sapienza	Tor Cervara
VA29	Vaccina	Ladispoli	TS31	Tor Sapienza	Collatina
CA79	Caduta	Passoscuro	TS32	Tor Sapienza	Torrenova
VI46	Vicarello	Vicarello	TS33	Tor Sapienza	Tor Vergata
RE74	Grotta Renara	Renara monte	O72	Osa	Lunghezza
AR27	Arrone	Galeria	t76	Tevere_A	Pamphili
AR55	Arrone_R.M.	Rio Maggiore	t77	Tevere	Settebagni
AR60	Arrone	Valle lago	t78	Tevere	Ripetta
AR63	Arrone	Maccarese	t101	Tevere	Mezzocammino
AR104	Arrone	Acqua Claudia	t98	Tevere	Passo Corese
CR5	Cremera	Sorbo	t100	Tevere	Centro
CR6	Cremera	Formello	t99	Tevere	Castel Giubileo
CR7	Cremera	Ponte Sodo	t105	Tevere	Nazzano
CR8	Cremera	Isola Farnese	I10	Incastro	Ardea
CR47	Cremera_P.	Piordo	I91	Incastro	Campoleone
CR48	Cremera	Veio	I92	Incastro	Santa Palomba
TO1	Torraccia_C.	Canneto	PR90	Prefetti	Prefetti
TO2	Torraccia	Maneggio	SB43	San Basilio	San Basilio
TO3	Torraccia	Castelnuovo	SB44	San Basilio	Cecchina
TO4	Torraccia	Pietra Pertusa	SE88	Settebagni	Marcigliana
TO9	Torraccia_P.P.	Prima Porta	SV22	San Vittorino	Villa Adriana
CZ34	Crescenza_A.	Insugherata	SV23	San Vittorino	A24
CZ35	Crescenza_A.	Rimessola	SV24	San Vittorino	Polese
CZ36	Crescenza_A.	Acquatraversa	MF11	Malafede	Trigoria
CZ37	Crescenza	Grottarossa	MF12	Malafede	Vitinia
CZ85	Crescenza	Due Ponti	MF94	Malafede	Casale
CZ86	Crescenza	Flaminia	MF95	Malafede	Abbruciato
CZ87	Crescenza	Cassia	co13	Corese	Passo
MG42	Magliana_A.	Acquafredda	co14	Corese	Nerola
MG80	Magliana	Muratella	co61	Corese_A	Le Capore
MG81	Magliana	Pisana	fi15	Fiora	Cretone
MG82	Magliana	Brava	li17	Licenza	Vicovaro
MG83	Magliana	Maglianella	li18	Licenza	Roccagiovine
MG84	Magliana	Marmo Nuovo	li19	Licenza	Licenza
SM25	San Martino	Capena	li56	Licenza	Percile
SM26	San Martino	Tiberina	ba73	Bagnatore	Cineto
DO62	Doganella	Doganella	e16	Empiglione	Monitola
an45	Aniene	Ponte Mammolo	e102	Empiglione	Ciciliano
an64	Aniene	Castel Madama	fc20	Fiumicino	Mandela
an65	Aniene	Marano	fc103	Fiumicino	Saracinesco
an66	Aniene	Canterano	bg49	Bagno	Rocca
an67	Aniene	Subiaco	si21	Simbrivio	Jenne
an69	Aniene	Anticoli	si57	Simbrivio	Ponte
an71	Aniene	Trevi	si58	Simbrivio	Vallepietra
an75	Aniene	Villa Gregoriana	si59	Simbrivio	Santuario
RT93	Rio Torto	Pomezia	vi50	Valle	Olevano
RT97	Rio Torto	Laurentino	ri89	Il Rio	Carpinetto
AL70	Almone	Appia			

Per la scelta di un gruppo più ristretto di siti (15), sui quali effettuare le analisi volte alla messa a punto dei metodi di valutazione della qualità dei corsi d'acqua romani, è stata seguita una procedura articolata in 3 passaggi:

1) In primo luogo sono stati esclusi tutti i siti che ricadono all'esterno dell'idroecoregione 14, in quanto in essa si trova l'area urbana romana ed il territorio immediatamente circostante. Nello studio delle associazioni di specie di Simulidi sono stati utilizzati i risultati delle analisi d'indagine svolte su tutti i siti. Per mantenere la conformità con lo schema proposto dalla Direttiva, si è inoltre ulteriormente approfondito il livello di tipizzazione per individuare il tipo fluviale corrispondente ai corsi d'acqua dell'area urbana romana.

2) In secondo luogo sono stati individuati dei siti in condizione di integrità tali da essere considerati come riferimento per lo studio delle comunità di macroinvertebrati. Le condizioni di riferimento rappresentano una situazione in cui i corsi d'acqua sono soggetti a pressioni molto basse, privi degli effetti dell'industrializzazione, dell'urbanizzazione e dell'agricoltura intensiva, e comunque tali da apportare solo modificazioni molto lievi delle comunità biologiche residenti (Buffagni et al., 2009). Come già accennato, in tutti i moderni approcci di classificazione l'individuazione di siti che si trovino in queste condizioni è essenziale per valutare lo stato degli ambienti che si vogliono monitorare. Infatti essi rappresentano il "bianco" in cui studiare le comunità biologiche pressoché inalterate che dovrebbero essere ritrovate in tutti i corpi idrici dello stesso tipo se non fossero presenti pressioni, per poi procedere a dei confronti. La ricerca di criteri oggettivi per definire se un sito possa essere ritenuto o meno un "sito di riferimento" ha portato alla produzione di una ricca letteratura sull'argomento (ad es., Wallin et al., 2003; Sanchez et al., 2005). Per questo studio l'approccio utilizzato è stato quello proposto da Chaves et al. (2006) specificatamente per piccoli corsi d'acqua. Si tratta di una procedura articolata in tre fasi, che partendo da una scala di bacino aumenta via via il dettaglio delle osservazioni. Nella prima fase vengono individuati i possibili siti candidati, in base all'uso del suolo nel bacino sotteso e alla presenza di interventi strutturali sul corso d'acqua. Nella seconda fase vengono selezionati i siti in base a 10 criteri riguardanti caratteristiche fisiche, biologiche e d'antropizzazione del tratto di corso d'acqua in cui si trova il sito (tabella 3; per un maggior dettaglio, Chaves et al., 2006). Nella terza fase, infine, la selezione di siti attuata durante il secondo passaggio viene validata raccogliendo dati sulla chimica delle acque, substrato dell'alveo, vegetazione ripariale e anche un campionamento di invertebrati bentonici che confermi la presenza di una comunità ben diversificata. I siti così selezionati possono essere considerati con buona affidabilità come siti di riferimento per quel tipo fluviale.

Tabella 3. Criteri di selezione dei siti di monitoraggio (fase 2, modificato da Chaves et al., 2006)
Table 3. Selection criteria for reference sites, second phase (modified from Chaves et al., 2006)

Criteri	
1 Aspetto dell'acqua in alveo	6 Mancanza di captazioni
2 Prove di interventi umani	7 Vegetazione attesa sulle sponde
3 Evidenze di alterazioni di portata	8 Naturalità dell'area boschiva circostante
4 Sistema di drenaggio naturale	9 Presenza di sole specie arboree autoctone
5 Naturalità dell'alveo	10 Diversificazione degli habitat in acqua

3) L'ultimo passaggio ha previsto la scelta di 15 siti (compresi i siti di riferimento), basata in parte su una valutazione complessiva dei siti (livello e tipo d'urbanizzazione nel territorio immediatamente circostante il tratto di 1 km di corso d'acqua a monte del sito, presenza di scarichi a monte, giudizio esperto) accompagnata dalla considerazione del gradiente abiotico emerso dall'integrazione dei risultati delle analisi sui campionamenti d'indagine. Per lo studio ecologico delle aree antropizzate in generale e urbanizzate nello specifico l'utilizzo di un approccio "a gradiente" fu proposto da McDonnel e Pickett già negli anni '90 (1990). Questo approccio fornisce infatti uno strumento utile ad aumentare le conoscenze dell'interazione tra sviluppo antropico del territorio e struttura e funzioni dei sistemi ecologici, come la distribuzione di piante e animali in risposta a cambiamenti fisici, chimici, ecologici e microclimatici dell'ambiente (Ter Braak & Prentice, 1988). Le critiche di semplicismo mosse contro questo approccio (Alberti et al., 2001) sono dovute soprattutto alla prevalenza di un approccio a "transetto" per rappresentare il gradiente, il che rende di difficile realizzazione una generalizzazione dei risultati. Hahs & McDonnel (2006) hanno invece messo in evidenza l'importanza di prendere in considerazione le caratteristiche ecologiche di siti ubicati in diverse posizioni lungo il gradiente. Gli stessi autori suggeriscono anche di utilizzare, nella formulazione del gradiente quando sono coinvolti ambienti interessati da urbanizzazione, misure il più possibile generiche se si vuole ottenere una buona comparabilità con i risultati di altri studi (McDonnel & Hahs, 2008). In considerazione di ciò, in questo studio, durante la fase dei campionamenti d'indagine sono state svolte diverse analisi, realizzate in parte sul campo, in parte in laboratorio: analisi chimiche, fisico-chimiche e microbiologiche di campioni d'acqua (livello di sito); valutazione della funzionalità fluviale (livello di tratto fluviale); caratterizzazione dell'uso del suolo nei sottobacini relativi (livello di bacino). Queste analisi sono state svolte su tutti i 105 siti in cui è stato effettuato il sopralluogo, per ottenere una definizione dello stato qualitativo dei corpi idrici in esame a prescindere dalle condizioni delle comunità macrobentoniche in esse viventi, basandosi sulla qualità dell'acqua, sulla funzionalità dell'ecosistema fluviale e sull'uso del suolo. Si è ottenuta così una pre-classificazione dei siti su base abiotica.

I tre passaggi sopra descritti hanno permesso di rendere meno soggettiva possibile la scelta delle stazioni di campionamento studiate nella fase successiva del lavoro. I risultati delle elaborazioni svolte per la selezione dei 15 siti definitivi vengono presentati nel capitolo dei “Risultati”. Nella tabella 4 è riportata la lista con le coordinate dei siti selezionati, la cui localizzazione geografica è già stata presentata in figura 2.

Tabella 4. Lista dei siti studiati nella messa a punto del metodo di valutazione (in corsivo i siti scelti come riferimento)

Table 4. List of sites studied for the assessment method definition (reference sites in italics)

Codice	Corso d'acqua	Località	Coordinate N	Coordinate E
VA28	<i>Vaccina</i>	<i>Bracciano</i>	42° 01' 15.72"	12° 07' 48.47"
VI46	<i>Vicarello</i>	<i>Vicarello</i>	42° 09' 57.54"	12° 12' 22.32"
CR5	<i>Cremera</i>	<i>Sorbo</i>	42° 06' 15.51"	12° 23' 59.93"
SM25	San Martino	Capena	42° 10' 43.98"	12° 31' 40.36"
TO2	Torraccia	Riano	42° 04' 54.03"	12° 28' 28.48"
CR6	Cremera	Formello	42° 05' 15.46"	12° 23' 32.63"
AR27	Arrone	Galeria	42° 01' 31.27"	12° 17' 59.17"
TO4	Torraccia	Pietra Pertusa	42° 02' 33.55"	12° 28' 59.18"
MF11	Malafede	Trigoria	41° 43' 46.07"	12° 28' 08.72"
VA29	Vaccina	Ladispoli	41° 57' 44.57"	12° 04' 16.10"
MF12	Malafede	Vitinia	41° 47' 14.70"	12° 24' 12.35"
TO9	Prima Porta	Prima Porta	42° 00' 41.87"	12° 28' 18.01"
CZ86	Crescenza	Flaminia	41° 57' 13.93"	12° 29' 16.90"
TS30	Tor Sapienza	Tor Cervara	41° 54' 36.11"	12° 35' 48.03"
VN38	Vallerano_A.	Acquacetosa	41° 47' 57.99"	12° 29' 57.21"

In generale è possibile descrivere 5 gruppi di siti in base al grado di urbanizzazione del contesto in cui sono inseriti:

- VI46, CR5 e VA28 sono i siti di riferimento, individuati con il passaggio 2;
- i siti TO2, SM25 e CR6 si trovano in ambienti relativamente integri, con prevalenza di boschi in una fascia di 200x1000 m a monte del fiume, ma dove comunque sono presenti tracce, anche significative, di uso agricolo del territorio;
- i siti AR27, MF11 e TO4 sono localizzati in territori misti tra zone naturali e aree coltivate, dove sono presenti abitazioni sparse, strade e altre strutture artificiali;
- i siti VA29, MF12 e TO9 ricadono in zone agricole tra le quali è presente una lieve urbanizzazione del territorio, con piccoli nuclei abitativi e un gran numero di strade e altri manufatti umani;
- i siti VN39, CZ86 e TS30 si trovano infine in pieno contesto urbano, con più o meno forte impermeabilizzazione del suolo per la presenza di strade ed edifici.

2.2 Analisi fisico-chimiche, chimiche, microbiologiche ed applicazione dell'indice LIM

2.2.1 Analisi fisico-chimiche e chimiche

Le analisi chimiche e fisico-chimiche sono state svolte sia in coincidenza dei campionamenti d'indagine effettuati nei 105 su cui è stato effettuato il sopralluogo (primavera 2007), sia nelle tre stagioni di campionamento successive (autunno 2007, inverno 2008 e primavera 2008) per l'interpretazione delle analisi biologiche svolte sui 15 siti selezionati. Misurazioni di pH, Conducibilità, Temperatura ed Ossigeno disciolto sono state effettuate sul campo utilizzando sonde portatili della ditta WTW. I campioni d'acqua sono stati prelevati secondo le norme standard contenute nel protocollo APAT (2007) per il campionamento delle acque correnti, conservati in frigorifero a +4°C, e trasportati in laboratorio. Quindi, il giorno stesso, sono state svolte analisi per determinare le seguenti concentrazioni:

- Fosfati: in presenza di ioni molibdato in soluzione solforica, gli ioni ortofosfato formano acido fosfomolibdico. Quest'ultimo viene ridotto con acido ascorbico a blu di fosfomolibdeno, la cui concentrazione viene determinata fotometricamente alla lunghezza d'onda di 710 nm. La tecnica di determinazione utilizzata è conforme allo standard internazionale (ISO 6878: 2004).
- Nitrati: i nitrati, in presenza di cloruro in soluzione di acido solforico fortemente acida, formano con resorcina un colorante indofenolico violetto rosso, il quale viene determinato fotometricamente alla lunghezza d'onda di 505 nm. La tecnica di determinazione utilizzata è conforme allo standard internazionale (ISO 7890-1: 1986).
- COD: la COD (domanda chimica di ossigeno) corrisponde alla quantità d'ossigeno proveniente da bicromato potassico, la quale reagisce sulle condizioni del procedimento specificato con le sostanze ossidabili contenute in un litro di campione d'acqua. Il campione 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 a 348 nm la concentrazione degli ioni cromato gialli non consumati. La tecnica di determinazione utilizzata è conforme allo standard internazionale (ISO 15705: 2002)
- BOD5: la BOD5 (domanda biologica di ossigeno a 5 giorni) misura la frazione di ossigeno disciolto (in 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 stesso di campionamento dell'acqua, utilizzando il sistema Oxitop della ditta WTW, basato sulla misura di variazione di pressione effettuata attraverso l'uso di un sensore elettronico di pressione. La tecnica di determinazione utilizzata è conforme allo standard internazionale (ISO 5815-1: 2003).

2.2.2 *Analisi microbiologiche*

Le analisi microbiologiche sono state svolte in contemporanea con le analisi fisico-chimiche e chimiche. Per la definizione della qualità delle acque dal punto di vista microbiologico è stata ricercata la presenza di *Escherichia coli*, microrganismo indicatore di contaminazione fecale, unico indicatore microbiologico previsto nella normativa nazionale in vigore fino alla completa attuazione della Direttiva 2000/60/CE (D.Lg 152/99; Italia, 1999). I campioni d'acqua sono stati prelevati in contenitori sterili (Falcon 250 mL), conservati in un frigorifero portatile alla temperatura di $\pm 4^{\circ}\text{C}$ e trasportati in laboratorio. L'analisi è stata effettuata nelle 24 ore successive alla raccolta. L'isolamento di *Escherichia coli* è stato eseguito utilizzando il metodo delle membrane filtranti (MF) (APHA, 1998). Il terreno di coltura utilizzato, il TBX (Tryptone, Bile salts, agar, X-Glu), viene preparato seguendo le istruzioni della ditta produttrice, sterilizzato in autoclave 121°C per 15 min e distribuito in piastre Petri (Falcon sterili da 6 mL). Di ogni campione d'acqua si eseguono 3 diluizioni seriali 1:10 utilizzando come diluente acqua fisiologica sterile tamponata (K_2HPO_4 3 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, NaCl 8,5 g/L; pH $7,2 \pm 0,2$). 10 mL di ogni diluizione sono filtrati con una pompa ad acqua su filtri $0,45 \mu\text{m}$ di nitrocellulosa. Ogni filtro è stato posto su una piastra che contiene il terreno selettivo ed incubato in un termostato alla temperatura di $44 \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ore. Dopo l'incubazione le colonie caratterizzate da una colorazione blu-verde, sono contate ed i risultati espressi in "Unità Formanti Colonia" in 100 mL (UFC/100mL). La colorazione delle colonie è dovuta alla capacità enzimatica di *E. coli*: avviene una reazione idrolitica ad opera dell'enzima β -glucuronidasi e il cromogeno 5-Br-4-Cl-3-indolil- β -Dglucuronide (X-Gluc) presente nel terreno. Ogni operazione deve essere condotta in condizioni di sterilità: per tutte le operazioni all'aria si è utilizzato il becco Bunsen; tutte le altre operazioni vengono condotte sotto cappa microbiologica (cappa a flusso laminare, Biohazard AURA B3).

2.2.3 Applicazione dell'indice LIM (Livello di Inquinamento da Macrodescrittori)

L'indice LIM, Livello di Inquinamento dei Macrodescrittori, fornisce un giudizio, in termini di qualità, sullo stato delle acque. Prende infatti in esame le concentrazioni nelle acque dei principali parametri, denominati macrodescrittori, per la caratterizzazione dello stato di inquinamento: nutrienti, sostanze organiche biodegradabili, ossigeno disciolto, inquinamento microbiologico. Questo indice è citato dalla normativa in materia di acque vigente in Italia fino alla completa attuazione della Direttiva 2000/60/CE (D.Lgs. 152/99; Italia, 1999). Questo metodo di classificazione è in fase di revisione dopo l'emanazione della Direttiva 2000/60/CE, che considera prioritari i parametri biologici. Il calcolo dell'indice LIM, Livello di Inquinamento da Macrodescrittori, viene effettuato in base ai limiti di concentrazione riportati nella tabella 5:

Tabella 5. Limiti di concentrazione per il calcolo dell'indice LIM
Table 5. Concentration limits for the application of the LIM index

Parametro		livello 1	Livello 2	livello 3	livello 4	livello 5
%satur. O ₂		> = 50	< = 50	< = 30	< = 20	< 10
BOD ₅	mg/mL	< 2,5	< = 4	< = 8	< = 15	> 15
COD	mg/mL	< 5	< = 10	< = 15	< = 25	> 25
NH ₄	mg/mL	< 0,03	< = 0,10	< = 0,50	< = 1,5	> 1,5
NO ₃	mg/mL	< 0,3	< = 1,5	< = 5	< = 10	> 10
P tot	mg/mL	< 0,07	< = 0,15	< = 0,3	< = 0,6	> 0,6
<i>E.coli</i>	UFC/100mL	<100	< = 1000	< = 5000	< = 20000	> 20000
Punteggio		80	40	20	10	5
LIM		480-560	240-475	120-235	60-115	< 60

2.3 Valutazione della Funzionalità Fluviale (indice IFF)

Con l'espressione "funzionalità fluviale" ci si riferisce ad una caratterizzazione degli ecosistemi acquatici quali sistemi complessi, descrivibili cioè attraverso un insieme di fattori biotici ed abiotici presenti sia nell'ecosistema acquatico, sia in quello terrestre ad esso collegato. La funzionalità di un fiume non riflette tanto la sua naturalità, quanto piuttosto un vasto insieme di fattori, quali l'efficienza degli scambi energetici tra le varie componenti dell'ecosistema, il grado di diversità ambientale, e quindi la presenza di numerosi microhabitat, la struttura della comunità dei macroinvertebrati e delle macrofite presenti nel fiume, l'efficienza del processo di demolizione del detrito.

L' I.F.F. deriva concettualmente dall'RCE-I (*Riparian Channel Environmental Inventory*) ideato, nei primi anni novanta (Petersen, 1992), con l'intento di redigere un inventario delle

caratteristiche ecologiche dei fiumi svedesi. Dopo una sperimentazione iniziale, il metodo è stato modificato e adattato alla realtà italiana, diventando prima RCE-II e successivamente IFF (Siligardi et al., 2000), ponendo l'accento sul significato funzionale delle caratteristiche rilevate. Nel 2007 è stata pubblicata una nuova versione dell'indice IFF (Siligardi et al., 2007), con un occhio particolare alle zone umide fluviali e alla possibilità di applicazione su un vasto spettro di tipologie fluviali. La struttura generale del metodo è sostanzialmente rimasta inalterata, con un lavoro di semplificazione e di puntualizzazione su alcuni aspetti concettuali e metodologici.

Dopo uno studio preliminare dell'area del punto di campionamento prescelto, lungo l'asta fluviale vengono individuati tratti omogenei dal punto di vista fisico-morfologico, percorrendo il corso d'acqua in direzione della sorgente. Per evitare di considerare come omogenei tratti troppo brevi, per convenzione viene utilizzato come tratto minimo rilevabile (TMR) una unità di lunghezza stabilita in base alla larghezza dell'alveo di morbida in un rapporto tra 1:10 e 1:20.

Per ogni tratto va compilato un questionario (scheda IFF, figure 3 e 4) composto da 14 domande, per ognuna delle quali sono previste quattro risposte predefinite, alle quali sono assegnati punteggi opportunamente pesati (minimo 1, massimo 15, 20, 25 o 40) che esprimono le differenze funzionali delle singole risposte. Le domande riguardano le principali caratteristiche ecologiche di un ecosistema fluviale e sono organizzate in diversi gruppi funzionali. In particolare, la scheda permette di prendere in considerazione i seguenti aspetti:

- lo stato del territorio circostante il corso d'acqua e la composizione, l'ampiezza e la continuità della vegetazione ripariale (domande 1-4), per le informazioni che questi elementi forniscono circa la funzionalità della fascia tampone (rimozione dei nutrienti e filtro per sedimenti), il consolidamento delle sponde e la protezione dalle alluvioni, l'apporto trofico (foglie e rami), la regolazione della temperatura (ombreggiamento), la presenza di habitat lungo il corridoio fluviale;
- l'ampiezza dell'alveo bagnato relativamente all'alveo di morbida e la possibilità di esondazione dell'acqua del fiume, per le informazioni che esse forniscono sulle caratteristiche idrauliche del fiume (domande 5-6);
- la struttura dell'alveo, con l'individuazione delle condizioni che favoriscono la diversità ambientale, la capacità di autodepurazione, la creazione di habitat per la fauna ittica (a livello di macroscala) e bentonica (domande 7-11);
- le caratteristiche biologiche del fiume, attraverso l'analisi strutturale delle comunità macrobentonica e macrofitica e della composizione del detrito (domande 12-14).

1) Stato del territorio circostante	Riva dx.	Riva sin.
a) Assenza di antropizzazione	25	25
b) Compresenza di aree naturali e usi antropici del territorio	20	20
c) Colture stagionali e/o permanenti; urbanizzazione rada	5	5
d) Aree urbanizzate	1	1
2) Vegetazione presente nella fascia perifluviale primaria		
a) Compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	40	40
b) Presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni riparie	25	25
c) Assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	10	10
d) Assenza di formazioni a funzionalità significativa	1	1
2bis) Vegetazione presente nella fascia perifluviale secondaria		
a) Compresenza di formazioni riparie complementari funzionali	20	20
b) Presenza di una sola o di una serie semplificata di formazioni comunque funzionali	10	10
c) Assenza di formazioni riparie ma presenza di formazioni comunque funzionali	5	5
d) Assenza di formazioni a funzionalità significativa	1	1
3) Ampiezza delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale		
a) Ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali maggiore di 30 m	15	15
b) Ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 30 e 10 m	10	10
c) Ampiezza cumulativa delle formazioni funzionali compresa tra 10 e 2 m	5	5
d) Assenza di formazioni funzionali	1	1
4) Continuità delle formazioni funzionali presenti in fascia perifluviale		
a) Sviluppo delle formazioni funzionali senza interruzioni	15	15
b) Sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni	10	10
c) Sviluppo delle formazioni funzionali con interruzioni frequenti o solo erbacea continua consolidata o solo arbusteti a dominanza di esotiche e infestanti	5	5
d) Suolo nudo, popolamenti vegetali radi	1	1
5) Condizioni idriche		
a) Regime perenne con portate indisturbate e larghezza dell'alveo bagnato > 1/3 dell'alveo di morbida	20	
b) Fluttuazioni di portata indotte di lungo periodo con ampiezza dell'alveo bagnato < 1/3 dell'alveo di morbida o variazione del solo tirante idraulico	10	
c) Disturbi di portata frequenti o secche naturali stagionali non prolungate o portate costanti indotte	5	
d) Disturbi di portata intensi, molto frequenti o improvvisi o secche prolungate indotte per azione antropica	1	
6) Efficienza di esondazione		
a) Tratto non arginato, alveo di piena ordinaria superiore al triplo dell'alveo di morbida	25	
b) Alveo di piena ordinaria largo tra 2 e 3 volte l'alveo di morbida(o, se arginato, superiore al triplo)	15	
c) Alveo di piena ordinaria largo tra 1 e 2 volte l'alveo di morbida(o, se arginato, largo 2-3 volte)	5	
d) Trattati di valli a V con forte acclività dei versanti e tratti arginati con alveo di piena ordinaria < di 2 volte l'alveo di morbida	1	

Figura 3. Scheda per l'applicazione dell'IFF, domande 1-6
Figure 3. IFF application form, questions 1-6

7) Substrato dell'alveo e strutture di ritenzione degli apporti trofici		
a) Alveo con massi e/o vecchi tronchi stabilmente incassati(o presenza di fasce di canneto o idrofite).	25	
b) Massi e/o rami presenti con deposito di materia organica(o canneto o idrofite rade e poco estese)	15	
c) Strutture di ritenzione libere e mobili con le piene (o assenza di canneto e idrofite)	5	
d) Alveo di sedimenti sabbiosi o sagomature artificiali lisce a corrente uniforme	1	
8) Erosione		
a) Poco evidente e non rilevante o solamente nelle curve	20	20
b) Presente sui rettilinei e/ o modesta incisione verticale	15	15
c) Frequente con scavo delle rive e delle radici e/ o evidente incisione verticale	5	5
d) Molto evidente con rive scavate e franate o presenza di interventi artificiali	1	1
9) Sezione trasversale		
a) Alveo integro con alta diversità morfologica	20	
b) Presenza di lievi interventi artificiali ma con discreta diversità morfologica	15	
c) Presenza di interventi artificiali o con scarsa diversità morfologica	5	
d) Artificiale o diversità morfologica quasi nulla	1	
10) Idoneità ittica		
a) Elevata	25	
b) Buona o discreta	20	
c) Poco sufficiente	5	
d) Assente o scarsa	1	
11) Idromorfologia		
a) Elementi idromorfologici ben distinti con successione regolare	20	
b) Elementi idromorfologici ben distinti con successione irregolare	15	
c) Elementi idromorfologici indistinti o preponderanza di un solo tipo	5	
d) Elementi idromorfologici non distinguibili	1	
12) Componente vegetale in alveo bagnato		
a) Periphyton sottile e scarsa copertura di macrofite tolleranti	15	
b) Film perifitico tridimensionale apprezzabile e scarsa copertura di macrofite tolleranti	10	
c) Periphyton discreto o(se con significativa copertura di macrofite tolleranti) da assente a discreto	5	
d) Periphyton spesso e/ o elevata copertura di macrofite tolleranti	1	
13) Detrito		
a) Frammenti vegetali riconoscibili e fibrosi	15	
b) Frammenti vegetali fibrosi e polposi	10	
c) Frammenti polposi	5	
d) Detrito anaerobico	1	
14) Comunità macrobentonica		
a) Ben strutturata e diversificata, adeguata alla tipologia fluviale	20	
b) Sufficientemente diversificata ma con struttura alterata rispetto all' atteso	10	
c) Poco equilibrata e diversificata con prevalenza di taxa tolleranti l'inquinamento	5	
d) Assenza di una comunità strutturata; presenza di pochi taxa, tutti piuttosto tolleranti all'inquinamento	1	
Punteggio totale		
Livello di funzionalità		

Figura 4. Scheda per l'applicazione dell'IFF, domande 7-14
Figure 4. IFF application form, questions 7-14

Il punteggio finale si ottiene dalla somma dei pesi corrispondenti alle risposte individuate con un punteggio che va da 14 (valore minimo) a 300 (valore massimo). Il valore di IFF viene infine

tradotto in cinque livelli di funzionalità (da I a V), con possibili situazioni intermedie che consentono il passaggio graduale da una classe alla successiva. Ad ogni classe viene inoltre associato un colore convenzionale per la rappresentazione cartografica (tabella 6).

Tabella 6. Conversione dei valori di IFF in classi di funzionalità (modificato da Siligardi et al., 2007)
Table 6. Conversion of IFF values in functionality classes (modified from Siligardi et al., 2007)

Valore di I.F.F.	Classe di funzionalità	Giudizio di funzionalità	Colore
261 – 300	I	Ottimo	blu
251 – 260	I-II	Ottimo-buono	blu-verde
201 – 250	II	Buono	verde
181 – 200	II-III	Buono-mediocre	verde-giallo
121 – 180	III	Mediocre	giallo
101 – 120	III-IV	Mediocre-scadente	giallo-arancio
61 – 100	IV	Scadente	arancio
51 – 60	IV-V	Scadente-pessimo	arancio-rosso
14 – 50	V	Pessimo	rosso

Per gli scopi di questo studio, il valore IFF considerato è stato il minore tra i due ottenuti per ciascuna delle due sponde, per ottenere un unico valore riferibile all'intero tratto fluviale.

2.4 Uso del suolo (indice LUI, *Land Use Index*)

I dati relativi alla tipologia d'uso del suolo e alle percentuali di copertura dei sottobacini sottesi alle diverse stazioni di campionamento sono stati ottenuti dal pacchetto GIS CORINE Land Cover 2000, incrociando i *layer* (livelli tematici contenenti una certa categoria di informazione) relativi all'uso del suolo nella regione Lazio con *layer* appositamente disegnati con i sottobacini d'interesse. Per quantificare l'influenza dell'uso antropico del territorio sul tratto fluviale è stato applicato l'indice LUI (Land Use Index; Statistisches Bundesamt, 1997), un indice il cui valore si ottiene applicando la formula:

$$\text{Land Use Index} = 4x \% \text{ aree urbane} + 2x \% \text{ aree agricole} + \% \text{ aree a pascolo}$$

Più elevato è il valore dell'indice, maggiore è l'impatto del cambiamento d'uso del suolo su una dato tratto fluviale posto a chiusura del sottobacino considerato.

2.5 Campionamento e identificazione dei macroinvertebrati bentonici

2.5.1 Protocollo utilizzato nei campionamenti d'indagine

Il campionamento dei macroinvertebrati nella prima stagione di campo su 105 siti è stato svolto con la tecnica del *kick-sampling* lungo un transetto obliquo utilizzando un retino immanicato di dimensioni standard (25 x 40 cm e 20 maglie per centimetro), secondo il protocollo riportato in Ghetti, 1997. Il retino è stato posizionato sul fondo dell'alveo con l'apertura rivolta contro corrente, affinché vi si raccogliesse il materiale smosso dal fondo con i piedi. Dove possibile si è avuta cura di pulire con le mani i ciottoli presenti al fine di raccogliere più accuratamente possibili organismi ad essi aderenti. Il materiale raccolto è stato riversato in secchielli di plastica con etanolo all' 85% e portato in laboratorio per lo smistamento e l'identificazione tassonomica. I campioni sono stati passati al setaccio per eliminare i sedimenti e detriti più fini, avendo cura di pulire foglie e materiale inorganico più grossolano da eventuali organismi. Il materiale raccolto in una vaschetta bianca è stato analizzato dispensandone piccole quantità in un'altra vaschetta, affinché i macroinvertebrati fossero più facilmente visibili. Gli organismi, raccolti con l'uso di pinzette entomologiche, sono stati riconosciuti al livello tassonomico di genere o famiglia (secondo quanto riportato in Ghetti, 1997). L'attività di identificazione è stata effettuata utilizzando uno stereoscopio a 7-40 ingrandimenti e un microscopio ottico a 100-400 ingrandimenti, con l'ausilio di apposite guide (Sansoni, 1988, Campaioli et al., 1994; Tachet et al., 1991; Argano, 1979; Belfiore, 1983; Castagnolo, 1980; Consiglio, 1980; Moretti, 1983).

2.5.2 Tecnica di campionamento per la raccolta di dati quantitativi

Per il campionamento dei macroinvertebrati sui 15 siti prescelti per la messa a punto del metodo e di valutazione è stato seguito il protocollo pubblicato dall'APAT - Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici (ora Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale - ISPRA) nel "Protocollo di campionamento dei macroinvertebrati bentonici dei corsi d'acqua guadabili" (APAT, 2007), recepito a livello nazionale italiano con il Decreto Ministeriale 56/2009 (Italia, 2009). Questo protocollo deriva direttamente da quello presentato da Buffagni & Erba (2007a) in una pubblicazione dell'IRSA-CNR, che riprende il metodo standardizzato per il progetto AQEM (AQEM consortium, 2002). Tutte queste metodiche si basano sulla combinazione dei *Rapid Bioassessment Protocols* (Barbour et al., 1999), delle procedure dell'*Environment Agency* (1999), delle linee guida austriache *Saprobiology* (Moog et al., 1999) e dell'ISO 7828 (1985).

Il metodo, detto “multihabitat proporzionale”, prevede il campionamento degli organismi dei microhabitat maggiormente presenti nel tratto di corso d’acqua campionato, in proporzione alla loro estensione. Per microhabitat si intende un tipo di substrato, biotico o minerale (tabella 7), con caratteristiche peculiari tali da giustificare la presenza di specifici taxa macrobentonici e non di altri. Scopi di questa metodica sono in primo luogo la raccolta di campioni standard significativamente rappresentativi del sito che si vuole studiare, ottenuti tramite la proporzionalità con la copertura dei microhabitat, ed in secondo luogo ottenere campioni di tipo quantitativo, utili per poter indagare i diversi aspetti delle comunità macrobentoniche; questo secondo scopo è assicurato dalla definizione di un’area di campionamento costante. Un campione consiste dell’insieme di 10 “unità di campionamento” raccolte da tutti i microhabitat che nel sito di campionamento costituiscono almeno il 10% del substrato del corso d’acqua (1 unità di campionamento per ogni 10% di superficie rappresentata). Una unità di campionamento è un campione ottenuto posizionando lo strumento di campionamento (la rete *surber*, figura 8) sul substrato e smuovendo quest’ultimo con le mani, spazzando un’area definita, che può essere o meno delimitata da un telaio in dotazione alla rete.



Figura 8. Rete *surber* con telaio anteriore delimitante 0,05 m²
Figure 8. Surber net with 0.05 m² sampling area

Alla fine della procedura, il campione totale è costituito da quanto raccolto su un'area pari a 10 volte l'area delimitata dal telaio; la rete *surber* utilizzata in questo studio presenta un telaio anteriore di 1/20 di metro quadrato, per un'area totale campionata di 0,5 m². La tela della rete utilizzata presenta una densità di 20 maglie/cm.

Nel dettaglio, la procedura di campionamento multihabitat-proporzionale prevede:

- compilazione di un foglio di campo contenente informazioni sulle caratteristiche del sito;
- registrazione di tutti i microhabitat presenti (la lista completa dei microhabitat rivelabili è riportata in tabella 7);
- determinazione, con un esame visivo senza compiere misure strumentali, delle percentuali di copertura che ciascun microhabitat individuato ha sul totale dell'area considerata;
- per ogni 10% di copertura dell'area totale, assegnazione di una unità di campionamento al microhabitat. Microhabitat con percentuali di copertura inferiori al 10% non vengono campionati (alcune eccezioni sono spiegate in APAT, 2008);
- campionamento delle 10 unità stabilite procedendo da valle verso monte per non disturbare gli animali;
- travaso del contenuto della rete in un altro contenitore e pulitura della rete ogni 2-3 applicazioni dello strumento, per assicurarne l'efficienza;
- in tipi fluviali in cui i mesohabitat del raschio e della pozza (rispettivamente, zone del fiume in cui l'acqua scorre più velocemente o più lentamente, *riffle* e *pool* con terminologia anglosassone) sono chiaramente distinguibili, le relative comunità possono essere differenti, il che giustifica il mantenimento e il trattamento separato delle unità raccolte. Nel tipo fluviale esaminato in questo studio le caratteristiche del raschio e della pozza non giustificano, almeno ai fini della classificazione, una trattazione separata, e il mesohabitat campionato è stato indicato come "generico" (come anche suggerito sul DM 131/09; Italia, 2009).

I campioni così raccolti sono stati travasati in sacchetti di plastica e fissati con alcool etilico all'80% e conservati in frigorifero a +4°C per impedirne il deterioramento. In laboratorio l'alcool è stato rimosso e gli animali, trasferiti in vaschette con acqua pulita, sono stati smistati, cioè separati dal substrato, utilizzando delle pinzette; quindi tutti gli organismi sono stati fissati in alcool etilico all'80%. Per l'identificazione si è proceduto nel modo già descritto per i campionamenti d'indagine, con la differenza che in questo caso tutti gli individui sono stati contati per poter disporre di dati di tipo quantitativo. Gli organismi raccolti sono stati riconosciuti al livello tassonomico di famiglia, genere o specie, scelta condivisa con diversi studi simili in Europa meridionale (Hering et al., 2004).

Tabella 7. Lista e descrizione dei principali microhabitat rinvenibili nei fiumi italiani.
Table 7. List and description of principal microhabitats detectable in Italian watercourses

Microhabitat	Codice	Descrizione
<i>Microhabitat minerali</i>		
Limo/Argilla (< 6 µm)	ARG	Substrati limosi, anche con importante componente organica, e/o substrati argillosi composti da materiale di granulometria molto fine che rende le particelle che lo compongono adesive, compattando il sedimento che arriva talvolta a formare una superficie solida
Sabbia (6 µm – 2 mm)	SAB	Sabbia fine e grossolana
Ghiaia (0,2 – 2 cm)	GHI	Ghiaia e sabbia molto grossolana (con predominanza di ghiaia)
Microlithal (2 – 6 cm)	MIC	Pietre piccole
Mesolithal (6 – 20 cm)	MES	Pietre di medie dimensioni
Macrolithal (20 – 40 cm)	MAC	Pietre grossolane della dimensione massima di un pallone da rugby
Megalithal (> 40 cm)	MGL	Pietre di grosse dimensioni, massi, substrati rocciosi di cui viene campionata solo la superficie
Artificiale	ART	Calcestruzzo e tutti i substrati solidi non granulari immessi artificialmente nel fiume
Igropetrico	IGR	Sottile strato d'acqua su substrato solido, spesso ricoperto da muschi
<i>Microhabitat biotici</i>		
Alghe	AL	Principalmente alghe filamentose; anche diatomee o altre alghe in grado di formare spessi feltri perifitici
Macrofite sommerse	SO	Macrofite acquatiche sommerse. Sono da includere nella categoria anche muschi, Characeae, ecc.
Macrofite emergenti	EM	Macrofite emergenti radicate in alveo (ad es., <i>Thypha</i> , <i>Carex</i> , <i>Phragmites</i>)
Parti vive di piante terrestri	TP	Radici flottanti di vegetazione riparia, non lignificate
Pezzi di legno	XY	Materiale legnoso grossolano (rami, radici), legno morto, parti di corteccia
CPOM	CP	Deposito di materiale organico particellato grossolano (foglie, rametti)
FPOM	FP	Deposito di materiale organico particellato fine
Film batterici	BA	Funghi e sapropel (<i>Sphaerotilus</i> , <i>Leptomitus</i>), solfobatteri (<i>Beggiatoa</i> , <i>Thiothrix</i>)

2.6 Campionamento e identificazione dei Simulidi

Il campionamento delle larve di Simulidi è stato effettuato prevalentemente nella stagione primaverile, quando le larve, che alle basse temperature invernali rimangono allo stato quiescente senza nutrirsi, con l'aumento della temperatura raggiungono rapidamente l'ultimo stadio larvale e lo stadio ninfale, stadi nei quali i Simulidi sono assai più facilmente identificabili. Solo per le stazioni dei fiumi Simbrivio, Licenza e Aniene il campionamento è stato bimensile per un intero anno. Si è proceduto prelevando indicativamente, quando presenti, circa 40 individui da un tratto di 30 metri del corso d'acqua, raccogliendo gli organismi in maniera tale da diversificare il più possibile la tipologia di substrato e tenendo conto delle

caratteristiche di reofilia delle larve dei Simulidi e la loro necessità d'aderire a superficie levigate e libere da alghe. Dalle pietre asportabili e dalla vegetazione le larve sono state prelevate con pinzette entomologiche; dai massi e da altri substrati non asportabili si è utilizzato un retino posto subito a valle del punto in cui il substrato veniva smosso con le mani. Alle operazioni di raccolta si è cercato di dedicare non più di venti minuti a stazione per uniformare lo sforzo di campionamento. Le larve così ottenute sono state conservate in soluzione acquosa d'etanolo all'85%. La raccolta delle pupe, per ottenere gli adulti da sfarfallamento in laboratorio, è stata effettuata sempre a mano, ricercando substrati preferibilmente semplici da trasportare (ciottoli, foglie, rami, oggetti levigati, come eventuali manufatti in plastica) su cui fossero presenti pupe. Questi substrati, una volta rimosse le larve (perché morendo imputridiscono rapidamente e disturbano lo sviluppo delle pupe) sono stati inseriti in buste di plastica che si è proceduto a gonfiare d'aria e chiudere ermeticamente. Durante questo passaggio si è cercato di evitare che nelle buste si venissero a trovare accumuli d'acqua, in quanto per lo sfarfallamento degli adulti in queste condizioni è sufficiente garantire un ambiente saturo di umidità, mentre la presenza di acqua non ossigenata soffoca le ninfe. Le buste, trasportate in laboratorio in frigoriferi portatili, sono state tenute in ambienti freschi e non esposte al sole per i 3-4 giorni necessari allo sfarfallamento di tutti gli individui. Gli adulti così ottenuti sono stati sacrificati con esposizione ad etere dietilico, per la successiva osservazione diretta allo stereomicroscopio o preparazione per il microscopio ottico. L'esposizione all'etere di etilico e le successive operazioni di preparazione sono state effettuate sotto cappa per la pericolosità e volatilità dei composti utilizzati.

La preparazione dei vetrini per l'identificazione ha previsto sia per le larve, sia per le pupe, sia per gli adulti, un pretrattamento di circa 12 ore con immersione in clorallattofenolo, necessaria per ammorbidire i tessuti e rendere più semplice la dissezione. Si è quindi proceduto sistemando il campione su un vetrino portaoggetto per poterlo dissezionare osservandolo allo stereomicroscopio. Da ciascuna larva, preferibilmente almeno al IV stadio di sviluppo, sono stati isolati, con aghi e lancette entomologiche, il capo, il disco basale e, quando già presenti, gli abbozzi dei filamenti respiratori. E' stato quindi sezionato il capo, con forbicine da oculista, lungo un piano orizzontale, separando il frontoclipeo con le appendici boccali dalla metà ventrale con il labium. Quindi sono state isolate le mandibole dalla parte dorsale e sono stati asportati i primi due scleriti del labium per rendere ben visibile il submentum. Sono state osservate soprattutto la disposizione e l'intensità delle macchie del frontoclipeo, la forma e la dimensione dell'incavatura ventrale del capo, la dentellatura del submentum e la distanza tra la base del submentum e l'incavatura ventrale. Della pupa sono stati principalmente osservati i

filamenti respiratori. Dagli adulti sono stati isolati i terminali e l'armatura genitale. Quelli della femmina possono essere osservati in toto, quelli del maschio devono essere dissezionati per poter osservare: gonostili, gonocoxiti, parameri, gonofurca e gonosterno. Tutti i pezzi, per larve, pupe e adulti, sono stati montati su vetrini con l'ausilio di una resina (liquido di Faure) per l'osservazione al microscopio ottico e la conservazione a tempo indefinito. L'identificazione è stata effettuata utilizzando le chiavi analitiche riportate in Rivosecchi (1978) e Rivosecchi et al. (2007). In figura 9 sono riportati tutti i caratteri che vengono generalmente utilizzati per la diagnosi. Il riquadro "a" si riferisce alla larva e mostra: la larva completa (1), l'incavatura ventrale del capo (2), la distanza tra l'incavatura e il margine posteriore del submentum (3), il submentum (4), i peli del margine del submentum (5), il frontoclipeo (6), un esempio dell'abbozzo dei filamenti respiratori nel sottogenere *Eusimulium* (7), il processo tp della mandibola (8), le branchie rettali (9), il disco adesivo e papille rettali (10), un esempio dell'abbozzo dei filamenti respiratori nel sottogenere *Wilhelmia* (11), un esempio di tubercoli in *S. maculatum* (12). Il riquadro "b" si riferisce alla pupa e mostra: la pupa nel bozzolo (1), i filamenti respiratori (2), i tronchi basali dei filamenti (3), la tessitura del bozzolo (4), i tubercoli del segmento del capo (5), gli uncini addominali (6). Il riquadro "c" si riferisce ai terminali del maschio e mostra: il gonocoxite (1), il gonostilo (2), il gonosterno (3), la gonofurca (4), gli uncini pramerici (5) e il decimo tergite (6). Il riquadro "d" infine si riferisce ai terminali e alle zampe della femmina e mostra: il ramo centrale della gonofurca (1), il ramo laterale della gonofurca (2), le gonapofisi (3), l'unghia (4), il pedisculus (5), la calcipala (6) e i cerci (7).

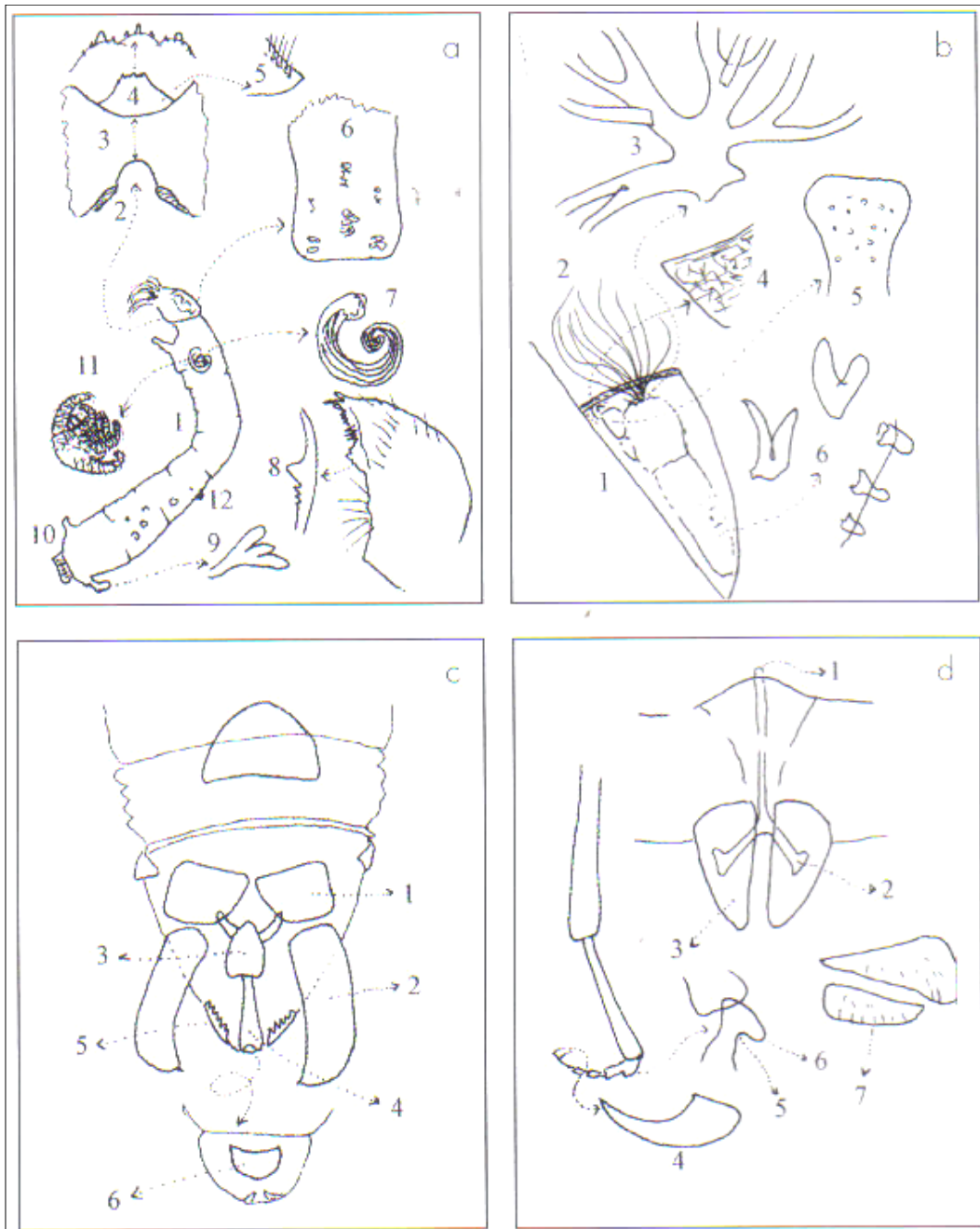


Figura 9. Caratteri considerati nell'identificazione a specie dei Simuliidae (spiegazione dei numeri nel testo; tratto da Rivosecchi et al., 2007).
Figure 9. Considered features in black fly species identification (from Rivosecchi et al., 2007)

2.7 Analisi statistica

2.7.1 Test t delle differenze tra dati indipendenti

Il test t delle differenze tra dati indipendenti si usa per confrontare due medie campionarie tra le quali non sia riconoscibile una qualche dipendenza. E' questo il caso in cui si voglia conoscere la significatività statistica della differenza tra due gruppi di siti di campionamento relativamente ai valori di una certa variabile. Il valore t viene calcolato con la formula:

$$t = (m_a - m_b) / \text{radq} \{ [(N_a + N_b) / (N_a * N_b)] * [(N_a - 1) * S_a^2 + (N_b - 1) * S_b^2] / (N_a + N_b - 2) \}$$

dove m_a e m_b sono rispettivamente le medie del campione a e del campione b

S_a e S_b sono rispettivamente le deviazioni standard del campione a e del campione b

N_a e N_b sono il numero di oggetti nei due campioni a e b

La distribuzione della variabile t è identica a quella del t di Student, per un numero di gradi di libertà pari a $N_a + N_b - 2$. L'applicazione di questo test è stata effettuata con il programma PAST (versione 1.91, maggio 2009; Hammer et al., 2001).

2.7.2 Analisi della Varianza a una via

L'Analisi della varianza a una via (ANOVA) è una tecnica di verifica d'ipotesi usata per confrontare le medie di 3 o più campioni utilizzando la cosiddetta distribuzione F (nel caso di due campioni il test banalizza corrispondendo ad un test t di Student). L'ipotesi nulla è che i campioni provengano dalla medesima popolazione. L'ANOVA permette di verificare se tra i diversi gruppi esiste differenza statisticamente significativa nell'insieme; per indagare invece a livello di quali gruppi in particolare si produce la significatività viene associato all'ANOVA il test di Tukey (o HSD di Tukey), grazie al quale è possibile individuare quali medie campionarie sono significativamente diverse l'una dall'altra. L'esecuzione dei test è stata effettuata con il programma PAST (versione 1.91, maggio 2009; Hammer et al., 2001).

2.7.3 Test di Friedman

Il test di Friedman è un test non parametrico corrispondente ad una Analisi della varianza a due vie effettuata per ranghi, utile per verificare la presenza di differenze statisticamente significative tra tre o più serie di misure ripetute. Il test può essere applicato sia a valori ordinali sia a valori intervallari. L'esecuzione del test prevede l'attribuzione dei ranghi per blocco (vale a dire riga per riga), per poi applicare la formula:

$$\chi^2 = \left[\frac{12}{n * k * (k+1)} * \sum_{j=1}^k (R_j)^2 \right] - 3n*(k+1)$$

dove n è il numero di righe (blocchi), k il numero di colonne (numero di volte in cui si è ripetuta la misura) ed R è la somma dei ranghi di ciascuna colonna. Come si evince dal termine sinistro della formula, il test fa riferimento ad una distribuzione assimilabile a quella del chi quadro, con un numero di gradi di libertà pari a k-1.

2.7.4 Coefficiente di correlazione “ρ” di Spearman

L'indice di correlazione ρ per ranghi di Spearman è una misura statistica non parametrica della correlazione e misura pertanto il grado di relazione tra due variabili per le quali non si fa altra ipotesi che non la misura ordinale ma possibilmente continua. Porta il nome dello psicologo Charles Spearman che lo ideò nel 1904 e viene indicata solitamente con la lettera greca ρ (rho). A livello pratico il coefficiente ρ_s è semplicemente un caso particolare del coefficiente di correlazione di Pearson dove i valori vengono convertiti in ranghi prima di calcolare il coefficiente:

$$\rho_s = \frac{\sum_i (r_i - \bar{r})(s_i - \bar{s})}{\sqrt{\sum_i (r_i - \bar{r})^2} \sqrt{\sum_i (s_i - \bar{s})^2}}$$

essendo r_i e s_i rispettivamente il rango della prima variabile e della seconda variabile della i-esima osservazione, e “r barrato” e “s barrato” le rispettive medie campionarie. La formula si complica in presenza di valori identici, ma gli effetti di questi possono essere ignorati se non sono frequenti rispetto alla numerosità campionaria N.

Per verificare l'ipotesi che ρ_s è significativamente diverso da zero (test di significatività statistica del ρ di Spearman), il valore osservato di ρ_s può essere confrontato con l'apposita variabile casuale di Spearman anche consultando le apposite tavole pubblicate per differenti percentuali di significatività. Nel caso di numerosità campionaria sufficientemente grande (orientativamente N > 20) si può far ricorso alla variabile casuale t di Student (con n-2 gradi di libertà) trasformando opportunamente il valore ρ_s

$$t = \frac{\rho_s}{\sqrt{(1 - \rho_s^2)/(n - 2)}}$$

Il calcolo di questo coefficiente ed il test di significatività sono stati svolti con il programma PAST (versione 1.91, maggio 2009; Hammer et al., 2001).

2.7.5 Classificazione o “cluster analysis”

Il raggruppamento dei siti in base ai valori delle variabili ambientali è stato analizzato 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. L'indice utilizzato per la misura delle distanze tra i siti e la costruzione dell'albero di classificazione è la distanza euclidea.

Per effettuare questa analisi è stato utilizzato il programma di statistica PAST (versione 1.91, maggio 2009; Hammer et al., 2001).

2.7.6 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). Essa opera una rotazione rigida degli assi dello spazio multidimensionale dei dati in modo tale da orientarli in maniera coerente con i pattern di dispersione dei dati stessi. Le nuove variabili così trovate 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 alle variabili chimiche o dati di comunità macrobentoniche).
- ipotesi di correlazione delle componenti principali con altre variabili soggiacenti (è questo il caso della correlazione delle componenti principali ricavate dai dati di abbondanza dei taxa con i principali parametri ambientali analizzate nei siti; Whittaker, 1967) Per l'applicazione della PCA è stato utilizzato il programma PCORD (MacCune & Mefford, 1997; ver. 3.09).

Il metodo di ordinamento PCA ha un assetto migliore quando i taxa che costituiscono le comunità si distribuiscono in maniera lineare lungo un gradiente. Per poter applicare l'Analisi delle Componenti Principali è stato quindi preventivamente verificato se la variazione dei dati di comunità fosse approssimabile ad un andamento lineare, piuttosto che unimodale. Questa informazione è stata ottenuta attraverso l'analisi dell'ampiezza dell'intervallo di valori osservato lungo l'asse principale di variazione della DCA (*Detrended Constrained Analysis*): se l'intervallo ha un'ampiezza minore di 3 è possibile applicare la PCA, altrimenti è preferibile l'utilizzo di metodi non lineari, quali la DCA stessa (Ter Braak & Prentice, 1988). Per applicare la DCA è stato utilizzato il programma CANOCO (Ter Braak & Smilauer, 1997; versione 4.02)

2.7.7 *Non-metric Multidimensional scaling (N-MDS)*

La descrizione multivariata della similarità tra siti campionati sulla base della matrice di presenza/assenza delle specie è stata effettuata con la tecnica *Non-metric Multidimensional Scaling (N-MDS)*, eseguita attraverso una matrice di similarità intermedia basata sull'indice di Jaccard, solitamente utilizzato per i dati di tipo binario (1/0). Questa tecnica multivariata, a differenza delle tecniche lineari come la PCA, non è sensibile alla presenza di zeri (taxa assenti) nella matrice dei dati (Clarke & Warwick, 1994) e produce un ordinamento finale dei siti sul piano cartesiano in base alla similarità. Il principale indicatore della bontà della rappresentazione dei siti sul piano cartesiano dell'ordinamento N-MDS è lo stress: valori di stress inferiori a 0,2 corrispondono ad una buona indicazione, mentre valori superiori allo 0,3 indicano la presenza di forte distorsione tra la stima della similarità e le corrispondenti distanze riportate sul piano cartesiano.

2.7.8 *Analisi Canonica delle Corrispondenze (CCA)*

L'Analisi Canonica delle Corrispondenze 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 (temperatura, profondità, concentrazioni, ecc.). 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. La significatività degli assi della CCA viene valutata applicando il test delle permutazioni di Monte Carlo. Nel programma PCORD (MacCune & Mefford, 1997; ver. 3.09), utilizzato per questo studio, l'algoritmo usato è quello dell'autoanalisi proposto da Legendre & Legendre (1998).

2.7.9 *Analisi delle Specie Indicatrici a due vie (TWINSPAN)*

L'analisi multivariata TWINSPAN (*TWO-way INDicator SPECies Analysis*; Hill, 1979) opera una classificazione gerarchica dei campioni sulla base della loro composizione tassonomica. La classificazione, operata mediante l'uso del programma PCORD (MacCune & Mefford, 1997; ver. 3.09), è prodotta sulla base di una analisi delle corrispondenze (CA; Legendre & Legendre, 1998). L'algoritmo prima calcola il centroide dell'asse della CA che spiega la maggiore porzione della variabilità dei dati, quindi raggruppa i campioni in base alla posizione alla sinistra o alla destra del centroide ottenuto. I gruppi derivanti sono successivamente affinati con ulteriori passaggi dicotomici. La tecnica di divisione è gerarchica, cioè viene ottimizzata l'attribuzione gerarchica degli oggetti ai diversi gruppi. Tale classificazione fornisce indicazioni sia sulle

dicotomie presenti tra i campioni, sia sui taxa indicatori. Infatti, poiché l'obiettivo della CA è l'ordinamento simultaneo delle variabili (taxa) e degli oggetti (campioni-siti), anche le variabili (taxa) vengono raggruppati in maniera simile, consentendo la preparazione di una matrice a doppia entrata di dati che mostri la mutua corrispondenza dei gruppi di campioni e di taxa. Per la costruzione della matrice a due entrate l'algoritmo identifica delle "specie differenziali", cioè delle specie con una chiara preferenza per l'uno o per l'altro gruppo (in base all'autoecologia del taxon). La presenza di queste specie viene utilizzata per identificare condizioni ecologiche particolari. Il principio su cui lavora il modello è quello di effettuare delle divisioni dicotomiche, che forniscono un'indicazione delle specie indicatrici di tale dicotomia (Legendre & Legendre, 1998).

2.8 Approccio multimetrico per la valutazione delle comunità di macroinvertebrati

Per lo sviluppo di un metodo multimetrico basato sui macroinvertebrati bentonici per la classificazione dei corsi d'acqua si è scelto di far riferimento al procedimento adottato dal progetto europeo AQEM per lo sviluppo di metodi conformi alla Direttiva Europea 2000/60/CE (AQEM consortium, 2002), e già utilizzato in lavori analoghi svolti in Italia (Buffagni et al., 2004). Le fasi del processo possono essere riassunte come segue (modificato da Hering et al., 2004):

a) scelta del tipo fluviale da studiare (per l'Italia, la procedura da seguire per la tipizzazione dei corsi d'acqua è quella presente nel DM 131/09; Italia, 2009);

b) analisi degli stress principali (come inquinamento organico, alterazione morfologica, ecc.) sui corsi d'acqua dell'area di studio;

c) selezione di un certo numero di siti di campionamento disposti su un gradiente di condizioni ecologiche, da siti di riferimento a siti fortemente degradati (secondo i criteri presentati da Hering et al., 2003); il gradiente può essere scelto in base ad uno stress specifico (inquinamento organico, alterazione morfologica, acidificazione, ecc) oppure può essere trattato come disturbo generico, come nel caso di questo studio, in quanto nel contesto urbano molti stress sono associati e diventa quasi impossibile discernere tra gli effetti dell'uno o dell'altro.

d) campionamento dei macroinvertebrati bentonici in almeno due stagioni differenti usando un metodo di campionamento standardizzato. In questo studio è stata utilizzata la procedura proposta da APAT-ISPRA (2007) per il campionamento degli invertebrati bentonici

nei corsi d'acqua guadabili italiani, derivato da Buffagni et al. (2007) e già descritto in precedenza;

e) identificazione di tutti i macroinvertebrati raccolti al miglior livello tassonomico raggiungibile;

f) classificazione dei campioni di macroinvertebrati raccolti (post-classificazione)

g) selezione delle metriche che meglio descrivono il gradiente di qualità definito dalla post-classificazione;

h) integrazione delle metriche prescelte in un indice multimetrico, che preveda l'esecuzione di un rapporto di qualità ecologica (EQR) rispetto ai valori assunti dalle stesse metriche nei siti di riferimento, così che il valore definitivo sia compreso tra 0 e 1;

i) definizione dei valori limiti di confine tra le diverse classi di qualità;

j) validazione del sistema di valutazione tipo-specifico.

La procedura di tipizzazione, le tecniche d'analisi delle pressioni, i passaggi per la selezione dei siti da studiare nella messa a punto del metodo, il protocollo di campionamento e l'identificazione degli organismi (fasi a-e) sono già stati descritti in precedenza in questo capitolo. Di seguito vengono brevemente descritte le fasi successive.

Per la classificazione dei campioni di macroinvertebrati raccolti sono stati integrati due metodi di analisi multivariata, entrambi già descritti in questo capitolo. Un metodo, l' "Analisi delle Componenti Principali" (PCA), trova le principali componenti di variabilità in un insieme di dati, disponendo i campioni lungo una scala di valori continui (la prima componente principale), il cui significato viene spiegato con le grandezze che meglio si correlano ai valori dell'asse stesso. L'altro metodo, chiamato "Analisi delle Specie Indicatrici a due vie" (TWINSPAN), raggruppa i campioni in base alla composizione e abbondanza dei taxa, con particolare attenzione a "specie differenziali" che distinguono tra loro i gruppi di campioni. Dalla combinazione dei risultati delle due tecniche si arriva ad una classificazione dei campioni in 5 gruppi, riconducibili alla qualità ecologica, utili poi per lo studio delle risposte delle metriche lungo il gradiente di qualità.

Le metriche, grandezze descrittive della comunità il cui valore varia al variare delle condizioni delle comunità stesse, descrivono ciascuna uno o più aspetti della comunità, necessariamente tralasciandone alcuni anche quando più metriche vengono integrate in un indice multimetrico. In questo studio sono state testate metriche relative ai diversi aspetti richiesti dalla Direttiva Europea 2000/60/CE per la valutazione della comunità biologiche:

- composizione (co);
- abbondanza/habitat (ab);

- diversità e ricchezza (di);
- sensibilità e tolleranza (st).

La tabella 8 presenta la lista delle metriche testate in questo studio, con una breve descrizione e indicati l'aspetto della Direttiva considerato, il tipo di stress indagato (g = generico, o = organico, m = morfologico) e un riferimento bibliografico per una descrizione più dettagliata.

Tabella 8. Metriche valutate sui dati di comunità macrobentoniche in questo studio.

Table 8. Metrics tested on macrobenthos community data

Metrica	Descrizione	Aspetto WFD	Stress	Riferimento
<i>Abbondanza (diversi taxa)</i>	Numero d'individui su metro quadrato (testato su vari taxa)	ab	o, m, g	Hering et al, 2004
<i># Famiglie</i>	Numero di Famiglie	di	o, m, g	Ofenböck et al., 2004
<i># Famiglie EPT</i>	Numero di Famiglie di Efemerotteri, Plecotteri e Tricotteri	di	o	Böhmer et al., 2004
<i>Rapporto # Fam EPT/Tot</i>	Frazione Famiglie degli ordini EPT	st	O	Hering et al, 2004
<i>IBE</i>	Indice Biotico esteso	st, di	O	Ghetti, 1997
<i>Unità Sistematiche IBE</i>	Unità Sistematiche valide nel calcolo dell'IBE	st, di	O	Ghetti, 1997
<i>Taxa totali livello IBE</i>	Unità Sistematiche IBE compreso il <i>drift</i>	di		Ghetti, 1997
<i>log(SelEPTD+1)(a)</i>	Log(1+ N.organismi da famiglie selezionate)	ab	G	Buffagni et al., 2004
<i>Shannon per Fam</i>	Indice di Shannon per Famiglie	di	o, m, g	Shannon & Weaver, 1949
<i>1-GOLD</i>	1 - Percentuale di Gasteropodi, Oligocheti e Ditteri	co, st	G	Pinto et al., 2004
<i>ASPT</i>	Indice ASPT	st	o, g	Armitage et al, 2003
<i>EPT</i>	% individui appartenente a famiglie EPT	co, st	G	Hering, 2004
<i>Abbond%_ Crostacei</i>	Abbondanza di Crostacei	co		Hering et al, 2004
<i># Gen_Plec</i>	Numero Generi di Plecotteri	di	G	Hering et al, 2004
<i># Fam_Tric</i>	Numero Famiglie di Tricotteri	di	G	Hering et al, 2004
<i># Fam_Ephe+Plec</i>	Numero di Famiglie di Efemerotteri e Plecotteri	di	M	Hering et al, 2004
<i>Rapporto #Fam_(Ephe+Plec)/Tot</i>	Frazione Famiglie di Efemerotteri e Plecotteri	st	O	Hering et al, 2004

continua

segue

Metrica	Descrizione	Aspetto WFD	Stress	Riferimento
<i>Abbond%_(Ephe+Plec)</i>	Abbondanza di Efemerotteri e Plecotteri	co, st	O	Hering et al., 2004
<i>Abbond%_Ple</i>	Abbondanza di Plecotteri	co	O	Hering et al., 2004
<i>DivMargalef_fam</i>	Diversità di Margalef per famiglie	di	o, m, g	Margalef, 1984
<i>Eveness_fam</i>	Equitabilità	di	o, m, g	Hering et al., 2004
<i>BMWP'</i>	Indice BMWP	st	o, m, g	Armitage et al, 2003
<i>Abbond%_Tric</i>	Abbondanza % di Tricotteri	co	o	Hering et al., 2004
<i>Abbond%_(Oligo+Dipt)</i>	Abbondanza % di Oligocheti e Ditteri	co, st	o	Hering et al., 2004
<i>Abbond%_Oligochaeta</i>	Abbondanza % di Oligocheti	co	o	Hering et al., 2004
<i>Rapporto % EPT/Oligo</i>	Rapporto % EPT/Oligocheti	st	g	Hering et al., 2004
<i>Rapporto % EPT/Oligo - Gaster</i>	Rapporto % EPT/Oligocheti meno la % di Gasteropodi	st	g	Hering et al., 2004

L'inclusione di una metrica in questa lista, per essere testata sui dati raccolti nel presente studio, è in buona parte legata al fatto che la metrica sia già stata utilizzata nell'analisi delle comunità macrobentoniche in ambienti mediterranei. Anche il livello tassonomico raggiunto nell'identificazione ha importanza fondamentale nel determinare la valutabilità di una metrica, perché sono state escluse a priori tutte quelle metriche che richiedono un livello tassonomico di identificazione troppo fine, irraggiungibile in questo studio e comunque solitamente non richiesto per analoghi scopi nella regione mediterranea (Hering et al., 2004).

Per la selezione delle metriche da utilizzare nell'indice complessivo, sono stati considerati criteri come l'analisi della correlazione dei valori della metrica con il gradiente qualitativo ottenuto con la post-classificazione dei campioni (Vlek et al., 2004), l'inclusione dei diversi aspetti richiesti dalla Direttiva, l'utilizzo di informazioni riguardanti differenti componenti delle comunità ed anche una certa conformità alla tradizione italiana nel monitoraggio dei corsi d'acqua. Qualora, come in molti degli indici sviluppati nel progetto AQEM, il metodo avesse lo scopo di indagare un singolo stress operante sul corso d'acqua, le metriche dovrebbero essere tutte scelte tra quelle che si riferiscono a quello specifico stress. In questo studio, dove viene analizzato l'effetto generico dell'urbanizzazione, le metriche preferite sono quelle che indagano la "generica degradazione" del corso d'acqua.

Il passo successivo nello sviluppo di un indice multimetrico è la combinazione delle metriche prescelte in un unico valore che rappresenti la qualità del corso d'acqua. Alla luce della complessità degli ecosistemi, ogni tentativo di descrizione con un singolo numero è ovviamente rischioso: arbitrario nella migliore delle ipotesi, e fuorviante nella peggiore. Possibili approcci per integrare i risultati delle diverse metriche sono: la media aritmetica, la media pesata, la trattazione statistica multivariata o semplicemente la rappresentazione grafica (Andreasen et al., 2001). La scelta di mantenere questo passaggio il più semplice possibile presenta il vantaggio di non generare eccessiva soggettività, per quanto inevitabile, nella scelta del metodo d'integrazione. I metodi sviluppati nell'ambito del progetto AQEM sono ricorsi sia alla media aritmetica sia alla media pesata (Hering et al., 2004). In questo studio è stata utilizzata la media pesata per permettere di assegnare maggior peso alle metriche che descrivono tutta la comunità. Come schematizzato nella figura 10, i valori delle metriche calcolate sulla lista tassonomica relativa ad un sito da classificare devono essere rapportati ai valori delle stesse metriche calcolate sulle liste tassonomiche dei siti di riferimento, in particolare sulla mediana dei valori ottenuti nei siti di riferimento; qualora i siti di riferimento non siano disponibili per un dato tipo fluviale, è stato talvolta scelto di utilizzare, come valore di normalizzazione, il 75° percentile dei siti classificati in stato elevato (Buffagni & Erba, 2007b). In questo modo viene messo in atto il calcolo del Rapporto di Qualità Ecologica (RQE o *EQR*) richiesto dalla Direttiva 2000/60/CE per la classificazione dello stato ecologico dei corpi idrici.

L'ultimo passaggio necessario per arrivare alla classificazione dei corsi d'acqua è la definizione dei limiti di classe tra i possibili valori compresi tra 0 e 1 che possono essere assunti dal Rapporto di Qualità Ecologica, o anche più di 1 nel caso in cui un sito abbia valori maggiori del valore rispetto al quale è stato ottenuto l'RQE. In questo modo è possibile assegnare a ciascuna comunità macrobentonica, ed al relativo sito, una classe di qualità nella classica formulazione in 5 classi adottata dalla maggior parte degli indici basati su indicatori biologici (Elevata, Buona, Sufficiente, Scarsa e Cattiva). L'approccio utilizzato in questo studio coincide con quello adottato per altri indici (Buffagni & Erba, 2007b) e utilizza il calcolo del valore pari al venticinquesimo percentile dei valori dell'indice nei siti di riferimento (o al decimo dei siti in stato elevato) per individuare la soglia tra lo stato elevato ed il buono, per poi dividere in 4 intervalli uguali l'intervallo rimanente per individuare le altre soglie.

Per una prima validazione dell'indice multimetrico è stato applicato il test per ranghi di Wilcoxon per confrontare la classificazione finale ottenuta per i diversi siti dalle classi di qualità ottenute con gli altri approcci utilizzati in questo studio (LIM, IFF, pre-classificazione dei siti, post-classificazione dei campioni). Sono inoltre stati raccolti quattro ulteriori campioni in siti

che presentassero diverse condizioni qualitative, non sfruttati per la messa a punto del metodo, per verificare l'efficacia dell'indice nel classificare lo stato dei siti.

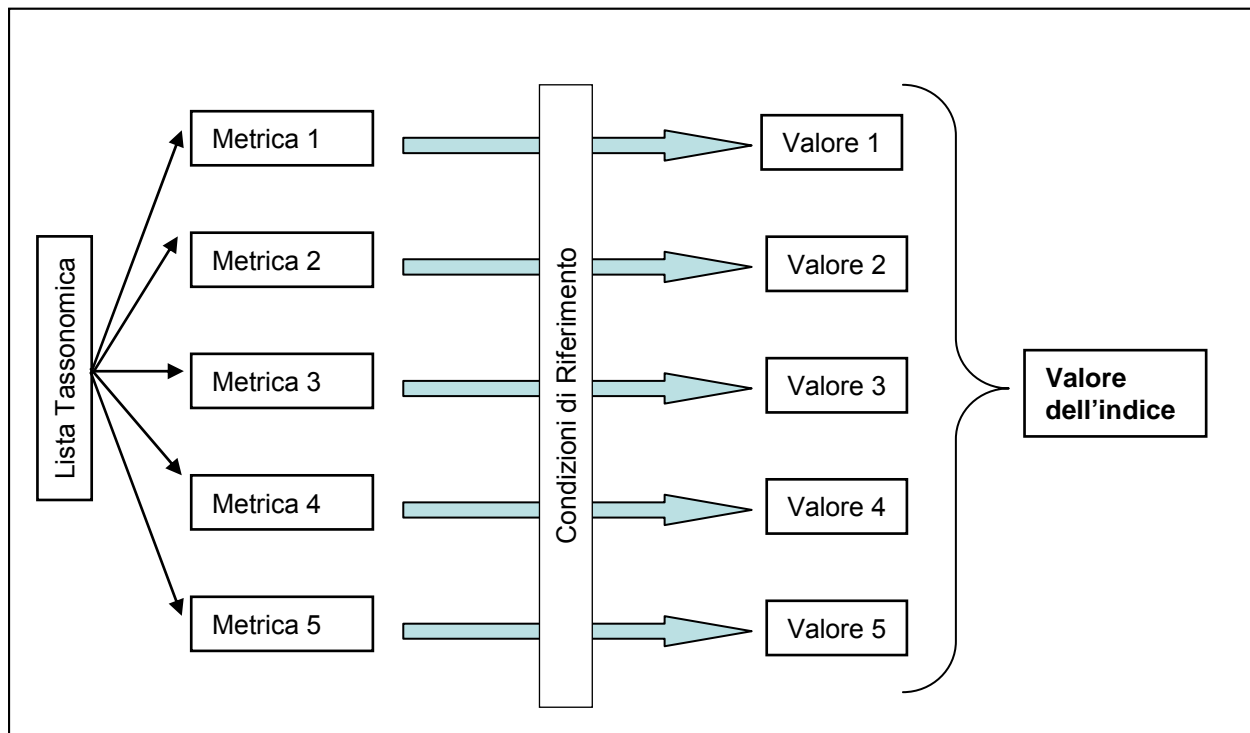


Figura 10. Schema di calcolo di un indice multimetrico
Figure 10. Calculation scheme of a multi-metric index

2.8.1 *Indice STAR_ICMi*

Per la valutazione dello stato ecologico dei corsi d'acqua guadabili sulla base delle comunità macrobentoniche, ai sensi della Direttiva Quadro, è in via di formale adozione nella normativa italiana l'*Intercalibration Common Metric Index* (STAR_ICMi; European Commission, 2005), un indice multimetrico che è stato utilizzato a livello europeo per intercalibrare i diversi indici adottati dagli Stati membri dell'Unione, per verificarne cioè l'uniformità nel giudizio, e grazie a questa sua validità generale è in grado di valutare efficacemente quasi tutte le categorie di corsi d'acqua (Buffagni & Erba, 2007b). Le sei metriche considerate sono: "ASPT", un indice biologico; " $\text{Log}_{10}(\text{sel_EPTD}+1)$ ", una metrica d'abbondanza di taxa sensibili; "1-GOLD", una grandezza il cui valore cresce con la diminuzione dell'abbondanza dei taxa tolleranti; "Numero di famiglie EPT", una stima della ricchezza di alcuni taxa sensibili; "Numero totale di famiglie" una stima della ricchezza totale della comunità; "Indice di Shannon-Wiener", un indice di diversità. L'indice multimetrico è ottenuto dalla somma delle metriche normalizzate rispetto al 75° percentile del valore assunto dalle metriche nei siti di riferimento, ciascuna delle quali poi è moltiplicata per un proprio peso. Lo STAR_ICMi viene così direttamente espresso come

Rapporto di Qualità Ecologica (RQE), come richiesto dalla Direttiva, e assume valori tra 0 e 1⁺, divisi in classi di qualità in base alla tabella 9 (valida per i tipi di corso d'acqua considerati in questo studio).

Tabella 9. Valori limite di classe per l'indice STAR_ICMi per i fiumi molto piccoli e piccoli dell'area mediterranea

Table 9. Class boundaries for STAR_ICM index in small and very small rivers of the mediterranean area

Limiti di classe	STAR_ICMi
elevato / buono	0,97
buono / sufficiente	0,72
sufficiente / scarso	0,48
scarso / cattivo	0,24

Per il calcolo dei valori delle metriche dello STAR_ICMi si è fatto uso del software ad accesso libero ICMeasy (Buffagni & Belfiore, 2006; 2007). Il valore dell'indice nei siti di questo studio è stato calcolato rapportando i valori osservati delle metriche ai valori di riferimento ufficiali per il tipo fluviale specifico, su mesohabitat di campionamento "generico", riportati in Belfiore et al. (2009), eseguendo poi la somma pesata e la normalizzazione come descritto in Buffagni & Erba (2007b).

2.9 Reti neurali artificiali auto-organizzanti (SOM, *Self Organizing Maps*)

Le comunità di macroinvertebrati bentonici costituiscono associazioni eterogenee di numerosi phyla animali, ed è per questo che è molto probabile che alcuni membri di queste associazioni rispondano sempre alla presenza di un qualche stress sull'habitat in cui vivono. Si tratta comunque di variazioni non lineari e complesse, perché influenzate da diversi fattori biotici (sviluppo fisiologico, cicli vitali, ecc.) e abiotici (precipitazioni, inquinamento, ecc.) (Jongman et al., 1995; Legendre & Legendre, 1998). Sull'analisi dei dati di comunità sono stati elaborati numerosi sistemi di valutazione della qualità ecologica degli ecosistemi, compresi i corsi d'acqua. Il RIVPACS, *River Invertebrate Prediction And Classification System*, è stato ad esempio proposto come sistema di valutazione ecologico in Gran Bretagna (Wright et al., 1993) e Australia (Norris, 1995). Sulla base di una serie progressiva di analisi multivariate e univariate, il modello predice la fauna acquatica a macroinvertebrati che dovrebbe essere rinvenuta in un sito in mancanza di stress ambientale. Tra le tecniche multivariate utilizzate, tecniche d'ordinamento quali l'Analisi delle Componenti Principali, PCA, e l'Analisi delle Corrispondenze, CA, sono state messe a punto per rappresentare i campioni statistici riducendo la dimensione dei data set (Jongman et al., 1995). Questi metodi presentano tuttavia limitazioni

ben note: forti distorsioni causate da relazioni non lineari con le abbondanze di specie, effetto “ferro di cavallo” nella PCA dovuto alle curve di risposta unimodali di certe specie, valori anomali (*outlier*), mancanza di dati, (Giraudel & Lek, 2000).

Le reti neurali artificiali SOM di Kohonen (reti Auto-organizzanti) sono state recentemente proposte come valido metodo alternativo nella trattazione di dati ecologici complessi (Kohonen, 2001) e sono state utilizzate per ordinare campioni di comunità provenienti da diversi ecosistemi (Lek & Guegan, 2000; Recknagel, 2002). Aguilera et al. (2001) proposero per primi l'utilizzo delle SOM per la valutazione della qualità delle acque.

Le reti neurali, ed in particolare le SOM, presentano una grande capacità di trattare con i cosiddetti “outgroups” tanto che in loro presenza i risultati ottenuti con le SOM possono addirittura risultare più precisi di quanto non lo siano quelli ottenuti tramite PCA o MDS. Questo è dovuto al fatto che questi metodi tradizionali sono in grado di rappresentare con una discreta precisione le distanze complessive ma talvolta falliscono nella topologia di elementi tra loro vicini. Al contrario, uno dei punti di forza delle SOM risiede proprio nella loro capacità di rappresentazione di elementi tra loro molto simili. Le reti neurali artificiali hanno inoltre delle caratteristiche molto peculiari in quanto presentano la capacità di apprendere, una scarsa precisione associata ad un'alta elasticità di interpretazione (che equivale a dire che presentano una elevata resistenza al “rumore”) e la capacità di estrapolazione. In pratica, un sistema programmato tradizionale è in grado di fornire una risposta corretta in seguito ad un input ben preciso, mentre una rete neurale è in grado di fornire una risposta abbastanza corretta ad un input parziale o impreciso (Marchese, 1995).

Le reti neurali furono inizialmente create da biologi interessati allo studio del funzionamento del cervello umano. L'idea di base fu di creare un modello che simulasse l'unità di base del cervello umano, il neurone, e poi di assemblarne diversi al fine di avvicinarsi al fondamento stesso delle aree cerebrali umane, motivo per il quale la terminologia propria del sistema nervoso è stata in gran parte mantenuta nonostante la metodologia sia applicata a discipline non mediche (Croiseau, 2003). Una rete neurale artificiale, un sistema in grado di fornire un *output* in risposta ad un input, scompone le informazioni che le vengono fornite in informazioni elementari.

Le reti neurali possono essere suddivise in base al tipo di apprendimento: supervisionato o non supervisionato. Nelle reti neurali nelle quali si opera un apprendimento supervisionato, la rete viene inizialmente addestrata con degli *input* simili a quelli che si desidera studiare in modo da addestrarla a fornire l'*output* desiderato ad ogni *input* immesso. In questo caso le reti vengono inizialmente testate sottoponendole a campioni di riferimento in cui le classi di appartenenza dei vettori costituenti siano già conosciute. In seguito a questo apprendimento si chiede alla rete di

determinare la classe di appartenenza del campione da testare. Le reti operanti con tale tipo di apprendimento trovano vasta applicazione nel riconoscimento di manoscritti o segnali cifrati (Croiseau, 2003). Quando, al contrario, non si è, a priori, a conoscenza del tipo di risposta attesa né tanto meno del numero di diversi segnali in uscita che si vuole ottenere, come nel caso in cui, come nel nostro, si disponga di un insieme di dati e si desideri suddividerli associandoli in classi di dati aventi caratteristiche simili, è necessario operare un apprendimento non supervisionato. In casi come questi, in cui si desidera che la rete estragga delle informazioni di similitudine tra i dati forniti in *input*, vengono applicate le reti neurali autoorganizzanti, in quanto in grado di interagire con i dati, e in questo modo addestrare loro stesse, ma in assenza di un supervisore che fornisca soluzioni in punti specifici nello spazio delle variabili (Marchese, 1995). In questo modo è la rete stessa a decidere, in base alle dimensioni, e quindi alla risoluzione, da noi scelta, quali dati raggruppare e in quanti gruppi. Oltre a dividere gli *input* in categorie formate da *input* simili tra di loro, una rete neurale autoorganizzante è in grado di creare una mappa degli *input* nella quale gli *input* simili vengono posizionati vicini tra loro.

Queste reti, che prendono il nome dal loro inventore, Kohonen (2001), sono le più diffuse reti neurali auto-organizzanti (Self-Organising Maps, SOM). Esse sono costituite da una rete a due strati, uno di *input* e l'altro, detto anche strato di Kohonen, di *output*. In tali reti ogni neurone (anche chiamato neurodo) dello strato d'ingresso è connesso a tutti gli altri neuroni della mappa, cosa che conferisce a queste reti una struttura molto diversa rispetto a quella propria delle reti neurali classiche, in quanto le mappe di Kohonen impongono, connettendoli, ai propri neuroni di rispettare una specifica disposizione durante l'apprendimento non supervisionato, cosicché i dati di *input* vicini risulteranno anche vicini sulla mappa risultante.

Ad ogni neurone vengono attribuiti dei vettori. I vettori, nel caso specifico dell'utilizzo delle SOM per la classificazione delle comunità di invertebrati, sono formati da tanti elementi quanti sono i taxa che compongono i campioni raccolti, e il valore di ciascun elemento corrisponde all'abbondanza di ciascun taxon nel campione; il valore di abbondanza viene trasformato secondo il logaritmo in base 10 per enfatizzare le differenze a basse densità. All'inizio dell'apprendimento i vettori, detti di riferimento, sono formati da elementi con valori attribuiti in maniera aleatoria. L'apprendimento avviene in quanto, quando viene fornito un *input* alla rete (ossia un vettore composto dai dati di un campione reale), i neuroni dello strato di Kohonen competono tra loro per vedere quale tra loro meglio si approssima all'*input* fornito. Ne risulta così un singolo neurone vincente, il quale sarà quello che, tra i vettori di riferimento, risulterà più vicino al vettore di entrata fornito e che quindi meglio descrive l'*input* stesso (figura 11). A tale scopo si effettua il calcolo delle distanze tra i vettori corrispondenti ai dati in entrata e tutti i

neuroni della mappa (vettori di riferimento), il neurone vincente sarà, tra questi, quello che minimizza tale distanza. In seguito all'attivazione da parte dell'*input*, il neurone vincente viene modificato e adduce nei neuroni limitrofi un cambiamento, rafforzando così l'apprendimento. L'intensità di tali interazioni dipende da una funzione che può essere, a discrezione di chi imposta la rete, di due tipologie: a "cappello messicano", nella quale i neuroni vicini vanno incontro a funzione attivatrice mentre quelli lontani a funzione inibitoria; o "gaussiana", nella quale si osserva solo la funzione attivatrice sui neuroni vicini.

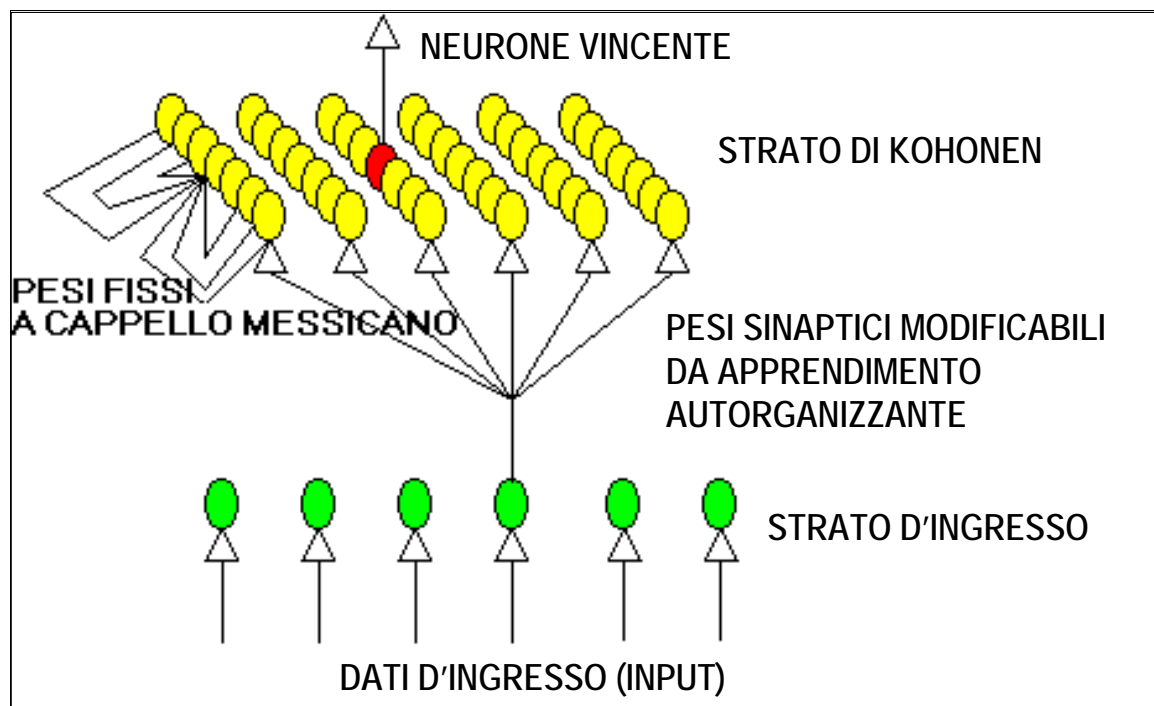


Figura 11. Schema di addestramento di una rete SOM
Figure 11. Training scheme of a SOM

In questo studio si è fatto uso del software SOM-PAK (Kohonen, 1996) e del programma MYSOM (Scardi, non pubblicato). Entrambi sono in grado di creare, partendo da uno spazio di dati multidimensionali, una mappa bidimensionale di neuroni nella quale ad ogni impulso in ingresso corrisponderà un vettore vincente e questo sarà, in particolare, quello che minimizza la seguente distanza euclidea:

$$d = |x_t - Wk_t|$$

dove " x_t " corrisponde al vettore di ingresso selezionato al tempo " t " e " Wk " corrisponde al vettore associato al neurone " k " al tempo " t "; il tutto è riscrivibile come $|X_t - Wk_t| = \min |x_t - Wk_t|$, dove X_t è il vettore vincente al tempo " t ". Dopo che il vettore vincente è stato selezionato

si deve realizzare l'apprendimento, si deve cioè modificare sia il vettore vincente sia i vettori dei neuroni che si trovano nelle vicinanze del neurone vincente. Per operare tale apprendimento si applica il seguente algoritmo di apprendimento:

$$Wk_{i,(t+1)} = Wk_{i,t} + \alpha_t \times h_t \times [X_{i,t} - Wk_{i,t}]$$

per $1 < i < N$, e dove

- α_t è un termine di guadagno, con le seguenti caratteristiche: $0 \leq \alpha_t \leq 1$; $\lim_{t \rightarrow \infty}(\alpha_t) = 0$
- h_t è una funzione di vicinanza
- $\alpha_t \times h_t = e^* = \text{Costante di apprendimento}$

La funzione di vicinanza stabilisce la misura in cui l'intorno del neurone vincente sarà modificato. Durante le prime fasi dell'apprendimento non supervisionato i singoli neuroni della rete possono rispondere a segnali di *input* anche piuttosto diversi tra loro, ma con il procedere dell'apprendimento, via via che gli *input* vengono forniti al sistema, si assiste ad una graduale diminuzione dei parametri di apprendimento, finché non venga raggiunta una soglia oltre la quale l'entità dell'apprendimento avvenuto rimanga costante, ed il vettore associato al neurone rimanga inalterato nel tempo, ($Wk_{i,t+1}=Wk_{i,t}$). In pratica, somministrando più volte i dati al sistema possiamo addestrarlo affinché impari ad adattarsi al meglio ai dati che gli sono stati forniti. Leggendo attentamente la formula di apprendimento si può notare come il suo ruolo sia quello di ruotare il vettore dei pesi sinaptici verso il vettore di *input*, di modo che il neurone vincente venga ancora più sensibilizzato al riconoscimento della forma dell'*input* presentato. Diversi neuroni di ingresso possono essere legati al medesimo neurone, ne risulteranno, sulla mappa, dei raggruppamenti.

Per la calibratura della mappa devono essere impostati alcuni parametri, tra cui quelli già considerati (il parametro α_t e la funzione di vicinanza h_t) ai quali se ne aggiungono altri richiesti dall'interfaccia del programma per la realizzazione dei calcoli necessari a costruire la rete.

2.9.1 Parametri della mappa: dimensioni e topologia

Per scegliere la dimensione della mappa, la migliore soluzione risulta essere testare la rete. Sapendo che è ragionevole che il numero di vettori dei dati associati a delle componenti mancanti sia il più piccolo possibile, bisogna trovare le dimensioni per la mappa che più convengano ai nostri dati. Tutto ciò sapendo che più si riducono le dimensioni della mappa più i singoli neuroni della mappa saranno associati ad un gran numero di dati. Al fine di selezionare la rete SOM con dimensioni ottimali possono essere considerati i risultati del calcolo di due

indici. L'errore di quantizzazione è una misura della distanza media tra ogni vettore input e il suo vettore vincitore nella SOM. Esso decresce in maniera asintotica man mano che aumenta il numero di elementi, in quanto è più semplice che ad un elemento della SOM corrisponda un solo vettore input se le dimensioni sono elevate. L'errore topografico esprime la distanza media tra il vettore vincitore della SOM (rispetto ad un *input*) e il vettore che, in pratica, è arrivato secondo, dando una stima dell'accuratezza della mappa nel preservare la topologia dei vettori *input*. Questo errore non è legato proporzionalmente alle dimensioni della SOM, ma deve comunque essere preferita una SOM con errore topografico basso. Questi due errori danno rispettivamente una stima della risoluzione e dell'accuratezza della SOM ottenuta e possono quindi essere utilizzati per selezionare la SOM migliore.

2.9.2 Parametri dell'apprendimento

Per ottenere un buon apprendimento, è necessario realizzare due simulazioni consecutive: la prima per l'inizializzazione e la seconda per l'apprendimento. In generale, la fase di inizializzazione serve a formare in modo grossolano la forma della mappa, mentre durante la seconda fase la mappa acquisirà una maggiore precisione.

- 1) la funzione di vicinanza: Tale funzione può approssimarsi o ad una curva gaussiana o a una curva a forma di “cappello messicano”, poiché non si può stabilire a priori quale di queste curve meglio approssimerà i dati di cui si dispone, conviene testare i parametri.
- 2) numero di iterazioni: Il numero di iterazioni durante la fase di apprendimento deve essere almeno 500 volte superiore al numero di unità della mappa. Per la fase di inizializzazione, sempre secondo le indicazioni di Kohonen, si divide tale numero per dieci.
- 3) parametro α : M. Kohonen (2001) suggerisce che tale parametro, durante la fase di inizializzazione, sia compreso tra 0,1 e 0,5 e vicino a 0,02 durante quella di apprendimento. Più tale parametro risulta forte, più il neurone vincente verrà modificato.
- 4) parametro raggio: Anche questo parametro deve essere più influente al momento dell'inizializzazione che non al momento dell'apprendimento. Esso risulta tuttavia molto difficile da stabilire a priori in quanto, determinando l'ampiezza del “vicinato” del neurone vincente, dipenderà dalle dimensioni della mappa stessa, più la mappa risulterà grande, più il numero di neuroni da modificare sarà importante.

Uno strumento comunemente utilizzato per visualizzare le distanze tra i neuroni è la matrice U (*Unified distance matrix method*), che ne permette una raffigurazione in termini di differenti toni di grigio. In particolare, il software SOM-PAK utilizza i toni scuri laddove vi è una grande

distanza tra i neuroni adiacenti, ed i toni chiari quando, al contrario, tale distanza risulta essere ridotta, come in una carta batimetrica il colore blu indica il mare più profondo e il celeste chiaro le acque continentali vicino alla costa. Questo procedimento però non fornisce una scala dei toni di grigio assoluta, in quanto essi sono di volta in volta compresi entro il minimo ed il massimo della mappa, indipendentemente dalle reali distanze esistenti.

3. RISULTATI

3.1 Risultati dei campionamenti d'indagine

I campionamenti d'indagine, effettuati nel periodo primavera-estate dell'anno 2007, sono stati svolti sui 105 siti individuati in base alla divisione del territorio romano in idroecoregioni, come descritto nel paragrafo sull'area di studio. Le tabelle relative ai risultati dettagliati delle analisi fisico-chimiche, chimiche e microbiologiche, le matrici di presenza-assenza dei taxa di macroinvertebrati raccolti, le risposte alle singole domande dell'indice IFF e le percentuali d'uso del suolo utilizzate per il calcolo dell'indice LUI sono riportati in Appendice 1. Di seguito vengono presentati i risultati di sintesi delle analisi svolte nell'ottica del loro utilizzo nella selezione dei 15 siti definitivi per la messa a punto del metodo di valutazione. Gli stessi risultati sono stati inoltre utilizzati anche nell'analisi dei dati sulla famiglia dei Ditteri Simulidi, raccolti sugli stessi 105 siti e presentati più avanti.

3.1.1 Analisi fisico-chimiche, chimiche e microbiologiche

La tabella 10 riassume i risultati ottenuti dall'analisi dei parametri chimici, chimico-fisici e microbiologici sui 105 siti studiati. Fra di essi spiccano soprattutto i valori dello ione ortofosfato, dello ione ammonio e della concentrazione di *Escherichia coli*, con medie particolarmente elevate per gli standard delle acque correnti (gli ultimi due sono valori da quinta classe LIM, il primo da quarta classe). E' questa una conseguenza dell'inclusione nello studio di numerosi siti localizzati in ambiente urbano, dove l'inquinamento d'origine domestica incrementa fortemente i valori di questi parametri. Come già specificato, il dettaglio dei valori ottenuti è riportato in Appendice 1.

Tabella 10. Riassunto dei risultati delle analisi sui parametri LIM dei campioni d'acqua
Table 10. Summary of LIM parameter results of water samples

Parametro	media	Dev. standard	Valore minimo	Valore massimo
Saturazione % O ₂	67,55	16,05	31,00	100,00
COD (mg/L)	22,83	13,92	1,00	58,00
BOD ₅ (mg/L)	8	8	0	32
NO ₃ ⁻ (mg/L)	4,40	4,54	0,20	25,00
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	1,75	2,18	0,00	10,84
NH ₄ ⁺ (mg/L)	1,40	1,63	0,00	4,80
<i>Escherichia coli</i> (UFC/100mL)	22903	69097	0	250000

La tabella 11 riporta i valori dell'indice LIM ottenuti sui siti d'indagine, disposti in ordine decrescente dal sito con la migliore qualità dell'acqua a quello nelle condizioni peggiori. I risultati mostrano come solo le acque dei corsi d'acqua di alta montagna, come il torrente Simbrivio nel Parco dei Monti Simbruini, e le acque del fosso della Doganella, piccolo ruscello nei boschi del Parco dei Castelli Romani, presentino una qualità prossima al livello 1 (elevata qualità) della scala, e neanche questi riescono a raggiungerla, probabilmente per la presenza di pur limitate attività agricole. Tutti gli altri si distribuiscono principalmente tra il livello 2 (41 siti) e il terzo livello (45 siti). Dei rimanenti 15 siti, 9 ricadono nel livello 4 di qualità, e 6, corrispondenti ai siti localizzati nei tratti terminali dei fossi in aree fortemente urbanizzate, sono a cavallo tra il livello 4 e il livello 5. I codici utilizzati in tabella 11 e nelle successive figure e tabelle sono riportati in tabella 2 del capitolo Materiale e Metodi.

Tabella 11. Risultati dell'applicazione dell'indice LIM (codici in tab. 2)
Table 11. Results of the application of the LIM index (codes as in tab. 2)

Sito	LIM	Sito	LIM	Sito	LIM	Sito	LIM
si58	460	co61	290	an75	190	I91	130
si59	460	an69	290	co13	185	RT97	130
DO62	460	AR104	285	t99	185	TS32	125
VI46	430	SV23	280	co14	180	CZ36	125
CR5	420	mi54	280	e16	180	AR63	125
li19	420	li17	275	va50	180	MG80	125
li56	420	TO2	270	CZ35	175	MG81	125
an67	420	fi20	270	MG82	175	I92	125
mi68	420	mi53	270	t98	175	TO1	115
si21	400	AR60	270	CR7	165	VN39	115
bg49	400	MF12	265	TO9	165	VN96	110
SV24	390	CR8	260	AR55	165	MG84	105
si57	380	AR27	255	O72	165	ri89	105
VA28	360	CA79	250	t100	165	t105	105
FU52	350	SM26	245	SV22	160	PR90	100
an65	350	CZ34	240	VN41	160	MF94	100
an66	350	FU51	240	an45	160	MF95	100
t76	350	TO3	235	fi103	160	CZ85	90
an64	330	MG42	225	VA29	155	CZ37	85
SM25	320	ba73	220	TS31	150	RT93	85
li18	310	CR6	215	CR47	150	CZ86	80
an71	310	TO4	211	I10	145	TS33	75
SB44	305	t78	205	CR48	145	CZ87	75
t77	305	AL70	200	MG83	145	SE88	70
e102	305	RE74	195	TS30	135		
MF11	295	t101	195	VN38	130		
SB43	290	fi15	190	VN40	130		

3.1.2 Uso del Suolo

Per il calcolo dell'indice LUI sono state estrapolate le percentuali d'uso del suolo dei sottobacini a monte di ciascun sito di campionamento, intersecando, con il software QGIS, dati derivanti dal CLC2000 (Corine Land Cover 2000) con mappe vettoriali digitalizzate *ad hoc* per rappresentare i sottobacini. Le quattro classi utili per il calcolo dell'indice LUI sono state ottenute per accorpamento delle classi d'uso del suolo del terzo livello CLC2000. La figura 12 mostra una mappa d'uso del suolo del territorio in esame secondo il Corine, con rappresentati i siti di campionamento, indicati dalla sola parte numerica del codice per non appesantire la figura. Da una analisi complessiva dei dati per la Provincia di Roma risulta che la maggiorparte del suolo è destinata ad uso agricolo (57%) mentre circa il 22% presenta ancora una copertura a bosco. Una piccola parte è lasciata a pascolo. La percentuale del territorio provinciale urbanizzato allo stato attuale equivale al 16% del totale.

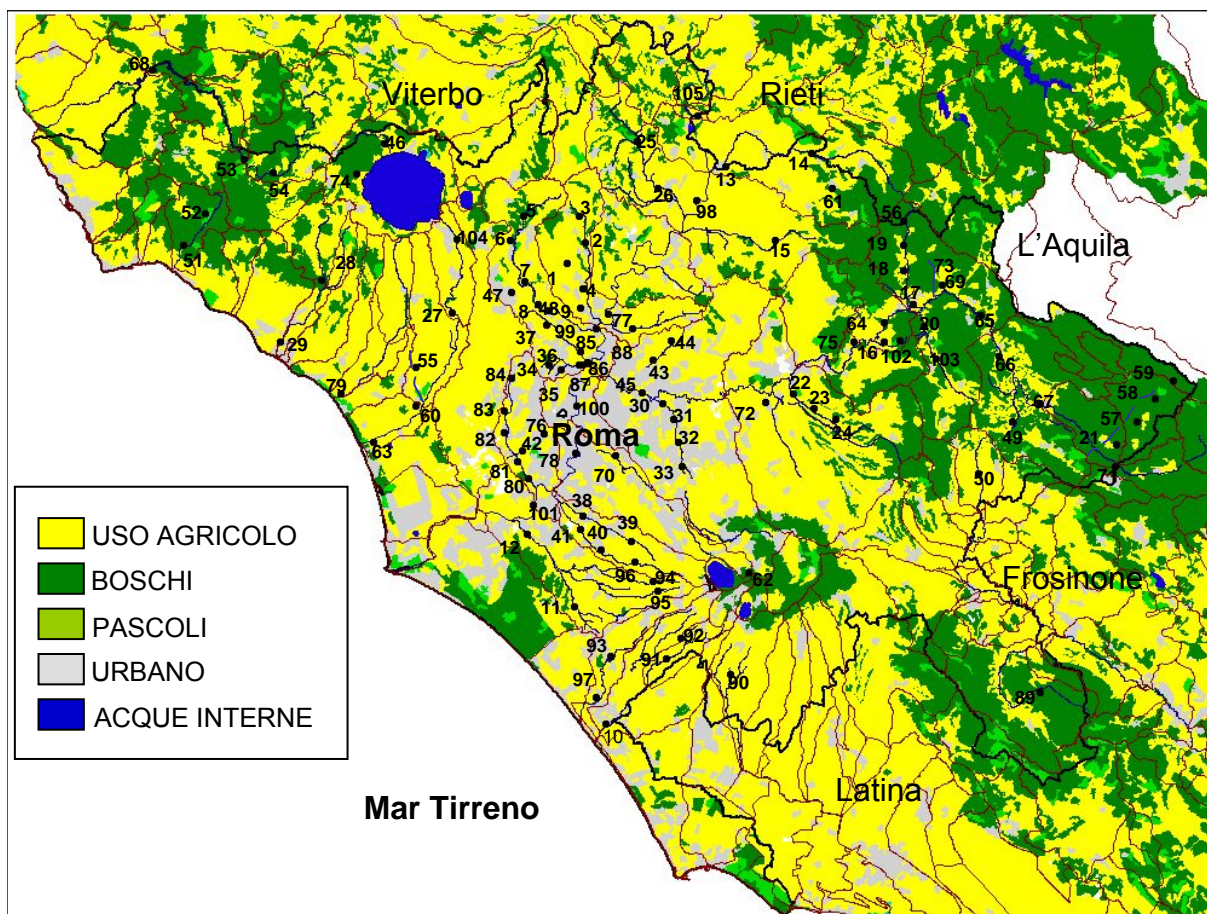


Figura 12. Uso del suolo nella provincia di Roma
Figure 12. Land use in the province of Rome

Considerando solamente le aree a monte dei siti di campionamento, direttamente influenti sulle condizioni dei corsi d'acqua, in media il 29% dei sottobacini analizzati è coperto da bosco (d.s.: $\pm 30\%$), il 53% è sfruttato ad uso agricolo (d.s.: $\pm 27\%$) ed il 13% è urbanizzato (d.s.: $\pm 17\%$). In

particolare, la percentuale di urbanizzazione del suolo varia dallo 0 al 78% tra tutti i sottobacini considerati. I risultati dell'applicazione dell'indice LUI, presentati in tabella 12, non vengono raggruppati in classi dal metodo. Si osserva un *continuum* di valori che variano dal valore minimo possibile 0, per una stazione sita in un bosco sui Monti Simbruini, a oltre 300 (su un massimo possibile di 400 punti), per alcune stazioni site all'interno della città di Roma. Come già ricordato, il dettaglio delle percentuali ottenute è riportato in Appendice 1.

Tabella 12. Risultati dell'applicazione dell'indice LUI ai dati percentuali d'uso del suolo (codici in tab. 2)
Table 12. Results of the application of the LUI index (codes as in tab. 2)

Sito	LUI	Sito	LUI	Sito	LUI	Sito	LUI
TS31	356	VN41	220	SM26	164	e16	92
TS30	354	SB43	220	CR6	162	mi68	90
TS32	332	MF94	220	TO2	160	bg49	80
MG84	324	MF95	220	an45	159	ba73	74
CR47	313	VN39	218	an69	159	an64	68
MG42	302	VN40	210	SV22	157	an66	66
MG80	288	SB44	210	t101	155	e102	60
MG83	288	AR60	210	VA29	154	co61	53
AL70	286	SE88	210	t100	139	li17	52
MG81	286	PR90	210	fc103	130	an65	52
AR104	284	MF12	208	SV24	128	an75	49
t76	280	CZ34	208	SM25	128	ri89	47
I92	280	AR63	206	SV23	127	li18	38
CZ87	278	VN96	202	mi54	126	VI46	36
CZ86	264	TO9	200	t77	125	si57	30
CZ35	260	AR55	198	t78	125	an71	27
CZ36	254	CA79	197	t98	125	an67	26
RT93	246	CR48	192	t99	125	FU51	25
RT97	246	TO3	184	t105	125	li19	22
I91	244	TO4	184	RE74	124	si21	20
VN38	242	CR8	183	co14	121	FU52	15
CZ37	238	CR7	182	CR5	116	li56	10
MG82	232	MF11	180	fc20	112	si58	10
AR27	230	vl50	178	DO62	105	si59	0
TS33	230	TO1	176	mi53	99		
CZ85	224	O72	176	VA28	98		
I10	220	co13	165	fi15	94		

3.1.3 Applicazione dell'indice IFF

La tabella 13 presenta i risultati ottenuti dall'applicazione dell'indice IFF, per quanto riguarda i soli tratti fluviali in cui ricadono le stazioni di campionamento. In Appendice 1 sono invece riportati i risultati completi dell'applicazione dell'indice alle intere aste fluviali, esplicitando anche i singoli punteggi associati alle risposte a ciascuna delle 14 domande che compongono l'indice. Per le domande in cui l'indice prevede una risposta differenziata per la sponda destra e per la sinistra, si è restituito di seguito il valore minore in modo da fornire un singolo valore da

utilizzare nelle analisi. Nel complesso il 49% dei tratti fluviali analizzati presenta un giudizio di funzionalità mediocre, il 22% buona, il 21% scarsa e l'1% pessima. I tratti fluviali che presentano ancora funzionalità elevata sono l'8% del totale, e corrispondono a corsi d'acqua d'alta quota e a tratti compresi in aree protette. Per quanto riguarda i tratti fluviali che ricadono in ambiente urbano, si osserva un basso livello di funzionalità (scarso e pessimo, sotto i 120 punti) sia in aree con urbanizzazione elevata (f. Crescenza a Roma nord, f. Tor Sapienza a Roma est), dove le costruzioni e le infrastrutture arrivano a ridosso delle sponde, sia in aree solo limitatamente urbanizzate (Malafede presso Trigoria, f. Vaccina presso Ladispoli).

Tabella 13. Risultati dell'applicazione dell'indice IFF (valori minori tra le due sponde; codici in tab. 2)
Table 13. Results of the application of the IFF index (lower values from the two banks; codes as in tab.2)

Sito	IFF	Sito	IFF	Sito	IFF	Sito	IFF
si21	281	li56	210	MG42	145	VA29	97
si57	281	SM25	205	e16	141	AL70	97
VA28	275	co14	200	PR90	140	li18	93
VI46	275	fi15	195	RT97	136	TO9	90
co61	275	vl50	195	VN41	135	I10	87
TO2	270	mi53	195	t77	135	MG81	87
CR5	270	FU51	190	RT93	135	MG82	87
si58	261	mi68	190	CZ36	130	MG83	87
si59	261	ri89	190	SB44	130	MG84	87
TO1	260	fc103	190	t76	130	SE88	87
mi54	260	AR27	185	CZ35	120	I91	87
an67	255	DO62	185	t101	120	AR104	83
an71	255	co13	180	VN39	115	AR63	81
FU52	250	SV23	180	SM26	110	an45	80
an66	250	SB43	179	O72	110	CZ87	80
CR7	240	CZ34	170	CA79	110	MF12	69
CR8	240	t98	170	CZ37	107	SV22	61
an65	240	CR47	166	MG80	107	TS30	60
an69	240	CR48	166	CZ85	107	TS31	60
bg49	235	an64	165	CZ86	107	TS32	60
SV24	230	e102	160	TO4	106	TS33	60
ba73	220	li17	156	VN38	105	t100	60
RE74	220	AR55	155	VN40	105	I92	55
CR6	215	VN96	155	an75	105	MF94	55
li19	210	AR60	150	t99	105	MF95	55
fc20	210	TO3	145	MF11	100	t78	50

Sull'insieme di dati ottenuti dalle analisi finora presentate è stato prodotto un ordinamento dei siti di campionamento tramite Analisi delle Componenti Principali. Il risultato è rappresentato in figura 13. Si delinea una disposizione prevalente lungo l'asse di variabilità 1, determinato da variabili legate all'inquinamento domestico (verso i valori negativi) e variabili legate all'integrità dell'habitat (verso i valori positivi). Altre grandezze, come i nitrati e la percentuale di uso

agricolo del suolo, hanno minore importanza nella disposizione dei siti; la loro influenza, per quanto minore come sottolineato dalla lunghezza limitata dei relativi vettori nel grafico, è stata comunque rappresentata per completezza. Questo modello di ordinamento è legato al forte gradiente qualitativo imposto dall'aver scelto siti in condizioni diametralmente opposte (dal bosco al centro urbano) che rende poco leggibile ogni altra componente di variabilità nell'insieme dei dati.

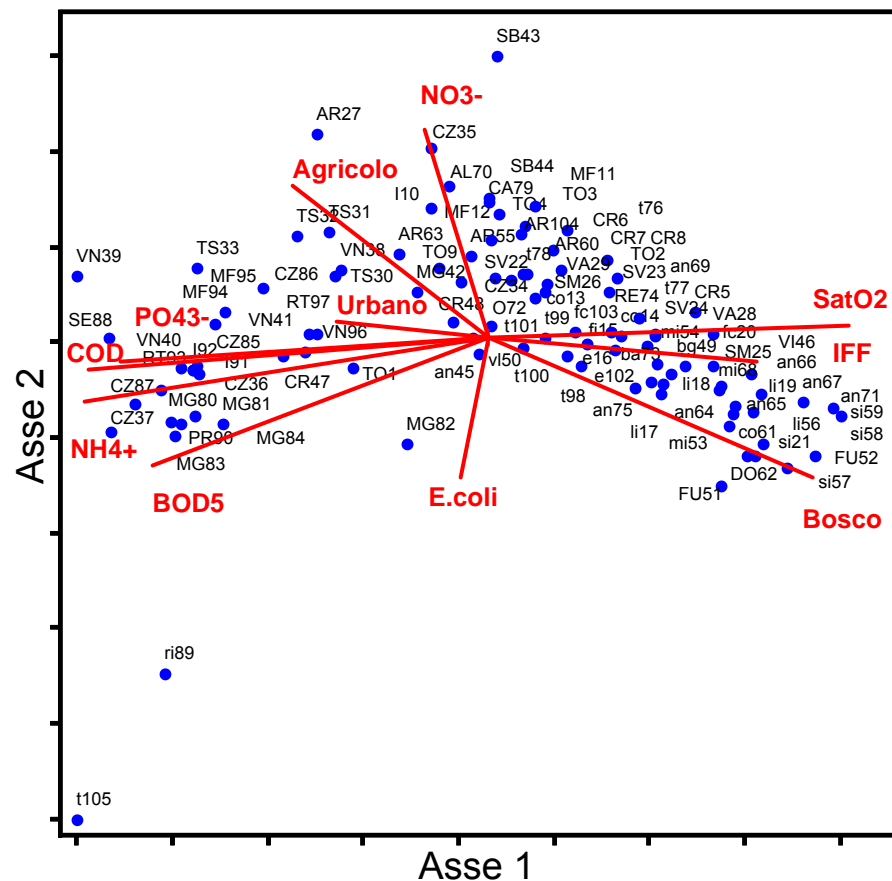


Figura 13. Ordinamento PCA sulle variabili ambientali dei 105 siti d'indagine (Asse1: 46% varianza spiegata, Asse2: 14% varianza spiegata; codici in tab. 2)

Figure 13. PCA scatter on environmental variables of sampling sites (Axis1: 46% explained variance; Axis2: 14% explained variance; codes as in tab. 2)

3.1.4 Campionamento d'indagine dei macroinvertebrati bentonici

Nel corso del campionamento d'indagine dei macroinvertebrati, eseguito con la metodica descritta nel capitolo "Materiale e Metodi", sono stati raccolti 95 taxa di invertebrati, 59 dei quali identificati a livello di genere o specie e 36 a livello di famiglia. In tabella 14 è presentata la ricchezza in taxa dei siti studiati (le liste totali dei taxa rinvenuti sono riportate in Appendice 1). In media in ogni sito sono state identificate circa 14 unità sistematiche (deviazione standard: 7,6), con un massimo di 33 e un minimo di un solo taxon per sito. Solo 4 taxa sono stati raccolti

in più del 50% dei siti: gli Efemerotteri del genere *Baetis* (66%), i Ditteri delle famiglie e Chironomidae (77%) e Simuliidae (70%) e gli Oligocheti Tubificidae (65%). Sono stati comunque rinvenuti molto frequentemente (>25%) diversi taxa, come i Plecotteri del genere *Leuctra*, gli Efemerotteri della specie *Serratella ignita* e del genere *Caenis*, i Tricotteri del genere *Hydropsyche*, i Coleotteri Elmidae, i Ditteri Tipulidae, gli Isopodi del genere *Proasellus*, i Gasteropodi del genere *Physa*, l'Irudineo *Dina lineata* e i Lumbricidae. Viceversa sono stati raccolti molto raramente (<5% dei siti) i Plecotteri del genere *Perla*; gli Efemerotteri dei generi *Choroterpes*, *Oligoneuriella* e *Cloeon*; i Tricotteri Hidroptilidae, Leptoceridae, Ecnomidae e Glossosomatidae; i Coleotteri Helophoridae; gli Odonati dei generi *Gomphus*, *Ladona*, *Boyiara* e *Anax*; i Ditteri Ptychopteridae; gli Eterotteri dei generi *Nepa*, *Plea* e della sottofamiglia Corixinae; i Gasteropodi del genere *Theodoxus* e della famiglia Planorbidae; l'Irudineo *Herpobdella* sp e gli Oligocheti della famiglia degli Haplotaxidae.

Tabella 14. Numero di taxa raccolti nei siti del campionamento d'indagine (codici in tab. 2)

Table 14. Number of taxa collected in the preliminary sampling (codes as in tab. 2)

Sito	Numero di taxa	Sito	Numero di taxa	Sito	Numero di taxa
TO1	7	CZ37	5	O72	18
TO2	22	VN38	9	ba73	22
TO3	15	VN39	7	RE74	14
TO4	22	VN40	8	an75	22
CR5	33	VN41	10	t76	14
CR6	29	MG42	6	t77	14
CR7	16	SB43	14	t78	10
CR8	19	SB44	12	CA79	13
TO9	14	an45	6	MG80	3
I10	12	VI46	31	MG81	3
MF11	20	CR47	4	MG82	4
MF12	16	CR48	10	MG83	3
co13	11	bg49	22	MG84	4
co14	15	vi50	10	CZ85	6
fi15	6	FU51	21	CZ87	12
e16	11	FU52	24	SE88	12
li17	29	mi53	21	ri89	2
li18	29	mi54	17	PR90	3
li19	24	AR55	13	I91	2
fc20	19	li56	16	I92	1
si21	15	si57	16	RT93	3
SV22	18	si58	16	MF94	2
SV23	14	si59	16	MF95	1
SV24	25	AR60	12	VN96	10
SM25	25	co61	24	RT97	4
SM26	12	DO62	18	t98	12
AR27	18	AR63	7	t99	6
VA28	32	an64	19	t100	10
VA29	14	an65	23	t101	9
TS31	7	an66	20	e102	7

continua

segue

Sito	Numero di taxa	Sito	Numero di taxa	Sito	Numero di taxa
TS32	8	an67	21	fc103	20
TS33	6	mi68	17	AR104	15
CZ34	13	an69	17	t105	16
CZ35	18	AL70	7		
CZ36	7	an71	21		

Questi risultati di composizione dei campioni di macrobenthos, utilizzati sia come conferma nella scelta del gruppo di siti di campionamento su cui focalizzare l'attenzione nella seconda fase dello studio, sia più avanti nell'interpretazione dei risultati dello studio dei ditteri Simuliidae, non sono informativi per la caratterizzazione delle comunità tipiche delle diverse idroecoregioni considerate, fondamentalmente rappresentate dai corsi d'acqua a substrato siliceo della parte occidentale e centrale della provincia di Roma e dai corsi d'acqua a substrato calcareo dell'Appennino e del Preappennino. Ciò avviene essenzialmente per la forte influenza che le condizioni qualitative hanno sulla composizione delle comunità macrobentoniche, che vengono alterate e "appiattite" verso i soliti taxa più resistenti dall'inquinamento delle acque, con perdita di molte informazioni. Sui dati raccolti è comunque stato costruito un ordinamento MDS basato sull'indice di similarità di Jaccard, appropriato per dati di tipo binario come la presenza-assenza dei taxa, nel tentativo di individuare gruppi di stazioni. Il risultato è presentato in figura 14 (valore di stress dell'ordinamento: 0,22). La suddivisione in 2 gruppi ottenuta dall'analisi MDS, evidenziata nella figura con i raggruppamenti A e B, sembra cogliere una differenziazione in composizione tra le comunità macrobentoniche riscontrate nelle due aree, come è facile notare ricordando che i siti posti nell'idroecoregione 13 e 15 hanno codice in lettere minuscole, mentre quelli dell'idroecoregione 14 sono indicati con le maiuscole. Tuttavia, l'inclusione dei siti VA28, CR5, FU52, TO2 e SM25 (cioè i siti i cui sottobacini sono privi di urbanizzazione) nel gruppo indicato con la lettera A e viceversa l'inclusione dei siti an45, v150, ri89 ed e16 (vale a dire siti con acque fortemente inquinate) nel gruppo B, suggeriscono che la suddivisione sia il risultato di differenti qualità delle acque dei corsi d'acqua e non di differenze nelle caratteristiche fisiche dei siti. Per cogliere queste differenze dovrebbero pertanto essere effettuate indagini più approfondite su due gruppi di siti, significativamente numerosi, in buone condizioni ecologiche.

- inclusione nell'idroecoregione 14 italiana (Roma-Viterbese);
- appartenenza a piccoli corsi d'acqua a substrato siliceo;
- appartenenza a corsi d'acqua perenni;
- altitudine < 200 m slm;
- appartenenza a corsi d'acqua con origine da scorrimento superficiale e piccole sorgenti puntiformi;
- appartenenza a tratti di corso d'acqua compresi tra i 5 e i 20 km dalla sorgente.

- Passaggio 2: Individuazione dei siti di riferimento

Dall'applicazione della metodologia descritta in “Materiale e metodi”, adottata per la selezione di siti di riferimento, è emerso che la forte presenza di attività umane nel territorio romano non ha consentito il mantenimento di biotopi in condizioni di integrità sufficienti per rivestire questo ruolo. In pratica, sin da un'analisi preliminare dell'uso del suolo, operata con mappe GIS, si rileva l'esistenza di un solo sito con un bacino sotteso con uso agricolo del suolo minore del 20%. Questo sito, VI46 sul fosso di Vicarello, è tuttavia anch'esso, a rigore, inaccettabile come sito di riferimento. Sono infatti state rilevate concentrazioni di nutrienti in acqua con valori superiori alle soglie fissate dalla metodologia, dovuti probabilmente alle attività agricole che, pur in misura minima, gravano sul corso d'acqua. Per superare questo problema si è deciso di procedere con un approccio già utilizzato in precedenza (Chaves et al., 2006), consistente nell'individuazione di siti in uno stato definito “miglior potenziale ecologico raggiungibile” (*Best Attainable Ecological Potential*), cioè di siti in stato biologico elevato ma sotto l'influenza di alterazioni. Questo approccio è già stato utilizzato, ad esempio, in Portogallo dove la diffusa presenza di dighe ha reso impossibile l'individuazione di siti di riferimento per alcuni tipi di corsi d'acqua (Chaves et al., 2006). Sono quindi stati selezionati i tre siti nelle condizioni abiotiche (uso suolo, chimismo delle acque, funzionalità) migliori, rispetto ai quali effettuare i confronti: VI46 (Vicarello), VA28 (Vaccina Bracciano) e CR5 (Sorbo), chiamati comunque in seguito “siti di riferimento”. Ulteriori studi o i risultati di ricerche svolte in corsi d'acqua dello stesso tipo in aree contigue alla provincia di Roma potrebbero permettere di adottare siti di riferimento più idonei.

- Passaggio 3. Scelta dei 15 siti lungo un gradiente di uso urbano del suolo

La scelta definitiva dei siti si è basata soprattutto su osservazioni sul grado di urbanizzazione del tratto di 1 km a monte dei siti per una fascia ampia circa 200 metri sulla sinistra e sulla destra idrografica dei corsi d'acqua, valutato con osservazioni sul campo e analisi GIS. Questa scala è

presentata in letteratura come la più indicata per caratterizzare l'influenza dell'urbanizzazione del territorio su scala locale (Walsh et al., 2007). Si è perciò tenuto conto dei risultati dei due passaggi precedenti e dei risultati delle analisi d'indagine per selezionare, oltre ai tre siti di riferimento, altri 12 siti che presentassero urbanizzazione sempre crescente e comunque condizioni di qualità dell'acqua e di funzionalità fluviale via via peggiori. Il risultato di questa selezione è presentato in tabella 15, dove i siti prescelti sono in neretto (una breve descrizione dei siti è fornita nel paragrafo sull'area di studio). Le informazioni derivanti dai 3 indici LIM, IFF e LUI sono state riassunte sommandone i punteggi totali dopo averli relativizzati rispetto al loro intervallo di valori.

Tabella 15. Combinazione dei valori degli indici applicati sui siti a substrato siliceo espressi come punteggi adimensionali (codici in tab. 2; in neretto le stazioni selezionate; Rif: siti di riferimento)

Table 15. Combination of siliceous site index values expressed through adimensional sum of applied indices (codes as in tab.2; in bold characters they are reported the selected sites; Rif: reference sites)

Sito	Somma adimensionale Indici	Sito	Somma adimensionale Indici
VI46 (Rif)	2,595	SV22	1,097
FU52	2,421	TO9	1,095
CR5 (Rif)	2,360	AR104	1,076
VA28 (Rif)	2,315	RT97	1,070
SV24	2,143	CZ35	1,063
FU51	1,999	VN40	1,057
TO2	1,982	VN39	1,044
SM25	1,935	CR47	1,039
CR8	1,807	MG82	1,023
SV23	1,783	CZ36	1,022
RE74	1,772	I10	0,999
CR6	1,696	RT93	0,987
CR7	1,640	AR63	0,978
TO1	1,632	VN38	0,977
SB43	1,565	AL70	0,965
AR27	1,497	CZ85	0,957
CZ34	1,475	CZ37	0,913
AR60	1,457	I91	0,912
SB44	1,453	SE88	0,890
TO3	1,443	MG80	0,860
MF11	1,410	CZ86	0,840
SM26	1,394	MG83	0,829
CR48	1,332	MF94	0,812
CA79	1,321	MF95	0,812
AR55	1,316	MG81	0,798
TO4	1,270	TS33	0,759
O72	1,221	I92	0,707
VA29	1,215	CZ87	0,706
VN96	1,208	MG84	0,668
VN41	1,186	TS32	0,593
MF12	1,183	TS31	0,578
MG42	1,130	TS30	0,556
PR90	1,120		

3.2 Risultati dello studio dei 15 siti selezionati

3.2.1 Risultati chimici, fisico-chimici, microbiologici

Le analisi fisico-chimiche, chimiche e microbiologiche delle acque dei corsi d'acqua sono state ripetute in concomitanza con i campionamenti del macrozoobenthos di tutte e tre le stagioni (autunno, inverno e primavera) per acquisire informazioni sulla qualità delle acque utili ad interpretare i risultati biologici. Nelle seguenti tabelle 16, 17 e 18 vengono presentate delle sintesi dei risultati ottenuti

Tabella 16. Sintesi dei valori ottenuti per le variabili ambientali dai campionamenti autunnali
Table 16. Summary of autumn environmental variable values

Variabile ambientale	Media	Deviazione standard	Valore minimo	Valore massimo
Saturazione O ₂ (%)	74,13	15,05	36,00	100,00
BOD5 (mg/L)	4	3	1	10
COD (mg/L)	18,73	8,16	9,00	30,00
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,82	1,29	0,00	4,44
NO ₃ ⁻ (mg/L)	6,02	5,87	1,01	25,00
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	1,59	1,90	0,00	7,15
<i>Escherichia coli</i> (UFC/100mL)	8301	13194	0	38000

Tabella 17. Sintesi dei valori ottenuti per le variabili ambientali dai campionamenti invernali
Table 17. Summary of winter environmental variable values

Variabile ambientale	Media	Deviazione standard	Valore minimo	Valore massimo
Saturazione O ₂ (%)	72,47	12,72	44,00	88,00
BOD5 (mg/L)	6	3	1	13
COD (mg/L)	22,40	11,68	8,00	45,00
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,83	1,07	0,00	4,00
NO ₃ ⁻ (mg/L)	7,32	5,49	2,90	25,00
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	1,34	1,17	0,00	3,62
<i>Escherichia coli</i> (UFC/100mL)	11298	14920	0	43000

Tabella 18. Sintesi dei valori ottenuti per le variabili ambientali dai campionamenti primaverili
Table 18. Summary of spring environmental variable values

Variabile ambientale	Media	Deviazione standard	Valore minimo	Valore massimo
Saturazione O ₂ (%)	71,40	10,84	43,00	84,00
BOD5 (mg/L)	4	3	1	12
COD (mg/L)	20,05	10,68	6,00	38,00
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,75	1,39	0,00	5,20
NO ₃ ⁻ (mg/L)	8,65	6,11	3,47	25,00
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	1,49	1,09	0,00	3,62
<i>Escherichia coli</i> (UFC/100mL)	15265	23687	0	84000

I risultati non mostrano un andamento stagionale definito. L'applicazione del test di Friedman conferma la mancanza di una differenza statisticamente significativa tra le tre stagioni di campionamento (X^2 campionario = 0,89, X^2 soglia = 5,99 per $p < 0,05$). Si tratta in generale di dati coerenti con una situazione non ottimale del chimismo delle acque, soprattutto riguardo i valori relativi ai nutrienti: emblematici a questo proposito i valori minimi della concentrazione dello ione nitrato, che in tutte le stazioni di campionamento non risultano mai al di sotto della soglia della seconda classe di qualità rispetto agli intervalli proposti nell'indice LIM (tabella 5). Questa condizione di generale alterazione emerge anche dalla classificazione dei campioni d'acqua in base a tutte le variabili ambientali, ottenuta con l'applicazione di una *cluster analysis* usando come misura di similarità l'opposto della distanza Euclidea. La figura 15 mostra il risultato di questa analisi con un albero di classificazione. Lo schema separa nettamente solo i siti in aree urbanizzate e fortemente urbanizzate da tutte le altre, tra le quali non sono distinguibili gruppi che abbiano un vero significato ecologico.

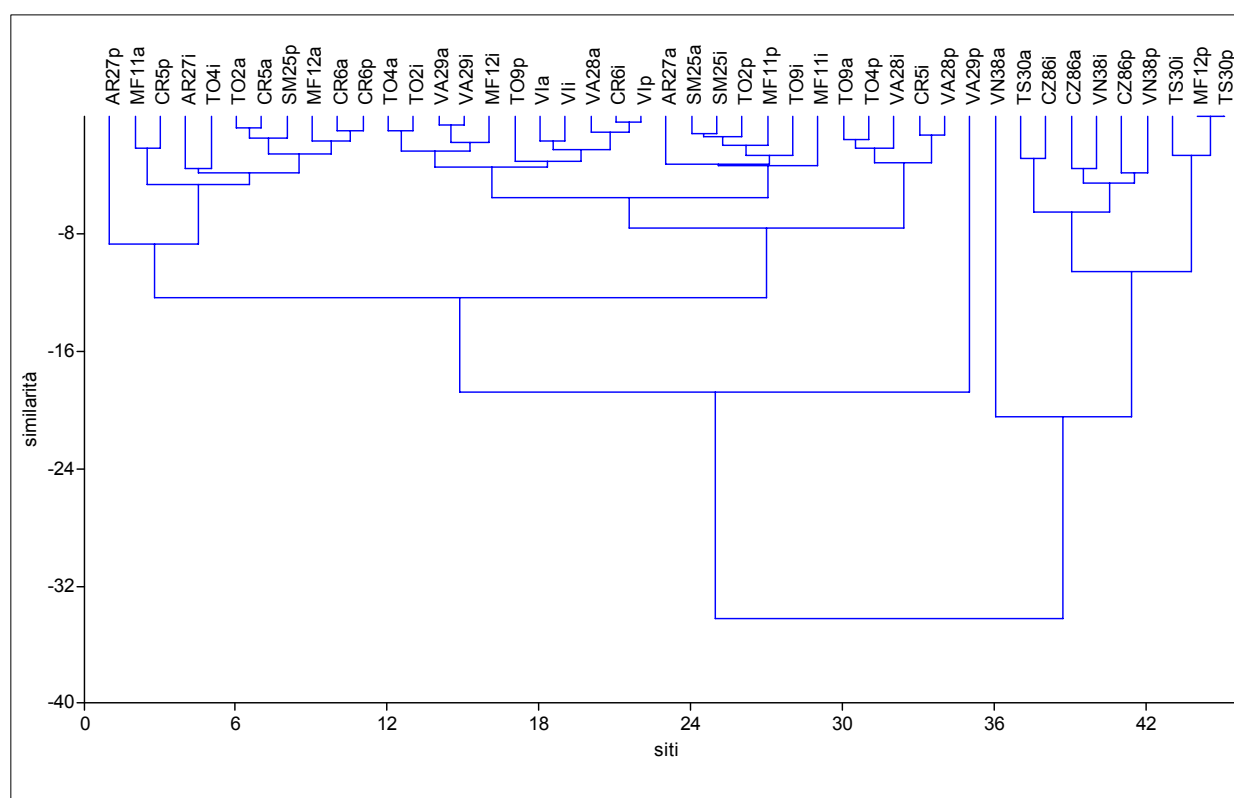


Figura 15. Classificazione dei siti in base ai valori dei parametri analizzati nell'acqua (codici in tab. 2 con suffisso a,i,p: campioni autunno, inverno e primavera)

Figure 15. Cluster analysis of sites, based on water parameters (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

3.2.2 Caratterizzazione dei siti in base ai microhabitat campionati

Sulla base dei dati relativi alle tipologie di microhabitat campionati in ciascun sito per la raccolta dei macroinvertebrati è stata effettuata una caratterizzazione dei siti in relazione al substrato. I

dati, espressi in frequenze, sono stati trasformati secondo l'arcoseno della radice quadrata del valore ed è stata eseguita un'Analisi delle Componenti Principali. L'ordinamento ottenuto è riportato in figura 16. La prima e la seconda componente di variabilità spiegano rispettivamente il 31% ed il 21% della varianza campionaria complessiva.

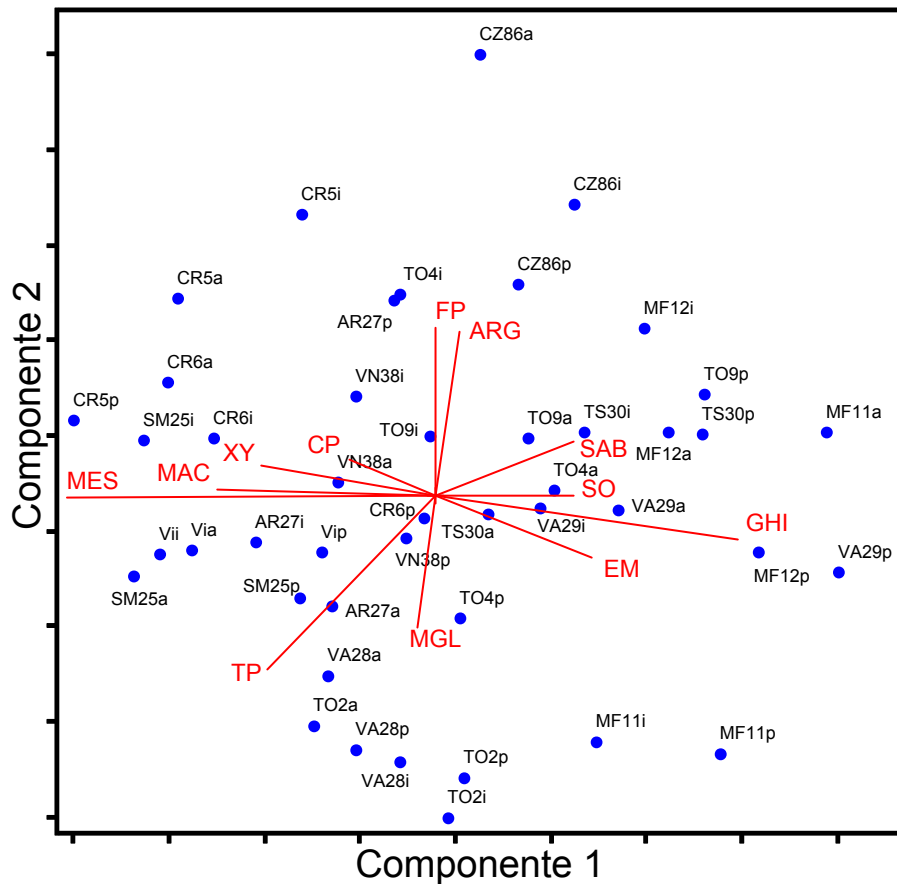


Figura 16. Ordinamento PCA per composizione in microhabitat nei 15 siti selezionati (codici in tab.2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; CP1: 31% varianza totale, CP2: 21% varianza totale)

Figure 16. PCA scatter on microhabitat composition of selected sites' substratum (codes as in tab. 2. Suffices a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; PC1: 31% total variance, PC2 21% total variance)

La visualizzazione del *biplot* relativo al modo in cui le frequenze dei diversi microhabitat influenzano l'ordinamento lungo i due assi di variabilità principali aiuta a interpretare la distribuzione dei siti. Ne emerge una preponderanza, nei siti localizzati in ambienti a diversi livelli di urbanizzazione (disposti nella zona in alto a destra del grafico) di microhabitat minerali a grana fine e molto fine, come l'argilla (ARG) e la sabbia (SAB), e di depositi di sostanza organica finemente particolata (FP). Viceversa nei siti in condizioni naturali, nella sinistra dell'ordinamento, i microhabitat tipici risultano essere i substrati pietrosi (MES, MAC), le radici sommerse delle piante terrestri (TP) e materiale legnoso grossolano (XY). Questa distribuzione è in accordo con il fatto che in aree in cui l'opera di trattenimento del sedimento da parte degli

alberi non ha più luogo per il taglio della vegetazione spondale, il dilavamento del suolo trasporta nei corsi d'acqua grandi quantità di particelle minute, operando un banalizzazione dei substrati, con la dominanza di microhabitat meno adatti allo sviluppo di comunità macrobentoniche diversificate (come appunto la sabbia e l'argilla).

3.2.3 Caratterizzazione delle comunità di macroinvertebrati

Nel corso dei tre periodi di campionamento sono stati raccolti complessivamente 66349 individui, per un totale di 93 taxa, riconosciuti il 70% a livello di famiglia (29 famiglie), l'8% a livello di genere (33 generi) e il 22% a livello di specie (31 specie), appartenenti a 15 gruppi zoologici principali (tabella 19). La classe degli Insetti ha mostrato la più elevata diversificazione con 77 taxa (82% della fauna totale), la maggior parte dei quali appartenente all'ordine degli Ephemeroptera (17 taxa), dei Trichoptera (14 taxa) e dei Diptera (14 taxa). Meno rappresentati gli ordini degli Odonata (10), dei Coleoptera (9), dei Plecoptera (6), degli Heteroptera (6) e dei Megaloptera (1). Per quanto riguarda le altre classi, Mollusca e Oligochaeta hanno mostrato le ricchezze tassonomiche maggiori con 7 e 5 unità sistematiche rispettivamente. I gruppi più frequenti sono risultati i Diptera e gli Oligochaeta, presenti in tutti i campioni, immediatamente seguiti dagli Ephemeroptera assenti in soli 4 campioni. Odonata, Trichoptera, Gastropoda, Amphipoda, Isopoda e Coleoptera sono stati rinvenuti in più della metà dei campioni. Solo Heteroptera e Megaloptera sono stati rinvenuti in meno del 20% dei campioni (figura 17).

Per quanto riguarda i Diptera, sono state identificate 14 famiglie, tra le quali quella dei Chironomidae e quella dei Simuliidae hanno presentato le maggiori frequenze, essendo state ritrovate rispettivamente nel 100% e nel 86% dei campioni raccolti. Questi organismi sono anche tra i più abbondanti in termini numerici: i Chironomidae sono i primi in assoluto nella comunità macrobentonica (34885 individui) e i Simuliidae i quarti con 3394 individui, dopo Tubificidae (3987) e Gammaridae (3524). Tra le altre famiglie di Diptera, i Ceratopogonidae sono risultati piuttosto frequenti (46% dei campioni), ma non molto abbondanti (in media circa 8 individui/m² nei siti in cui sono stati rinvenuti).

Tra gli Oligochaeta, presenti in tutti i campioni raccolti, la famiglia della quale è stato ritrovato il maggior numero di individui è quella dei Tubificidae (3987 individui, con una densità media di 182 individui/m²), seguita da quella dei Naididae (21 individui/m²) e quella dei Lumbricidae (5 individui/m²). Meno rappresentate le famiglie dei Lumbriculidae e degli Haplotaxidae (questi ultimi solo occasionali).

Gli Ephemeroptera, con 13417 individui raccolti, sono risultati il terzo gruppo più abbondante dopo i Diptera e gli Oligochaeta. Sono stati rinvenuti 11 generi di questo ordine, dei quali i più abbondanti sono risultati i generi *Baetis* (8248 individui, con in media 402 individui/m²) e *Caenis* (2774 individui con in media 180 individui/m²), seguiti da *Ecdyonurus* (1309 individui) e *Serratella* (621 individui). Solo occasionale è risultato invece il genere *Cloeon*. Il genere *Oligoneuriella* è stato ritrovato solamente durante la stagione primaverile (in 4 siti).

Tra gli altri Insetti, anche Trichoptera, Odonata e Coleoptera sono stati raccolti frequentemente (>60% dei campioni), con un discreto numero di taxa (14, 10 e 9 rispettivamente). Tra i Trichoptera la famiglia più abbondante in assoluto è quella degli Hydropsychidae (1755 individui), seguita dai Sericostomatidae e dai Lepidostomatidae (72 e 61 individui raccolti). Solo occasionale è risultata la famiglia degli Hydroptilidae. Tra gli Odonati la famiglia più abbondante e frequente è quella dei Calopterygidae (236 individui distribuiti in 19 campioni) seguita dai Gomphidae (con il genere *Onychogomphus* raccolto in 13 campioni con 110 individui).

Per quanto concerne le altre classi, i molluschi Gastropoda, gli anellidi Oligochaeta e i crostacei Decapoda sono quelli che hanno presentato le maggiori frequenze di rinvenimento e le maggiori abbondanze assolute.

Raggruppando i campioni raccolti, sulla base delle categorie indicative di uso del suolo utilizzate per la selezione dei siti di campionamento, sono stati costruiti dei diagrammi circolari per visualizzare il cambiamento delle abbondanze relative medie dei vari gruppi zoologici principali (figura 18). Quel che emerge nettamente è l'aumento dell'abbondanza relativa dell'ordine dei Diptera nella composizione media dei campioni, mentre gruppi come gli Ephemeroptera, i Trichoptera e gli Amphipoda, numericamente preponderanti e comunque ben rappresentati in condizioni di naturalità, tendono a diminuire fin quasi a venire a mancare nelle aree soggette a maggiore urbanizzazione. Gli Oligochaeta mantengono abbondanze relative medie stabili in tutti i gruppi di campioni, anche se nelle aree fortemente urbanizzate costituiscono, insieme con i Diptera, quasi la totalità delle comunità. Gruppi minori, come i Coleoptera e gli Odonata, si mantengono costantemente con abbondanze relative molto basse, quasi scomparendo nelle aree urbanizzate. Per quanto riguarda i Plecoptera, infine, questi organismi hanno significative abbondanze relative medie nelle aree a maggiore naturalità (11% nelle aree naturali, 3% nelle aree miste tra bosco e agricoltura), ma scompaiono pressoché completamente nelle altre categorie d'uso del suolo.

Tabella 19. Elenco dei principali gruppi zoologici con il numero di unità sistematiche identificate e il numero di campioni in cui sono stati reperiti.

Table 19. List of taxonomical groups, with the number of systematic units identified and the number of sites in which they were found.

Gruppi zoologici	Numero di taxa	Numero di campioni	Abbondanza %		
			Media	Minima	Massima
PLECOPTERA	6	26	2,05	0,00	14,83
EPHEMEROPTERA	17	45	25,12	0,00	76,29
TRICHOPTERA	14	37	4,33	0,00	23,36
COLEOPTERA	9	32	1,59	0,00	8,18
ODONATA	10	38	0,88	0,00	4,21
DIPTERA	14	45	47,83	2,42	96,40
HETEROPTERA	6	9	0,03	0,00	0,55
MEGALOPTERA	1	5	0,03	0,00	0,50
GAMMARIDAE	1	34	6,95	0,00	37,91
ASELLIDAE	1	33	1,51	0,00	19,39
GASTROPODA	6	35	1,21	0,00	6,55
BIVALVIA	1	10	0,13	0,00	3,28
TURBELLARIA	1	24	1,15	0,00	8,68
HIRUDINEA	2	23	0,29	0,00	3,72
OLIGOCHAETA	5	44	6,90	0,19	25,24

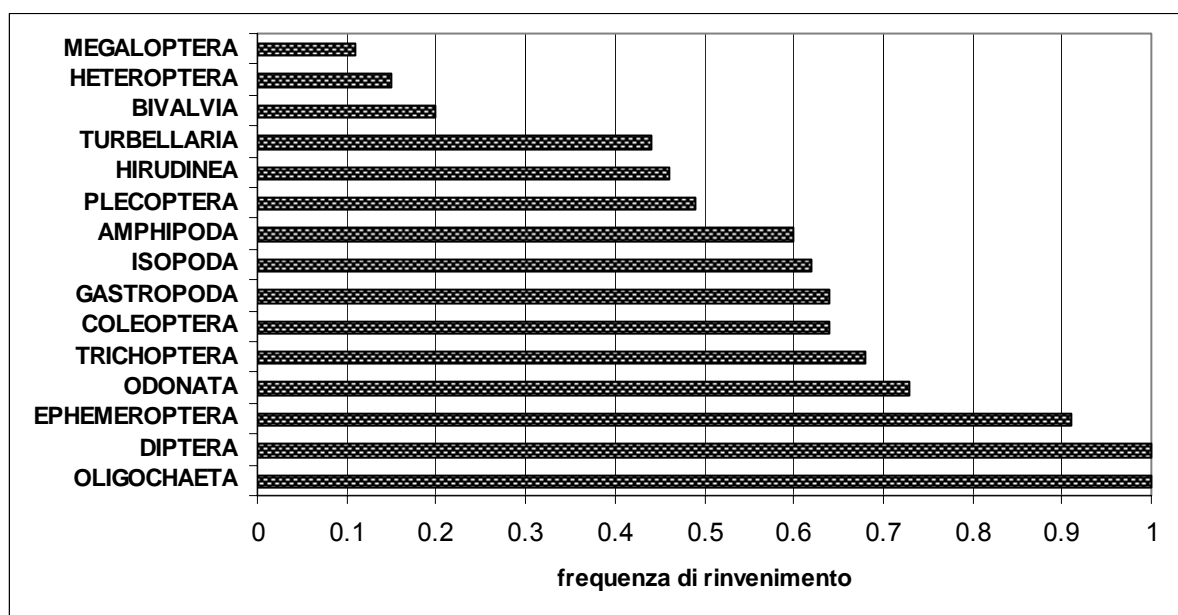


Figura 17. Frequenze di rinvenimento dei gruppi zoologici principali.
Figure 17. Collecting frequencies of major zoological groups

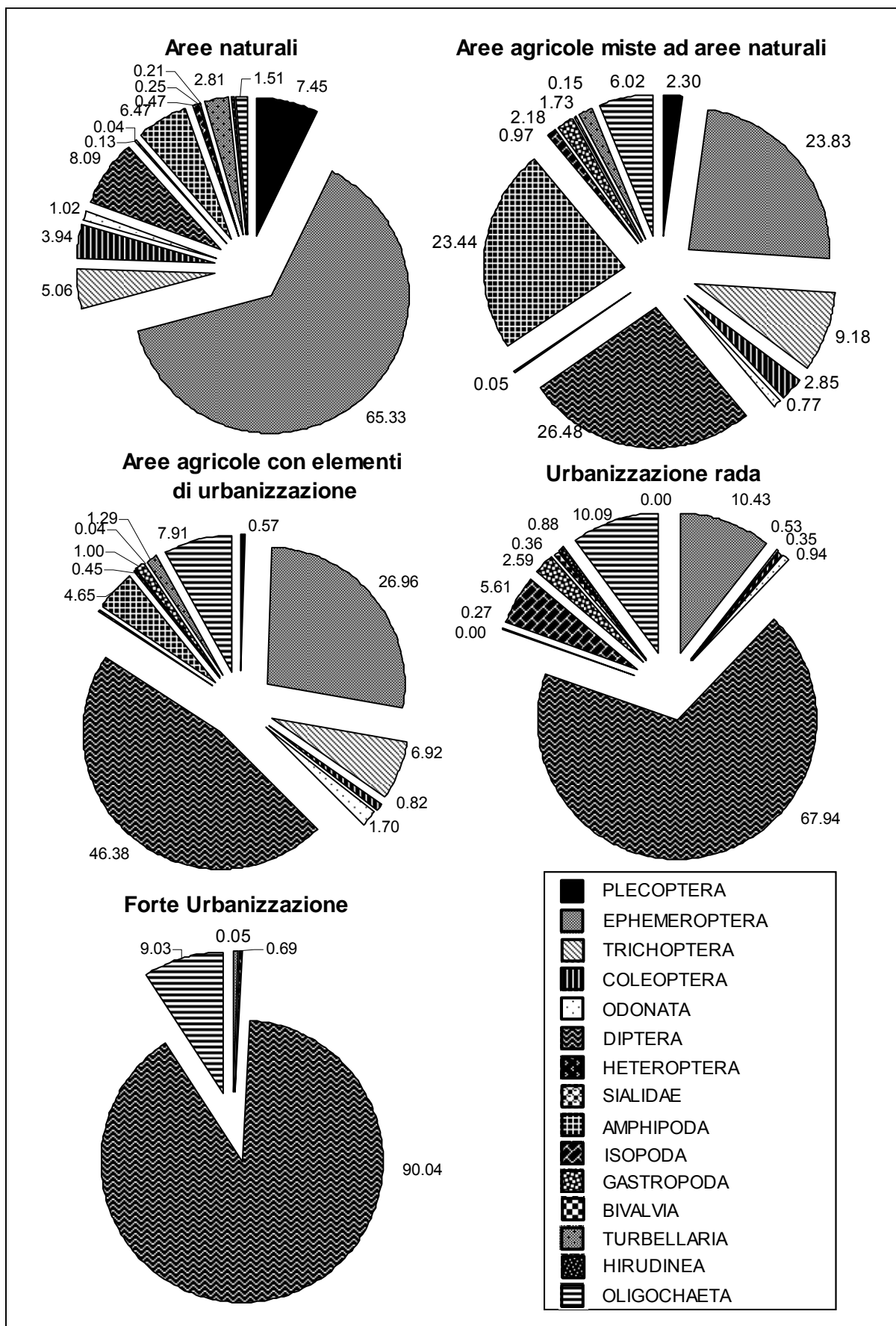


Figura 18. Abbondanze relative medie totali dei principali gruppi zoologici in diverse tipologie d'uso del suolo

Figure 18. Total average relative abundances of major zoological groups in different land use typologies

3.3 Sviluppo del Metodo multimetrico

3.3.1 Ordinamento e classificazione ecologica dei campioni (post-classificazione)

I dati di struttura di comunità relativi ai macroinvertebrati raccolti con il metodo multi-habitat proporzionale nelle tre stagioni di campionamento effettuate (autunno 2007, inverno 2008 e primavera 2008, indicati rispettivamente con una “a”, una “i” ed una “p” accanto al codice del sito) sono stati analizzati con tecniche di analisi multivariata (PCA e TWINSpan) per dare una classificazione ecologica dei campioni (detta post-classificazione per distinguerla dalla pre-classificazione abiotica fatta nella scelta dei siti). L’utilizzo della PCA è stato possibile avendo appurato che l’ampiezza dell’intervallo di valori lungo l’asse 1 di una DCA è, per i dati utilizzati, inferiore a 3. Nella figura 19 viene presentato il grafico relativo all’ordinamento PCA ottenuto, mentre le correlazioni dei tre assi di variazione principale con le variabili fisico-chimiche e microbiologiche sono presentate in tabella 20. La figura 20 riporta invece i risultati dei raggruppamenti effettuati dall’analisi TWINSpan.

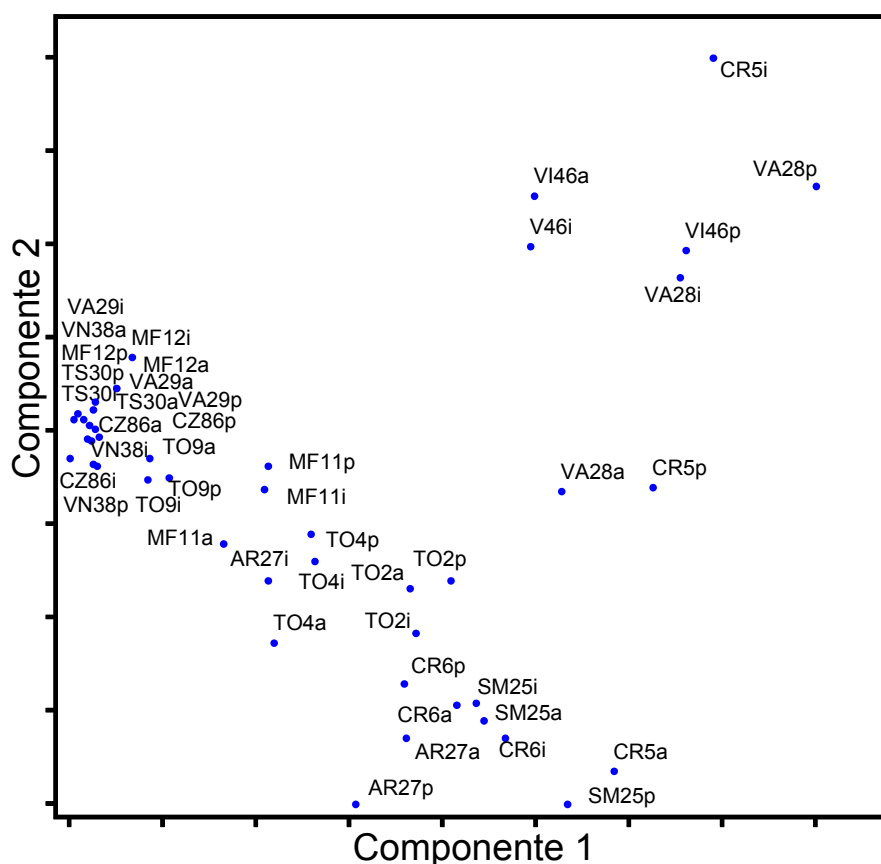


Figura 19. Ordinamento PCA su dati di struttura dei campioni di macroinvertebrati (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; Asse1: 36% varianza totale; Asse2: 16% varianza totale)

Figure 19. PCA plot on quantitative macroinvertebrate community data (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; Axis1: 36% total variance, Axis2: 16% total variance)

Tabella 20. Correlazioni (ρ di Spearman) tra i valori degli assi della PCA sui campioni di macroinvertebrati e le variabili ambientali analizzate (in neretto le correlazioni con significatività per $p < 0,01$)

Table 20. Correlation (Spearman's ρ) among sample PCA scores and environmental variables analyzed (significance for $p < 0,01$ in bold)

	Sat, O ₂	BOD ₅	COD	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	<i>E. coli</i>	LUI
CP1	0,45	-0,73	-0,48	-0,57	-0,33	-0,69	-0,76	-0,79
CP2	0,05	0,07	-0,19	0,23	-0,16	-0,13	0,08	-0,02
CP3	-0,15	0,37	0,38	0,48	-0,08	0,29	0,17	0,19

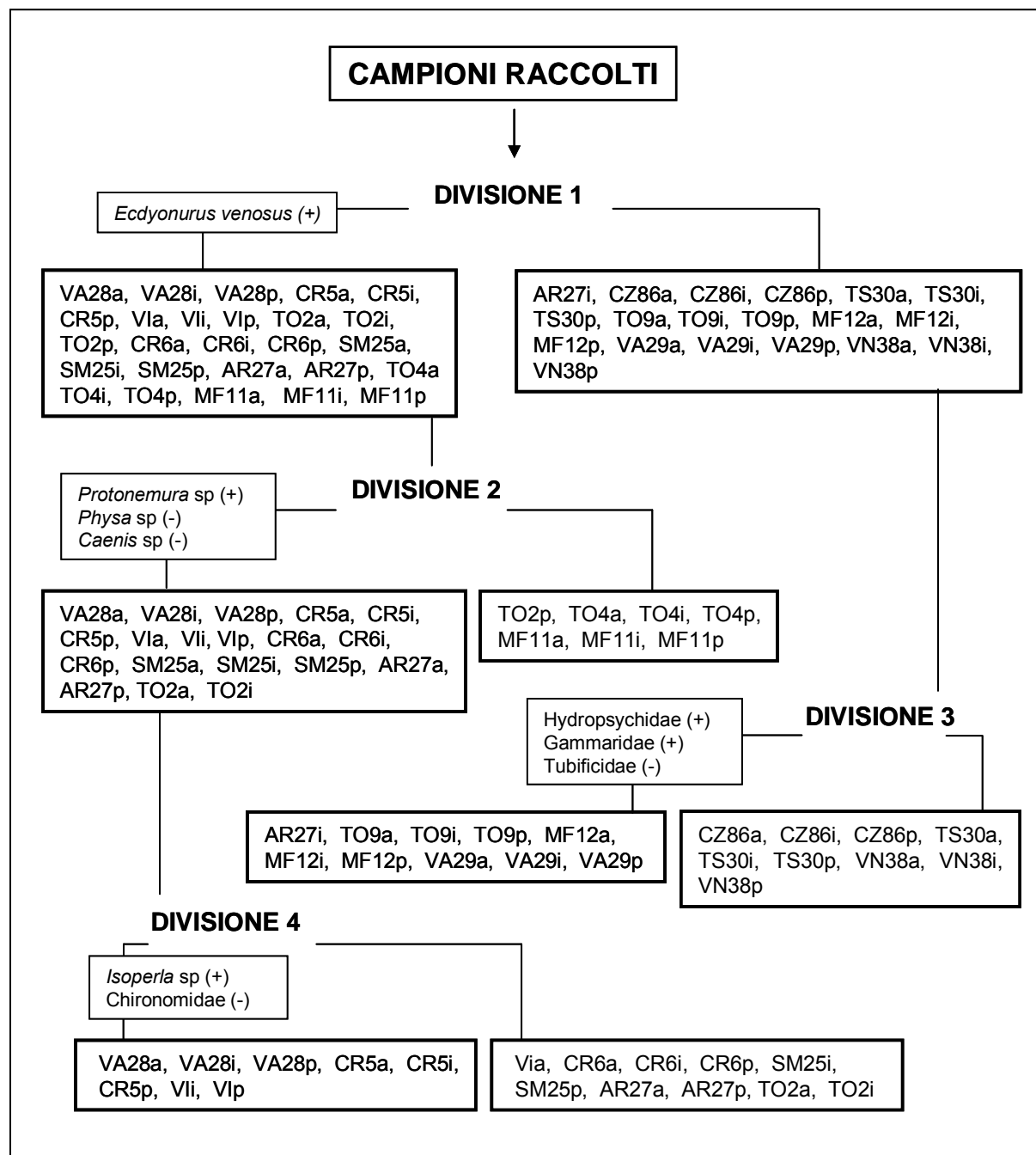


Figura 20. Analisi delle specie indicatrici a due vie, TWINSpan, sui campioni di macroinvertebrati (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)

Figure 20. Two-way indicator species analysis, TWINSpan, on macroinvertebrate samples (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

I valori del coefficiente “ ρ di Spearman” applicato tra le coordinate dei campioni lungo gli assi della PCA da una parte e le relative variabili ambientali e indici di sintesi del chimismo e dell’uso antropico del suolo dall’altra mostrano una forte correlazione del primo asse di variabilità con la domanda biologica di ossigeno ($\rho_s = -0,73$; $p < 0,01$), gli ioni ortofosfato ($\rho_s = -0,69$; $p < 0,01$), la concentrazione di *Escherichia coli*, e l’indice LUI ($\rho_s = -0,79$; $p < 0,01$). Questo risultato evidenzia come la principale componente di variabilità dei campioni di macroinvertebrati sia legata al gradiente qualitativo della matrice acquosa e alle condizioni d’uso del suolo. Per quanto riguarda la seconda e la terza componente non emergono dalle correlazioni con le analisi effettuate dei chiari significati ecologici.

Il risultato dell’Analisi delle specie indicatrici a due vie, la cui sintesi è presentata in figura 20, mostra la divisione in 5 gruppi dei campioni analizzati in base alla presenza e all’abbondanza di alcune specie. La prima divisione ha separato i campioni dei siti in buone condizioni e quelli in condizione intermedia da tutti i siti interessati da urbanizzazione; la seconda divisione all’interno del primo gruppo ha separato i siti in condizioni buone (compresi i siti di riferimento) da quelli in condizioni intermedie. La quarta divisione ha separato i siti di riferimento dai siti buoni ma non di riferimento. La quinta divisione ha separato infine, i siti in condizioni di forte urbanizzazione da quelli in situazioni meno compromesse. L’analisi TWINSpan ha evidenziato anche la distribuzione dei taxa nei siti: si osserva che alcuni macroinvertebrati si trovano solo nei siti di qualità superiore (*Isoperla* sp.); *Protonemura* sp. si trova esclusivamente nei primi due gruppi, mentre *Serratella* sp. si trova anche nel terzo gruppo, ma presenta una preferenza per i siti che rientrano nel primo e nel secondo gruppo; Gammaridae, Asellidae, Tubificidae, Lumbricidae, Ceratopogonidae e Chironomidae sono presenti in tutti i siti, anche se con abbondanze differenti. I taxa indicatori, segnalati in figura 20 a monte di ciascuno dei primi gruppi ottenuti dalle dicotomie, sono accompagnati dal segno “+” quando portano all’inclusione di un campione nel gruppo sottostante, e con un “-” quando invece spingono per l’inclusione nell’altro.

Per far sì che le coordinate lungo il primo asse della PCA fossero comprese tra 0 e 1 (e quindi più facilmente rappresentabili), le coordinate ottenute sono state normalizzate con la seguente formula:

$$\text{coordinata normalizzata} = (x_i - \text{valore minimo}) / (\text{valore massimo} - \text{valore minimo})$$

Sulla base del grafico in figura 21, che integra l’ordinamento dei siti lungo l’asse 1 di variazione ottenuto con la PCA e i raggruppamenti ottenuti con l’analisi TWISpan, è stata ottenuta una

classificazione dei siti in base alle comunità di macroinvertebrati (post-classificazione), riportata nella tabella 21, da utilizzare nella successiva selezione delle migliori metriche descrittive del gradiente di qualità nelle comunità e nei rispettivi siti.

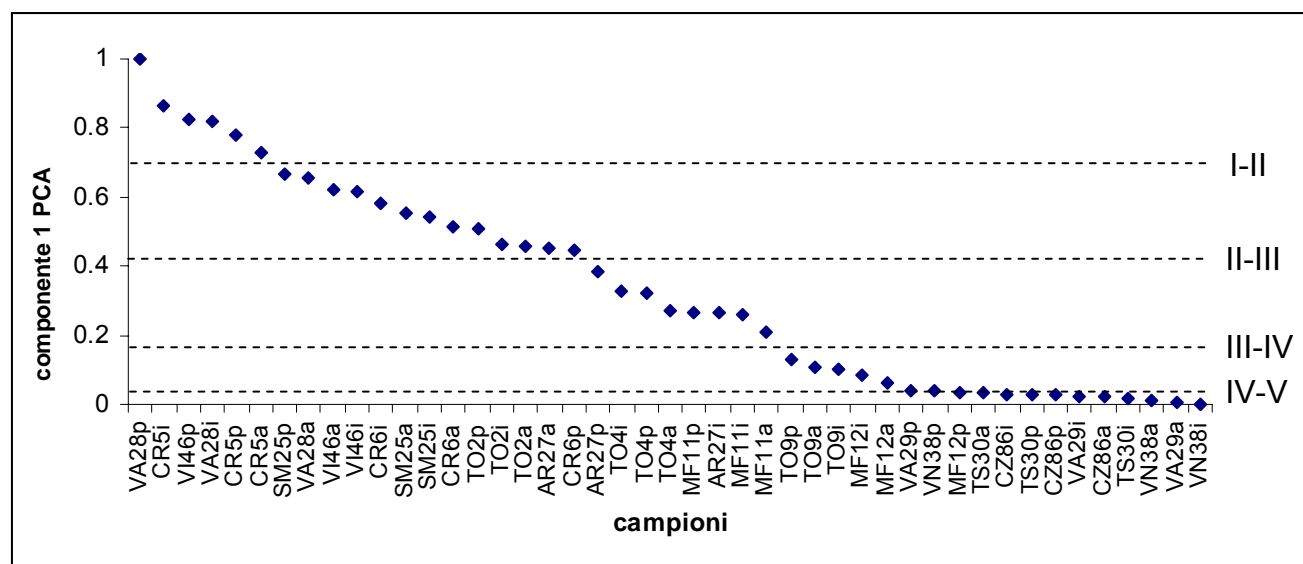


Figura 21. Integrazione dei risultati della PCA e dell'analisi TWISpan (classi I-V) per la classificazione dei siti (I-II: soglia tra prima e seconda classe; II-III: soglia tra seconda e terza classe; III-IV: soglia tra terza e quarta classe; IV-V: soglia tra quarta e quinta classe; codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)

Figure 21. Combination of PCA and TWISpan analysis results for site classification (I-II: threshold between first and second class; II-III: threshold between second and third class; III-IV: threshold between third and fourth class; IV-V threshold between fourth and fifth class; codes as in tab.2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

In generale nell'attribuzione dei campioni ad una classe è stata data la priorità ad i raggruppamenti ottenuti con l'analisi TWISpan. Un'eccezione riguarda il sito VI46i, classificato in seconda classe nonostante l'attribuzione alla prima da parte della TWISpan, a causa del basso punteggio presentato lungo l'asse 1 della PCA (come detto correlato alla qualità). Inoltre il sito AR27i è stato escluso dalle analisi successive perché presenta una classificazione eccessivamente discordante tra le due tecniche. Entrambe le eccezioni potrebbero essere giustificate da aberrazioni nella struttura di comunità legate alle forti piogge verificatesi nel periodo precedente al campionamento nell'inverno del 2007-2008 nella zona del lago di Bracciano. Per l'attribuzione dei campioni alla quarta e alla quinta classe si è proceduto attribuendo alla quarta classe il primo campione dell'ordinamento PCA che fosse raggruppato nel quarto gruppo dall'analisi TWISpan e tutti i successivi, fino al primo campione raggruppato nel quinto gruppo TWISpan, dal quale in poi tutti i campioni sono stati assegnati alla quinta classe.

Tabella 21. Classificazione ecologica dei siti (post-classificazione, TWN-CP1) prodotta integrando il punteggio della componente 1 della PCA (CP1) e dell'analisi TWINSPAN (TWN) (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)

Table 21. Ecological classification (post-classification, TWN-CP1) obtained through the combination of PCA scores (CP1) and TWINSPAN groups (TWN) (codes as in tab. 2. Suffix a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

Sito	Punteggio CP1	Gruppo TWS	Classe CP1-TWN	Sito	Punteggio CP1	Gruppo TWS	Classe CP1-TWN	Sito	Punteggio CP1	Gruppo TWS	Classe CP1-TWN
VA28p	1.00	1	1	TO2i	0.46	2	2	MF12i	0.09	4	4
CR5i	0.86	1	1	TO2a	0.45	2	2	MF12a	0.06	4	4
VI46p	0.82	1	1	AR27a	0.45	2	2	VA29p	0.04	4	4
VA28i	0.82	1	1	CR6p	0.45	2	2	MF12p	0.04	4	4
CR5p	0.78	1	1	AR27p	0.38	2	2	VN38p	0.04	5	5
CR5a	0.73	1	1	TO4p	0.35	3	3	TS30a	0.03	5	5
SM25p	0.67	2	2	TO4i	0.33	3	3	CZ86p	0.03	5	5
VA28a	0.66	1	1	TO4a	0.27	3	3	CZ86i	0.03	5	5
VI46a	0.62	2	2	AR27i	0.27	4	-	TS30p	0.03	5	5
VI46i	0.61	1	2	MF11p	0.27	3	3	VA29i	0.03	4	5
CR6i	0.58	2	2	MF11i	0.26	3	3	CZ86a	0.02	5	5
SM25a	0.56	2	2	MF11a	0.21	3	3	TS30i	0.02	5	5
SM25i	0.55	2	2	TO9p	0.13	4	4	VN38a	0.01	5	5
CR6a	0.52	2	2	TO9a	0.11	4	4	VA29a	0.01	5	5
TO2a	0.51	2	2	TO9i	0.10	4	4	VN38i	0.00	5	5

3.3.2 Selezione delle metriche

Sui dati di struttura di comunità di tutti i campioni raccolti sono stati calcolati i valori delle metriche presentate in “Materiale e metodi”. Si è quindi proceduto, sulla base dei valori ottenuti, a selezionare quelle che fra di esse meglio descrivessero il gradiente di qualità ambientale individuato con la post-classificazione sui dati biologici.

Il primo passo nel processo di selezione delle metriche ha previsto il calcolo della correlazione (ρ di Spearman) tra i valori assunti dalle metriche e le coordinate del primo asse della PCA. Solo le metriche con $\rho > 0,6$ ($p < 0,01$) sono state prese in considerazione. In tabella 22 sono riassunte le metriche che hanno mostrato una correlazione $\rho > 0,6$ e il relativo valore di correlazione con il primo asse di variazione della PCA (CP1).

Tabella 22. Correlazione (ρ di Spearman) tra i valori delle metriche calcolate e i punteggi della componente principale di variazione dei dati di comunità del macrobenthos (sono considerate le metriche con $\rho > 0,6$)

Table 22. Spearman's ρ correlation values between metrics scores and first PCA component score on macroinvertebrate community data (only metrics with $\rho > 0.6$ are considered)

Metrica	Correlazione con CP1
Indice BMWP'	0,964
Numero fam. Ephemeroptera e Plecoptera	0,950
Numero taxa a livello IBE	0,947
Indice di Margalef per famiglie	0,945
Numero totale famiglie	0,940
1-GOLD	0,940
Numero famiglie di Trichoptera	0,936

continua

segue

Metrica	Correlazione con CP1
Abbondanza % Oligochaeta e Diptera	-0,935
Indice ASPT	0,929
Shannon per famiglie	0,926
Numero unità sistematiche IBE valide	0,908
log(SelEPTD+1)	0,904
Num. famiglie EPT/Num. totale famiglie	0,882
% organismi EPT	0,881
Numero generi di Plecoptera	0,855
Eveness-Equitabilità per famiglie	0,849
Numero famiglie EPT	0,824
IBE	0,804
Abbondanza % Ephemeroptera e Plecoptera	0,787
Abbondanza relativa dei Plecoptera	0,768
Abbondanza % Trichoptera	0,653
% fam. Ephemeroptera e Plecoptera	0,635

Per tutte le metriche che hanno ottenuto $p > 0,6$ è stata fatta un'analisi visiva della loro risposta lungo il gradiente attraverso grafici di dispersione (riportati in Appendice 2a) rappresentanti i siti ordinati secondo il punteggio assegnato loro sul primo asse della PCA, indicato come CP1; ciò ha permesso di studiare la risposta di ciascuna metrica per quanto concerne i criteri di gradualità, variabilità e linearità. Il passo successivo ha visto l'utilizzo di grafici *box-plot* (riportati in Appendice 2b) per studiare l'andamento delle stesse metriche nei diversi gruppi di campioni raggruppati secondo le classi di qualità ottenute con la post-classificazione (PCA e TWINSPAN). E' stato così valutato il livello di sovrapposizione nella distribuzione dei valori di ogni metrica tra le diverse classi, per selezionare quelle con la maggiore capacità nel distinguere tra le varie classi di qualità. Infine le metriche sono state selezionate in base all'efficacia nel separare alcune specifiche classi dalle altre. Le metriche che hanno risposto meglio a tutti i criteri di scelta sono state:

- Numero di taxa (riconosciuti a livello IBE), una misura di ricchezza tassonomica
- Indice di Margalef, una misura di ricchezza tassonomica/diversità
- Equitabilità/Eveness, una misura di ricchezza tassonomica/diversità
- 1-GOLD, una metrica di composizione
- Abbondanza relativa di Plecoptera, una metrica di composizione
- Indice BMWP', un indice di sensibilità/tolleranza

In Appendice 3 vengono riportate le metodologie di calcolo delle 6 metriche e ne viene fornita una presentazione. Le figure 22, 23, 24, 25, 26 e 27 presentano i grafici di dispersione dei valori delle metriche rispetto all'asse principale della PCA (CP1) e i grafici *box plot* relativi ai valori delle metriche per le cinque classi ottenute dall'integrazione della TWINSPAN con la PCA.

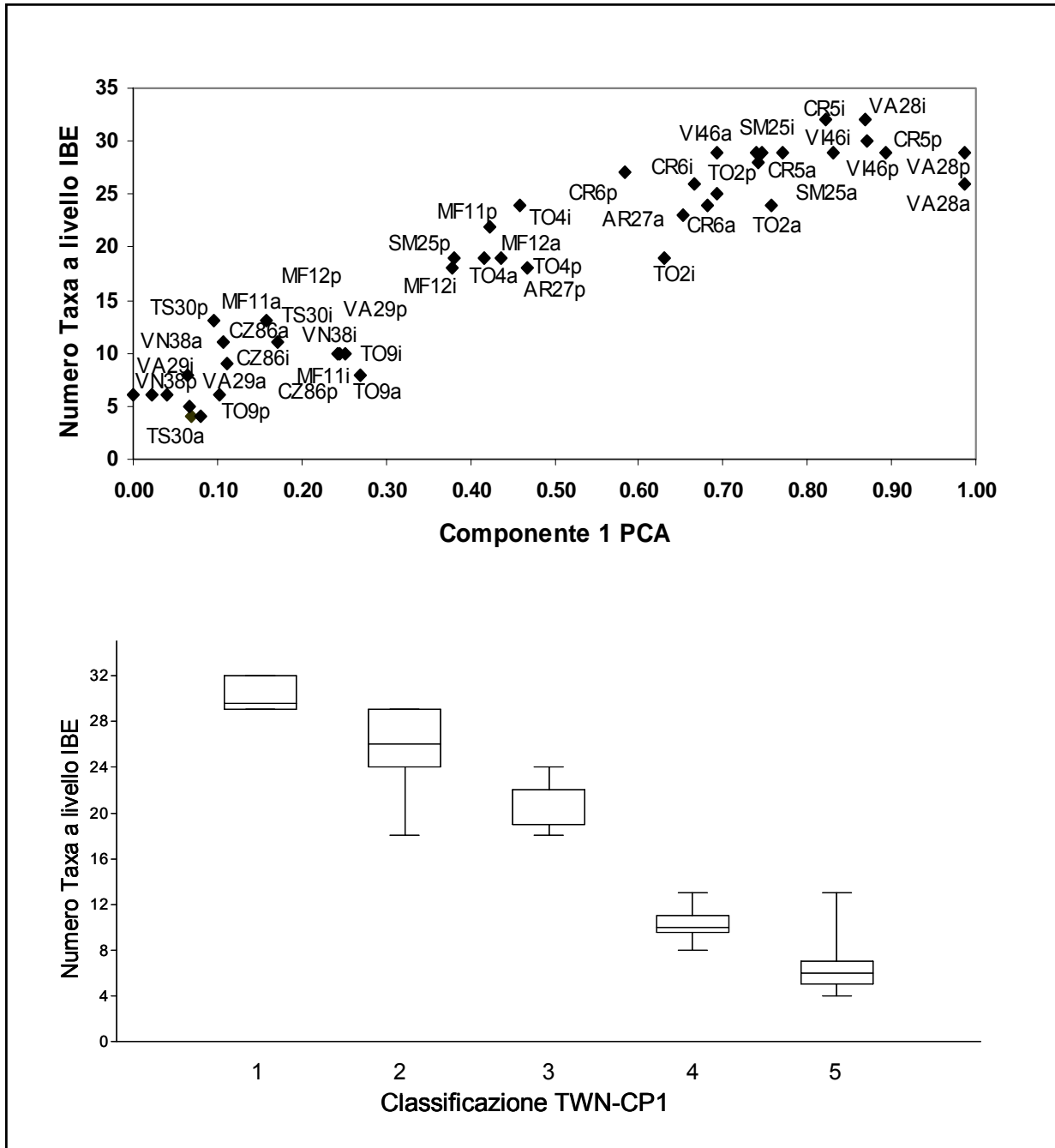


Figura 22. Grafico di dispersione e *box-plot* relativi alla metrica “Numero totale di Taxa Livello IBE” (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; *box-plot*: massimo, 75° percentile, mediana, 25° percentile, minimo)

Figure 22. Dispersion and box-plot graphs for the metric “Total number of taxa at the IBE level” (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; box-plot: maximum, 75° percentile, median, 25° percentile, minimum)

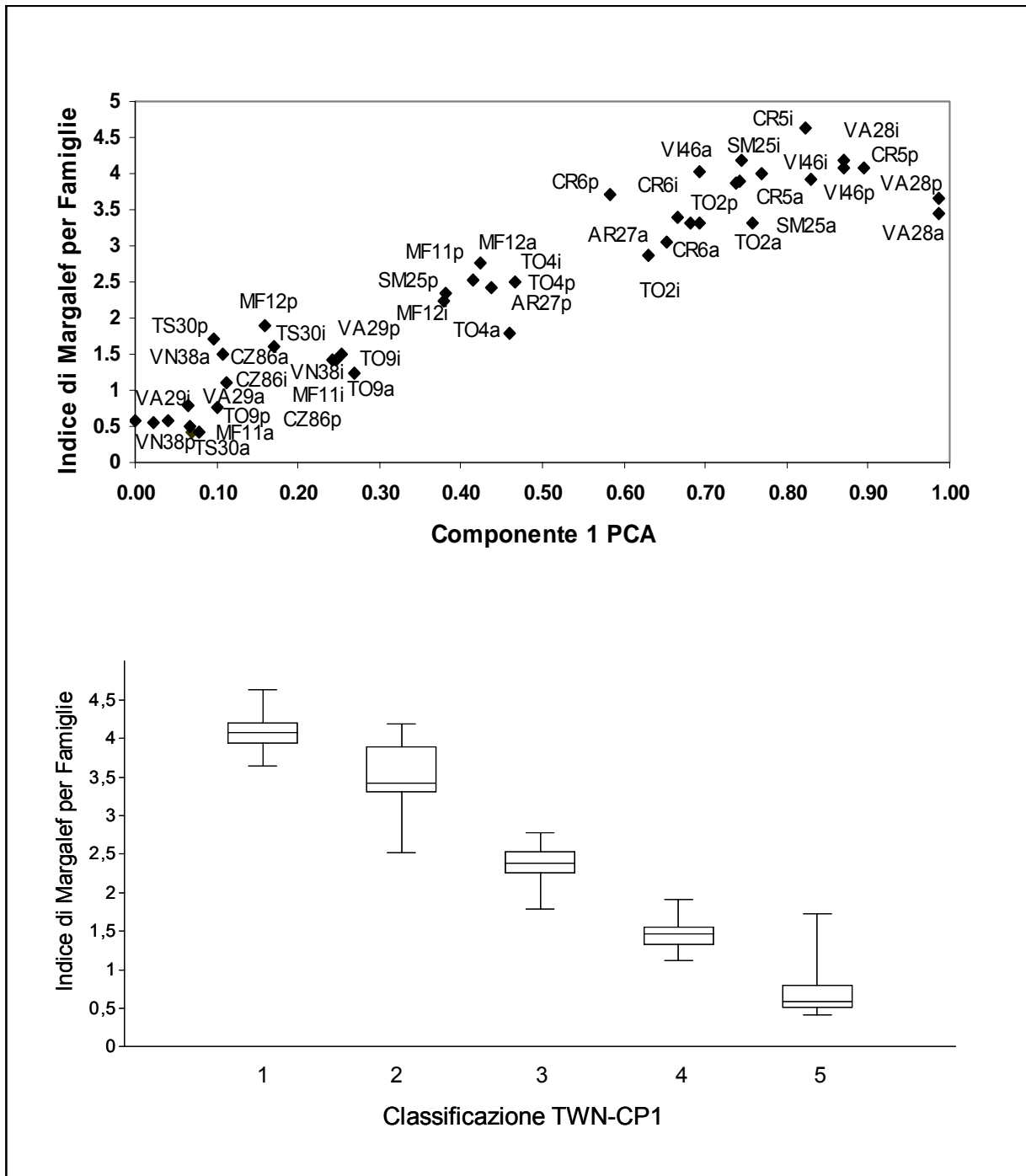


Figura 23. Grafico di dispersione e *box-plot* relativi alla metrica “Indice di Margalef per famiglie” (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; *box-plot*: massimo, 75° percentile, mediana, 25° percentile, minimo)

Figure 23. Dispersion and box-plot graphs for the metric “Margalef index on families” (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; box-plot: maximum, 75° percentile, median, 25° percentile, minimum)

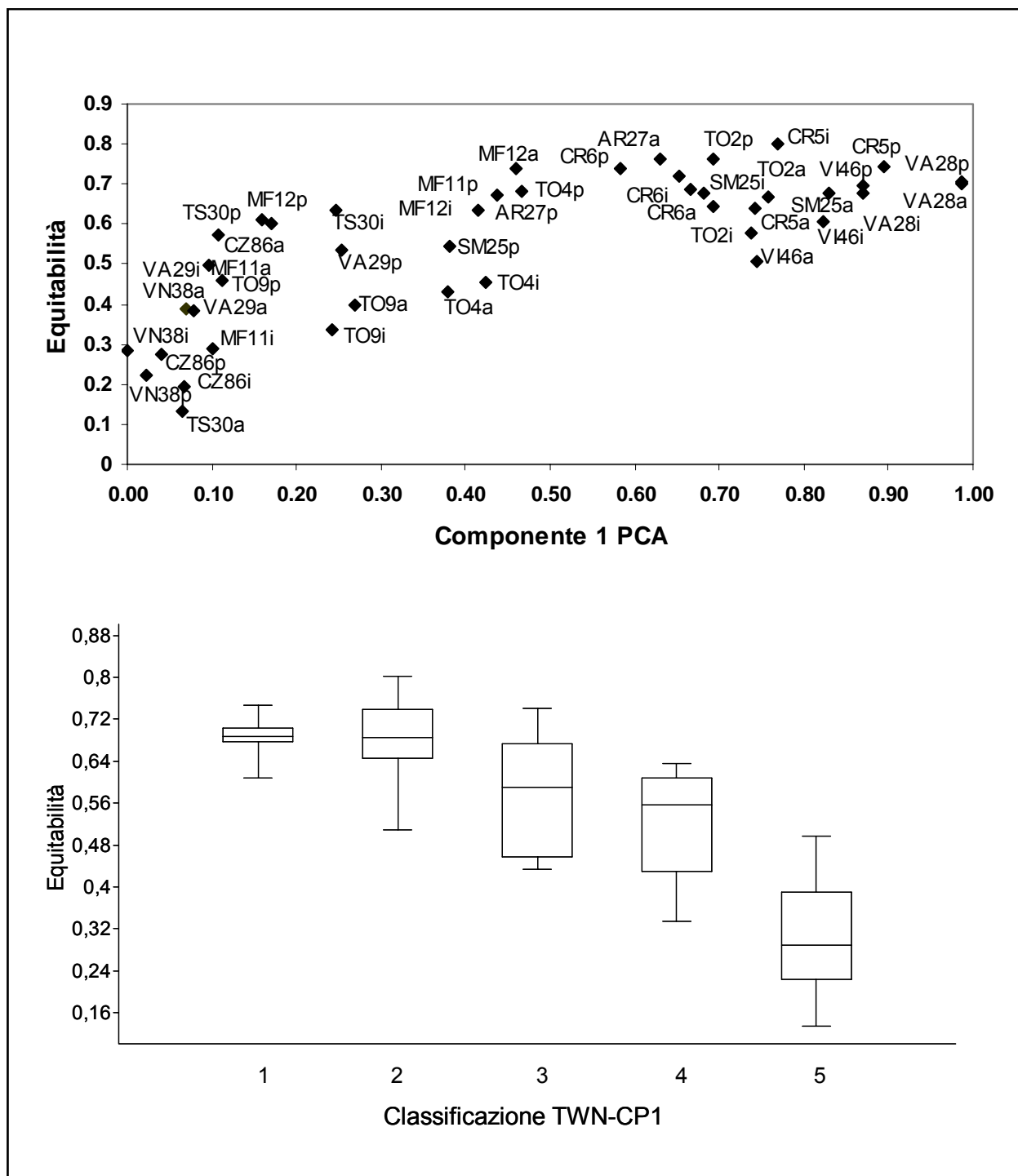


Figura 24. Grafico di dispersione e *box-plot* relativi alla metrica “Equitabilità su famiglie” (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; *box-plot*: massimo, 75° percentile, mediana, 25° percentile, minimo)

Figure 24. Dispersion and box-plot graphs for the metric “Evenness on families” (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; box-plot: maximum, 75° percentile, median, 25° percentile, minimum)

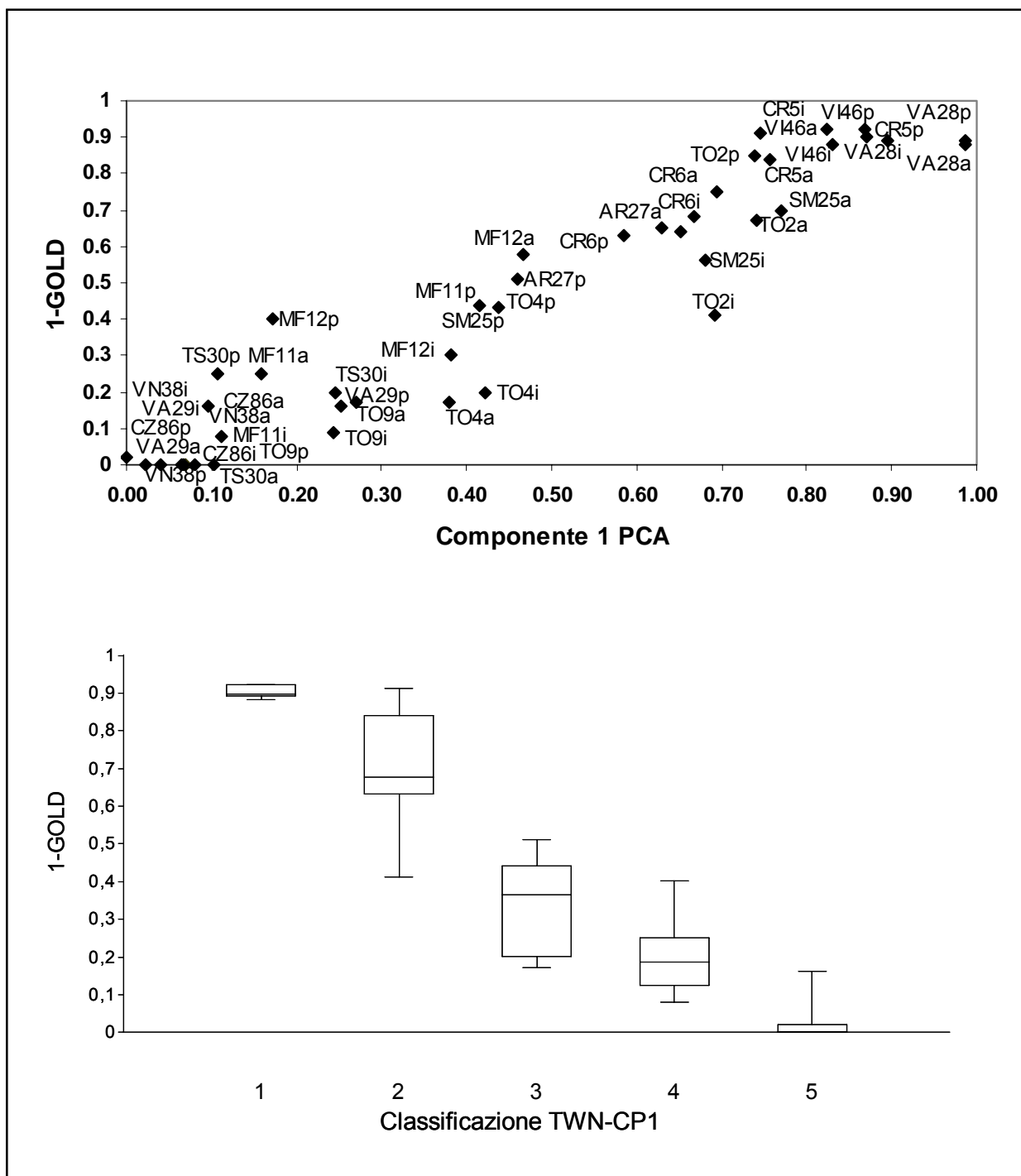


Figura 25. Grafico di dispersione e *box-plot* relativi alla metrica “1-GOLD” (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; *box-plot*: massimo, 75° percentile, mediana, 25° percentile, minimo)

Figure 25. Dispersion and *box-plot* graphs for the metric “1-GOLD” (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; *box-plot*: maximum, 75° percentile, median, 25° percentile, minimum)

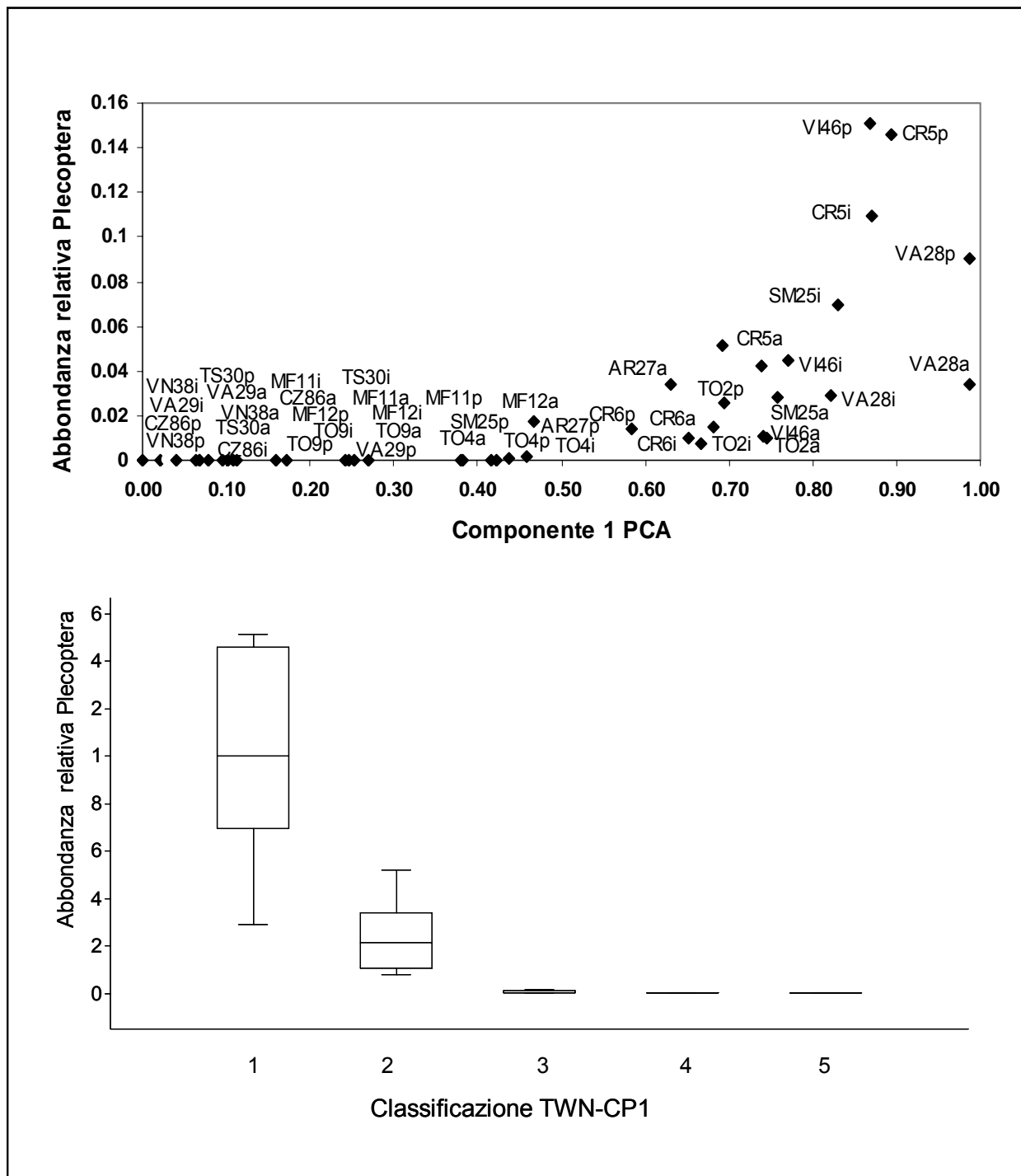


Figura 26. Grafico di dispersione e *box-plot* relativi alla metrica “Abbondanza relativa Plecoptera” (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno inverno e primavera; *box-plot*: massimo, 75° percentile, mediana, 25° percentile, minimo)

Figure 26. Dispersion and box-plot graphs for the metric “Relative abundance of Plecoptera” (codes as in tab. 2. Suffix a, l and p indicate autumn, winter and spring samples; box-plot: maximum, 75° percentile, median, 25° percentile, minimum)

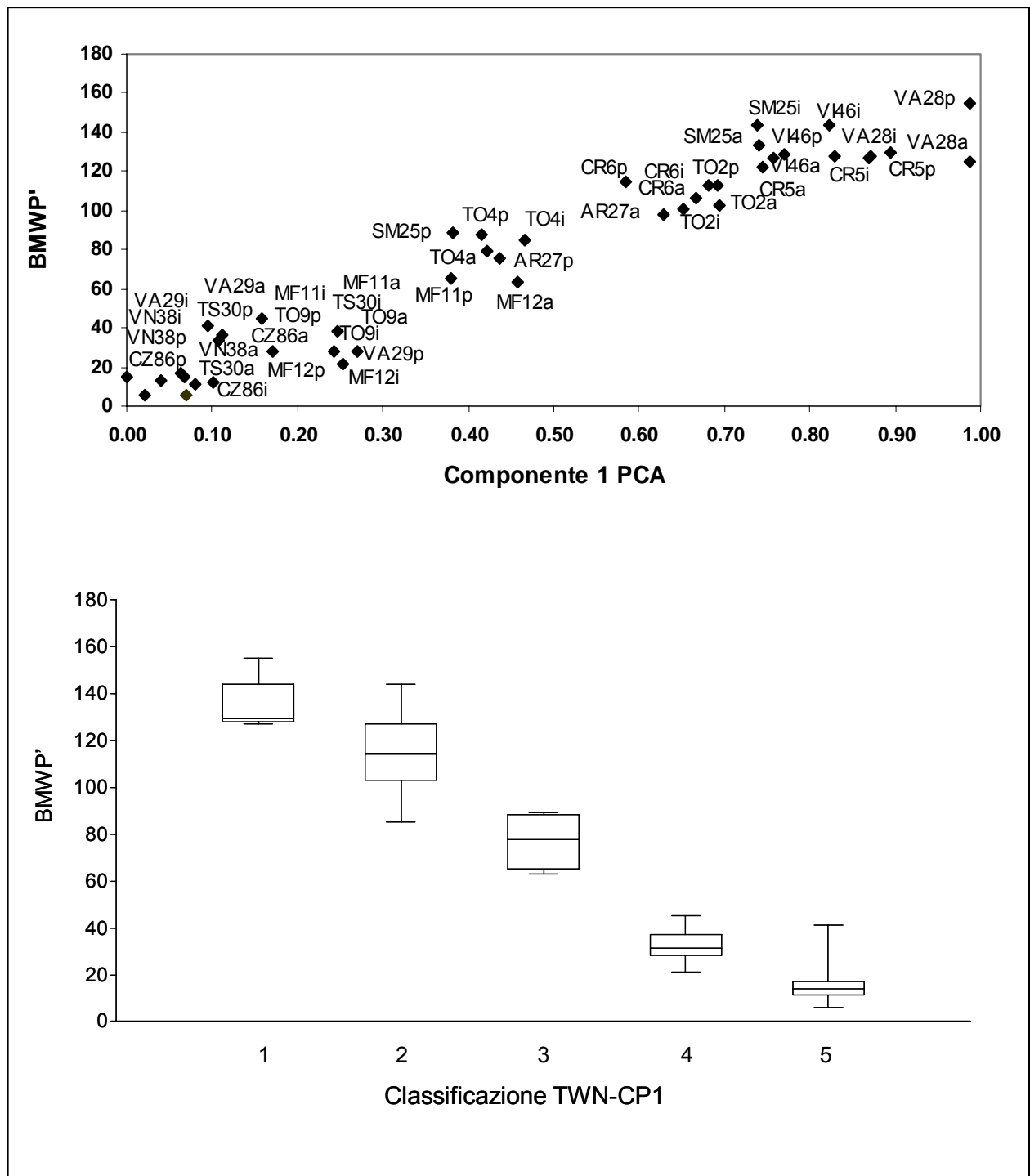


Figura 27. Grafico di dispersione e *box-plot* relativi alla metrica “BMWP” (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; *box-plot*: massimo, 75° percentile, mediana, 25° percentile, minimo)

Figure 27. Dispersion and box-plot graphs for the metric “BMWP” (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p: autumn, winter or springs samples; box-plot: maximum, 75° percentile, median, 25° percentile, minimum)

Le prime tre metriche sono relative all’aspetto “ricchezza-diversità” delle comunità. Tutte e tre prendono in considerazione l’intera comunità, e mentre il “Numero di taxa a livello IBE” (Ghetti, 1997) e l’ “Indice di Margalef” hanno una risposta lineare lungo tutto l’asse principale di variazione dei dati, l’ “Equitabilità” ha dei valori a salti tra la seconda e la terza classe e, in

maniera ancor più accentuata, tra la quarta e la quinta. Quest'ultima caratteristica è stata considerata nella selezione perché permette di separare i campioni provenienti da siti in ambienti fortemente urbanizzati da tutti gli altri. Per quanto riguarda gli aspetti di composizione sono state selezionate due metriche relative a componenti delle comunità in linea di massima associate a buone condizioni (l'abbondanza relativa degli Insetti Plecotteri) e condizioni di alterazione (l'abbondanza relativa della somma di tre gruppi: gli Insetti Ditteri, i Molluschi Gasteropodi e gli Anellidi Oligocheti). Nonostante l'abbondanza relativa dei Plecotteri non abbia mostrato linearità lungo tutto l'intervallo di valori della componente di variabilità principale, essa è stata selezionata perché quest'ordine di insetti si è rivelato pressoché assente da tutti i siti interessati da urbanizzazione del territorio, permettendo di separare nettamente questa categoria dai siti in ambienti più integri. L'indice BMWP' è un indice biologico che considera l'intera comunità nei suoi aspetti di sensibilità e tolleranza ed è stato selezionato soprattutto per l'elevata correlazione tra i suoi valori e quelli dell'asse relativo alla qualità (CP1). Le metriche di abbondanza non hanno mostrato correlazioni significative con la componente di variazione principale, ad esclusione della metrica $\text{Log}_{10}(\text{Sel_EPTD} + 1)$ (Buffagni et al., 2004), che tuttavia si è preferito escludere data la mancanza di linearità lungo tutto il gradiente di urbanizzazione. La presenza di differenze statisticamente significative tra i valori nelle diverse classi, testata con il test t di Student, è stata presa in considerazione nella valutazione dell'efficacia di ciascuna metrica nel distinguere tra le classi. I risultati, schematizzati in tabella 23, mostrano la seguente situazione: per il "Numero totale di taxa livello IBE" sono significative le differenze tra prima e seconda classe ($t_s = 2,97$; valore $t_s, p < 0,01$ per 18 g.l. = 2,87), la seconda e la terza classe ($t_s = 3,41$; valore $t_s, p < 0,01$ per 17 g.l. = 2,89), la terza e la quarta classe ($t_s = 5,82$; valore $t_s, p < 0,01$ per 11 g.l. = 3,10) e la quarta e la quinta classe ($t_s = 4,87$; valore $t_s, p < 0,01$ per 16 g.l. = 2,91); per l' "Indice di Margalef" sono significative le differenze tra la seconda e la terza ($t_s = 4,89$; valore $t_s, p < 0,01$ per 17 g.l. = 2,89), tra la terza e la quarta ($t_s = 3,64$; valore $t_s, p < 0,01$ per 11 g.l. = 3,10) e tra la quarta e la quinta classe ($t_s = 5,81$; valore $t_s, p < 0,01$ per 16 g.l. = 2,91), mentre non risulta significativa la differenza tra la prima e la seconda classe ($t_s = 2,69$; valore $t_s, p < 0,01$ per 18 g.l. = 2,87); per l' "Equitabilità" sono significative le differenze tra la seconda e la terza classe ($t_s = 4,41$; valore $t_s, p < 0,01$ per 17 g.l. = 2,89) e tra la quarta e la quinta ($t_s = 3,85$; valore $t_s, p < 0,01$ per 16 g.l. = 2,91), ma non tra la prima e la seconda ($t_s = 1,47$; valore $t_s, p < 0,01$ per 18 g.l. = 2,87) né tra la terza e la quarta ($t_s = 0,28$; valore $t_s, p < 0,01$ per 11 g.l. = 3,10); per l' "1-GOLD" sono significative le differenze tra la prima e la seconda classe ($t_s = 4,81$; valore $t_s, p < 0,01$ per 18 g.l. = 2,87), tra la seconda e la terza ($t_s = 4,22$; valore $t_s, p < 0,01$ per 17 g.l. = 2,89) e tra la quarta e la quinta ($t_s = 5,27$; valore $t_s, p < 0,01$ per 16 g.l. = 2,91) ma non tra la terza e la quarta ($t_s = 2,13$; valore $t_s, p < 0,01$ per 11 g.l. = 3,10); per l'

“Abbondanza relativa dei Plecoptera” sono significative le differenze tra la prima e la seconda classe ($t_s = 5,16$; valore $t_{s, p < 0,01}$ per 18 g.l. = 2,87) e tra la seconda e la terza ($t_s = 5,16$; valore $t_{s, p < 0,01}$ per 17 g.l. = 2,89) ma non tra la terza e la quarta ($t_s = 0,67$; valore $t_{s, p < 0,01}$ per 11 g.l. = 3,10) né tra la quarta e la quinta (test non applicabile per il valore fisso 0 nella quinta classe); per “BMWP” sono significative le differenze tra la prima e la seconda classe ($t_s = 4,77$; valore $t_{s, p < 0,01}$ per 18 g.l. = 2,87), tra la seconda e la terza ($t_s = 3,51$; valore $t_{s, p < 0,01}$ per 17 g.l. = 2,89), tra la terza e la quarta ($t_s = 6,09$; valore $t_{s, p < 0,01}$ per 11 g.l. = 3,10) e tra la quarta e la quinta ($t_s = 6,31$; valore $t_{s, p < 0,01}$ per 16 g.l. = 2,91). Il “numero totale di taxa livello IBE” e il “BMWP” sono quindi risultati in grado di distinguere più efficacemente tra le differenti classi.

Tabella 23. Presenza di differenza statisticamente significativa tra una classe e la successiva nei valori di ciascuna metrica selezionata (test t di Student, dettagli nel testo)

Table 23. Presence of statistically significant difference between a class and the following in selected metric values (Student's t test, details in the text)

Metriche	Limiti di classe			
	I-II	II-III	III-IV	IV-V
Num. Taxa liv.IBE	X	X	X	X
Indice di Margalef		X	X	X
Equitabilità		X		X
1-GOLD	X	X		X
Abb. Rel. Plecoptera	X	X		
Indice BMWP	X	X	X	X

3.3.3 Combinazione delle metriche in un indice multimetrico (IM)

Per la combinazione delle metriche selezionate in un unico indice multimetrico sono stati assegnati dei pesi a ciascuna delle metriche, cercando di limitare il contributo delle metriche che studiano aspetti già inclusi in altre metriche, per evitare ridondanza. A ciascuno dei tre aspetti considerati (diversità/ricchezza, composizione, tolleranza/sensibilità) è stato assegnato un peso complessivo di 0,333, suddiviso tra le relative metriche nel modo indicato in tabella 24.

Tabella 24. Pesi delle metriche nel calcolo dell'indice multimetrico
Table 24. Metric weights in the multimetric index calculation

Aspetto	Metrica	Peso
<i>Diversità / ricchezza</i>	Numero di taxa riconosciuti a livello IBE	0,222
	Equitabilità / Eveness	0,055
	Indice di Margalef	0,055
<i>Composizione</i>	1-GOLD	0,266
	Abbondanza relativa di Plecoptera	0,067
<i>Tolleranza / sensibilità</i>	Indice BMWP'	0,333

I pesi maggiori, all'interno di ciascun gruppo, sono stati assegnati alla metrica che ha presentato la maggiore linearità di risposta lungo tutto il gradiente di qualità, mentre pesi minori sono stati assegnati alle metriche che sono state selezionate perchè utili alla distinzione tra specifiche classi di qualità.

Per il calcolo del valore finale dell'indice multimetrico, in primo luogo è stato effettuato, per ciascun campione, il rapporto tra il valore di ogni metrica e il 75° percentile del valore della stessa metrica nei siti di riferimento. Questi valori "di riferimento" sono riportati nella tabella 25.

Tabella 25. Valori di riferimento delle metriche calcolati sul 75° percentile dei valori nei siti di riferimento.
Table 25. Reference values for metrics, calculated on 75° percentile in reference sites

Metrica	Valore di riferimento
Numero di taxa riconosciuti a livello IBE	34,25
Equitabilità / Eveness	0,70
Indice di Margalef	4,16
1-GOLD	0,91
Abbondanza relativa di Plecoptera	0,14
Indice BMWP'	141

Sul valore del decimo percentile dei valori assunti dall'indice multimetrico (IM) sui siti di riferimento è invece stata definita la soglia tra lo stato elevato e lo stato buono, per poi ottenere le altre soglie dividendo l'intervallo in 4 parti uguali. Il risultato è riportato nella tabella 26.

Tabella 26. Intervalli di valori dell'indice IM per l'attribuzione alle diverse classi
Table 26. Value ranges of the IM index for the definition of the classes

Classe	Giudizio	Intervallo
I	Elevato	$IM \geq 0,921$
II	Buono	$0,921 > IM \geq 0,691$
III	Sufficiente	$0,691 > IM \geq 0,461$
IV	Scarso	$0,461 > IM \geq 0,231$
V	Cattivo	$IM < 0,231$

La figura 28 presenta graficamente la composizione finale dell'indice multimetrico applicato a ciascun campione, evidenziando come i diversi aspetti considerati (Div/Ric: Diversità/Ricchezza; Tol/Sen: Tolleranza/Sensibilità; Com: Composizione) si integrino nel fornire il giudizio finale.

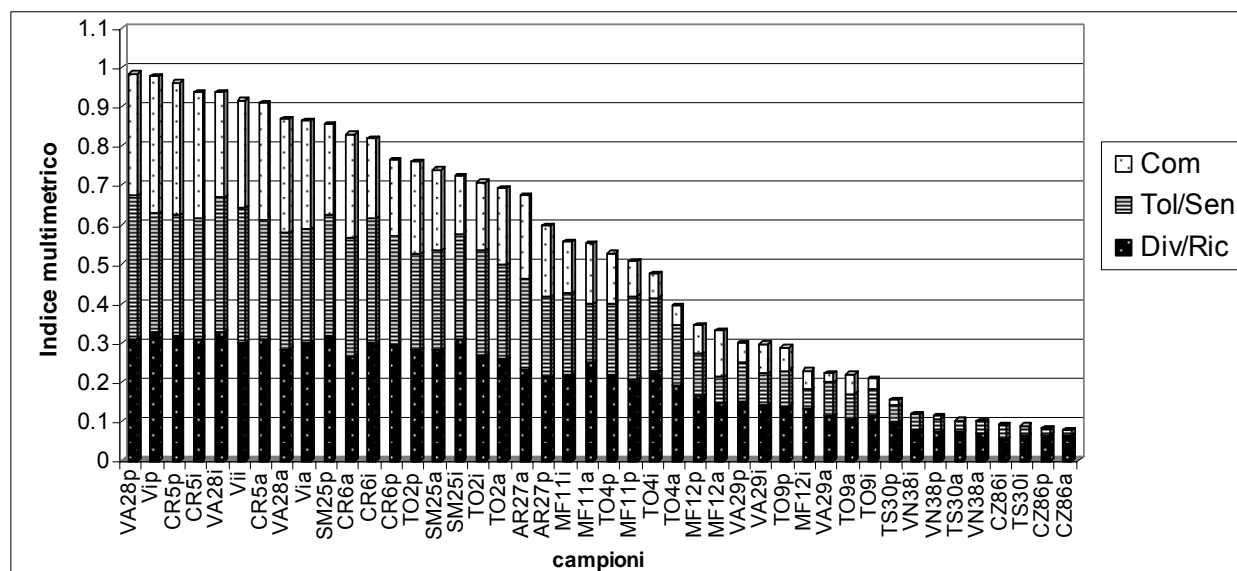


Figura 28. Componenti dell'indice multimetrico per ciascuno dei campioni raccolti (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)

Figure 28. Components of the multimetric index for each of the collected samples (codes as in tab. 2. Suffix a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

Infine la tabella 27 presenta i risultati dell'applicazione dell'indice multimetrico ai campioni stessi utilizzati per approntarlo e a 4 campioni provenienti da siti campionati ma non utilizzati per la messa a punto del metodo. Si tratta di campioni prelevati da 4 siti in contesti diversi: un ramo secondario del fosso Vaccina in area boscosa (A); il fosso della Caduta in area seminaturale (B); il fosso di San Martino in area agricola (C); il fosso Acquatraversa a Roma (D).

Tabella 27. Risultati dell'applicazione dell'indice multimetrico ai campioni raccolti (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; A,B,C,D presentati nel testo)
Table 27. Results of the application of the multimetric index to the collected samples (codes as in tab. 2 Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; A, B, C, D introduced in the text)

Campione	Punteggio IM	Classe	Campione	Punteggio IM	Classe
VA28p	0.984	1	MF12p	0.346	4
Vip	0.976	1	MF12a	0.331	4
CR5p	0.960	1	VA29p	0.298	4
CR5i	0.935	1	VA29i	0.298	4
VA28i	0.934	1	TO9p	0.289	4
Vii	0.915	2	MF12i	0.240	4
CR5a	0.908	2	VA29a	0.234	4
VA28a	0.867	2	TO9a	0.221	4
Via	0.864	2	TO9i	0.209	4
SM25p	0.856	2	TS30p	0.157	4
CR6a	0.830	2	VN38i	0.118	5
CR6i	0.818	2	VN38p	0.114	5
CR6p	0.764	2	TS30a	0.104	5
TO2p	0.759	2	VN38a	0.102	5
SM25a	0.739	2	CZ86i	0.093	5
SM25i	0.723	2	TS30i	0.090	5
TO2i	0.708	2	CZ86p	0.081	5
TO2a	0.693	2	CZ86a	0.079	5
AR27a	0.674	2	A	0.9391	1
AR27p	0.596	3	B	0.8543	2
MF11i	0.557	3	C	0.5056	3
MF11a	0.552	3	D	0.1765	5
TO4p	0.527	3			
MF11p	0.508	3			
TO4i	0.474	3			
TO4a	0.395	4			

3.4 Costruzione della Rete autorganizzante “SOM”

Per la costruzione della rete SOM, ai vettori *input* forniti al programma sono stati assegnati i valori di abbondanza dei taxa rinvenuti nei diversi siti (1 vettore per ogni campione). Le abbondanze sono state trasformate secondo il $\text{Log}(x_i+1)$. Diverse prove sono quindi state fatte per selezionare la rete SOM migliore per la classificazione dei campioni di macroinvertebrati, relativi ai medesimi siti utilizzati per la messa a punto dell'indice multimetrico. Nella classificazione delle comunità tramite una rete SOM, risulta molto importante il numero di unità che compongono la rete. Se la dimensione della mappa è troppo piccola, essa non è in grado di cogliere alcune importanti differenze che dovrebbero invece emergere (figura 29). Viceversa, se la mappa è troppo grande, le differenze che emergono rischiano di essere artificiali (figura 30).

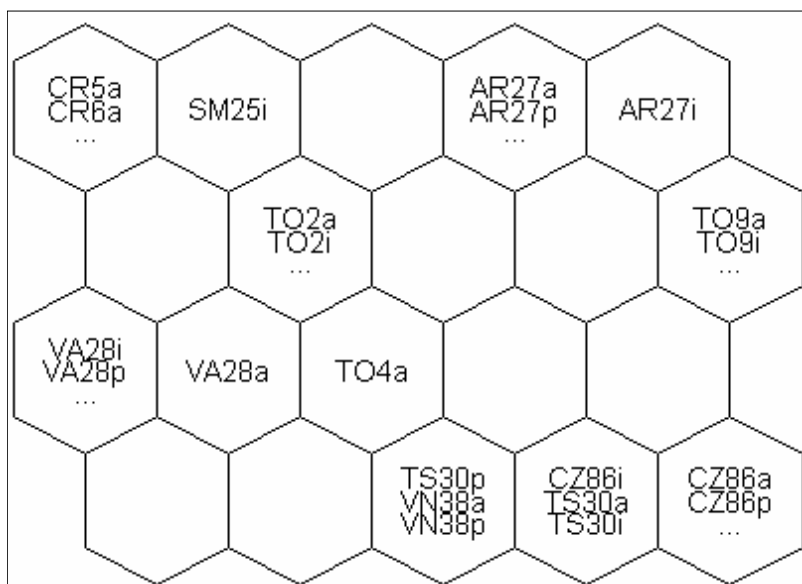


Figura 29. Rete SOM costruita con un numero eccessivamente limitato di elementi (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno o primavera)

Figure 29. SOM net constructed with a too limited number of elements (codes as in tab. 2. Suffixes a, i, p indicate autumn, winter and spring samples)

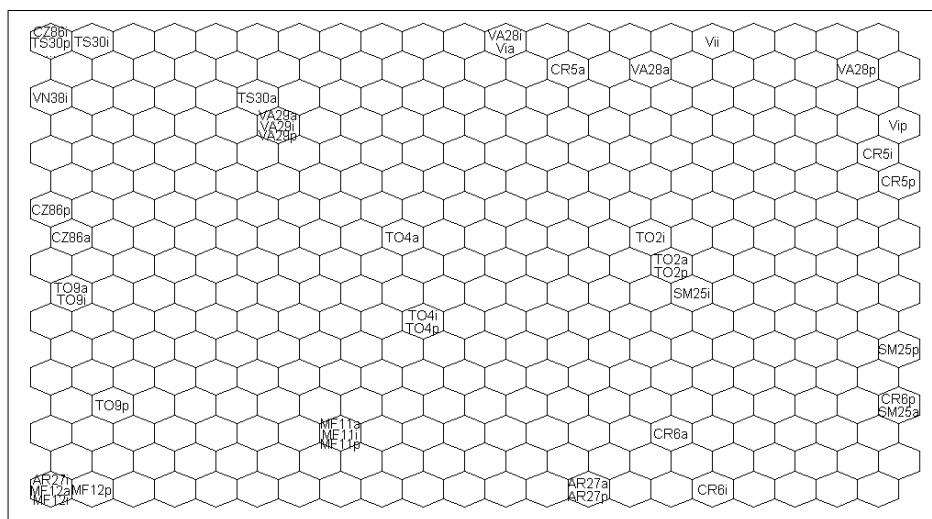


Figura 30. Rete SOM costruita con un numero eccessivamente elevato di elementi (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno o primavera)

Figure 30. SOM net constructed with a too large number of elements (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

Per poter selezionare la migliore dimensione di mappa sono state sperimentate numerose combinazioni costruendo mappe a diverse dimensioni, e calcolando ogni volta i due indici “errore di quantizzazione” ed “errore topografico” (tabella 28).

Tabella 28. Cambiamento dei valori degli errori per mappe SOM di differenti dimensioni
Table 28. Changes of quantization and topographic errors at different SOM map sizes

Dimensione della SOM	10	30	54	63	70	81	108	220
Errore di quantizzazione	2,032	1,832	1,623	1,528	1,503	1,492	1,488	1,485
Errore topografico	0,014	0,011	0,020	0,010	0,020	0,010	0,020	0,000

E’ stata quindi selezionata una SOM di dimensioni 8x11 elementi, con un errore di quantizzazione che ha quasi raggiunto l’asintoto ed un errore topografico molto basso (figura 31).

La forma degli elementi che è stata preferita è quella esagonale, come suggerito dalla letteratura per una corretta interpretazione dei rapporti tra i campioni (Kohonen, 2001). La funzione di vicinanza utilizzata è quella a forma di cappello messicano, che sembra permettere una migliore risoluzione della mappa, sebbene la differenza con quanto ottenuto con la curva gaussiana sia limitata (figura 32). Il raggio entro il quale far agire la funzione di vicinanza è stato impostato in base alla dimensione selezionata per la mappa (Park et al., 2004), ed è pari a 3 neuroni. Per il parametro α , stima di quanto il vettore vincitore viene modificato dal vettore *input*, sono state utilizzate le impostazioni di base del programma che impone un valore tra 0,1 e 0,5 decrescente man mano che si procede nelle iterazioni della fase di inizializzazione e di apprendimento.

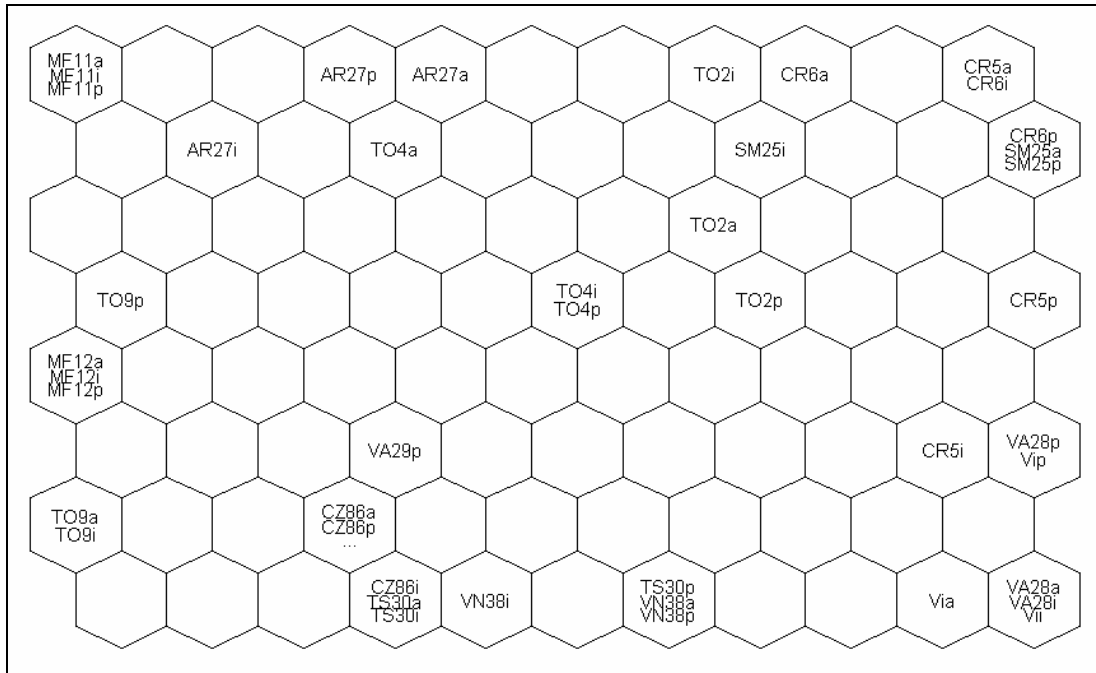


Figura 31. Rete SOM di dimensioni 8x11, elementi esagonali, raggio 3 (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)
Figure 31. SOM map 8x11 sized, hexagonal elements, radius 3 (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

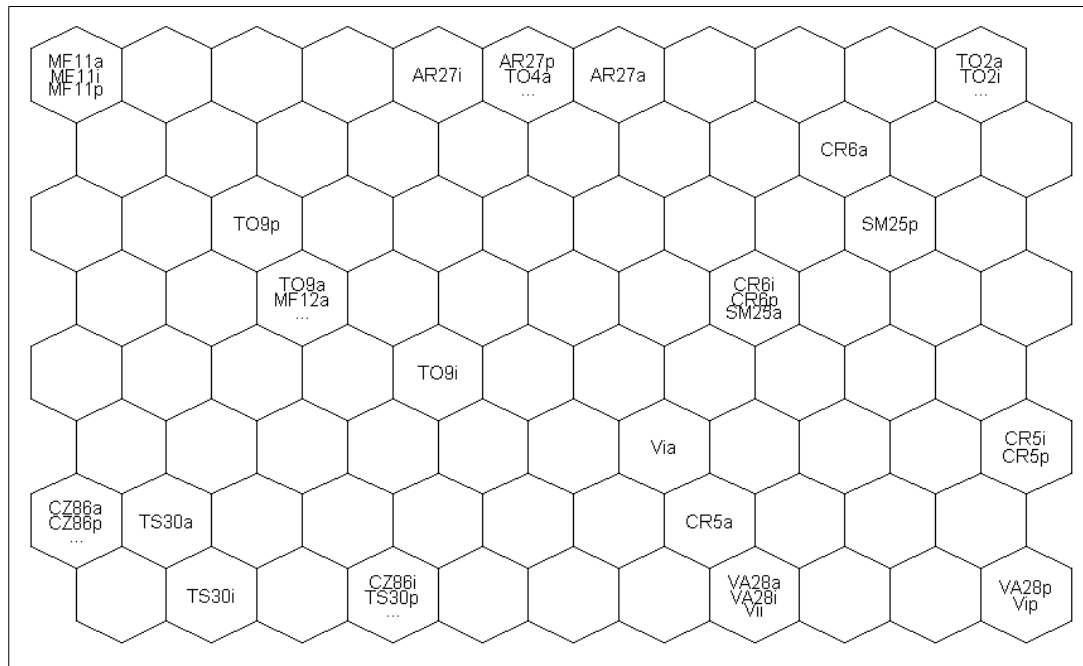


Figura 32. Rete SOM di dimensioni 8x11, elementi esagonali, raggio 2 (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)
Figure 32. SOM map 8x11 sized, hexagonal elements, radius 2 (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

Dalle mappe in figura 31 e in figura 32 emerge in maniera piuttosto evidente che i campioni si distribuiscono nella rete neurale formando raggruppamenti definiti e costanti. Nella figura 32, ad esempio, in basso a destra si posizionano i campioni raccolti da siti in condizioni di maggiore

integrità ambientale (aree di bosco); in alto a destra si posizionano in linea di massima i siti in condizioni buone ma con elementi di antropizzazione del territorio; in alto al centro e a destra sono raggruppati i siti in territorio agricolo e infine, sulla sinistra in basso, i siti dove è presente urbanizzazione del territorio, più forte nell'area all'estrema sinistra. Come si osserva confrontando le due mappe, la disposizione reciproca dei gruppi nella mappa non è conservativa, dipendente com'è dalla inizializzazione casuale del processo di apprendimento dei neuroni di riferimento. La SOM 8x11 presentata in figura 31 classifica i campioni (e i relativi siti) in accordo con le variazioni di composizione e struttura osservati nella descrizione delle comunità di macroinvertebrati (figura 18). La rete risulta sensibile alla distribuzione geografica dei siti di campionamento, posizionando in neuroni relativamente vicini i siti appartenenti al medesimo corso d'acqua: i siti sul fosso di Malafede MF11 e MF12, all'estrema sinistra della mappa; i siti sul fosso della Torraccia TO2 e TO4 (TO9 è sito sul fosso di Prima Porta) nella parte centrale; i siti sul Cremera, CR5 e CR6, nella destra della mappa, per quanto in questo caso l'accostamento sia meno evidente. Anche le eventuali variazioni temporali dello stato delle comunità possono essere valutate, con campioni provenienti dallo stesso sito posizionati in corrispondenza dello stesso neurone (i campioni del sito MF12), neuroni vicini (i campioni del sito AR27) o neuroni piuttosto lontani (i campioni del sito CR5).

Nella struttura della SOM può soprattutto essere letto il raggruppamento dei siti in base al loro stato qualitativo e al loro livello di inserimento nel contesto urbano. Nell'area in basso a destra della mappa sono infatti raggruppati i campioni CR5, VA28 e VI46, raccolti nei siti considerati come riferimento in questo lavoro. In alto a destra sono invece raggruppati, anche se meno strettamente, i campioni provenienti da ambienti relativamente integri, con prevalenza di boschi nell'area circostante il sito, ma dove comunque sono presenti tracce, anche significative, di uso agricolo del territorio. Questo gruppo appare in continuità con il primo, a rimarcare la mancanza di uno stacco netto tra i siti scelti come riferimento e quelli in buono stato, probabilmente a causa della presenza di seppur lievi pressioni che gravano sui primi. Nell'area della mappa in alto a sinistra e in alto al centro si posizionano i siti in aree miste con zone naturali e aree coltivate, dove sono presenti abitazioni sparse, strade e altre strutture artificiali nel pressi del corso d'acqua. L'area sinistra della mappa è infine occupata da campioni relativi ad aree urbanizzate.

Un'utile caratteristica delle SOM, ai fini dell'interpretazione della classificazione dei siti, è la possibilità di visualizzare sulla mappa stessa il modo in cui le singole variabili influiscono nella determinazione dei gruppi di campioni. Ciò è ottenuto tramite una scala di colori (viola, magenta, rosa, arancione scuro, arancione, arancione chiaro e giallo) che indicano altrettanti livelli di abbondanza relativa del taxon (viola: abbondanza massima; giallo: assente). Nelle

figure 33 e 34 sono presentate i risultati dell'applicazione di questa tecnica ad una rete SOM per i taxa che, nell'Analisi delle specie indicatrici a due vie (TWINSPAN, figura 20), sono risultate essere decisive nella distinzione dei gruppi di campioni (i taxa sono stati riportati tutti a livello di famiglia per uniformità). La distribuzione dei diversi taxa individua dei settori della mappa, utili a capire come sono raggruppati (e classificati) i siti. Così i Perlodidae sono presenti solo nel gruppo di siti localizzati in basso a sinistra; all'estremo opposto i Gammaridae sono totalmente assenti solo dai siti all'estrema destra in basso della mappa. Gli altri taxa considerati non individuano aree limitate di presenza o assenza esclusiva, ma dalla loro combinazione risultano i diversi gruppi individuati dalla TWINSPAN analisi.

La capacità delle reti SOM di classificare i campioni di macroinvertebrati viene ancor più evidenziata dall'utilizzo di una matrice U, che utilizza i toni scuri del grigio laddove vi è una grande distanza tra i neuroni adiacenti, ed i toni chiari quando, al contrario, tale distanza risulta essere ridotta. L'interpretazione dei raggruppamenti è data, in figura 35, dalle linee che passano sui neuroni di confine tra un gruppo e l'altro. La mappa presenta dei gruppi caratterizzati al loro interno da neuroni con toni di grigio chiaro (sulla destra, con i siti più degradati), e gruppi in cui anche all'interno il tono di grigio rimane comunque scuro (sulla sinistra, con toni di grigio chiaro). Questa differenza è dovuta alla capacità delle reti SOM di discriminare tra loro oggetti molto simili, indipendentemente dalle distanze assolute con gli altri gruppi, o della presenza di *outgroup*, che in una analisi multivariata classica hanno invece l'effetto di distorcere gli ordinamenti e nascondere le distanze. In questo modo, le comunità di macroinvertebrati dei siti più integri, che presentano una maggiore diversità naturale perché non banalizzate dall'inquinamento, risultano avere distanze intragruppo maggiori dei gruppi di siti degradati, come si evince dai toni chiari sulla destra della mappa, dove sono localizzati i campioni provenienti dai siti in contesto urbano.

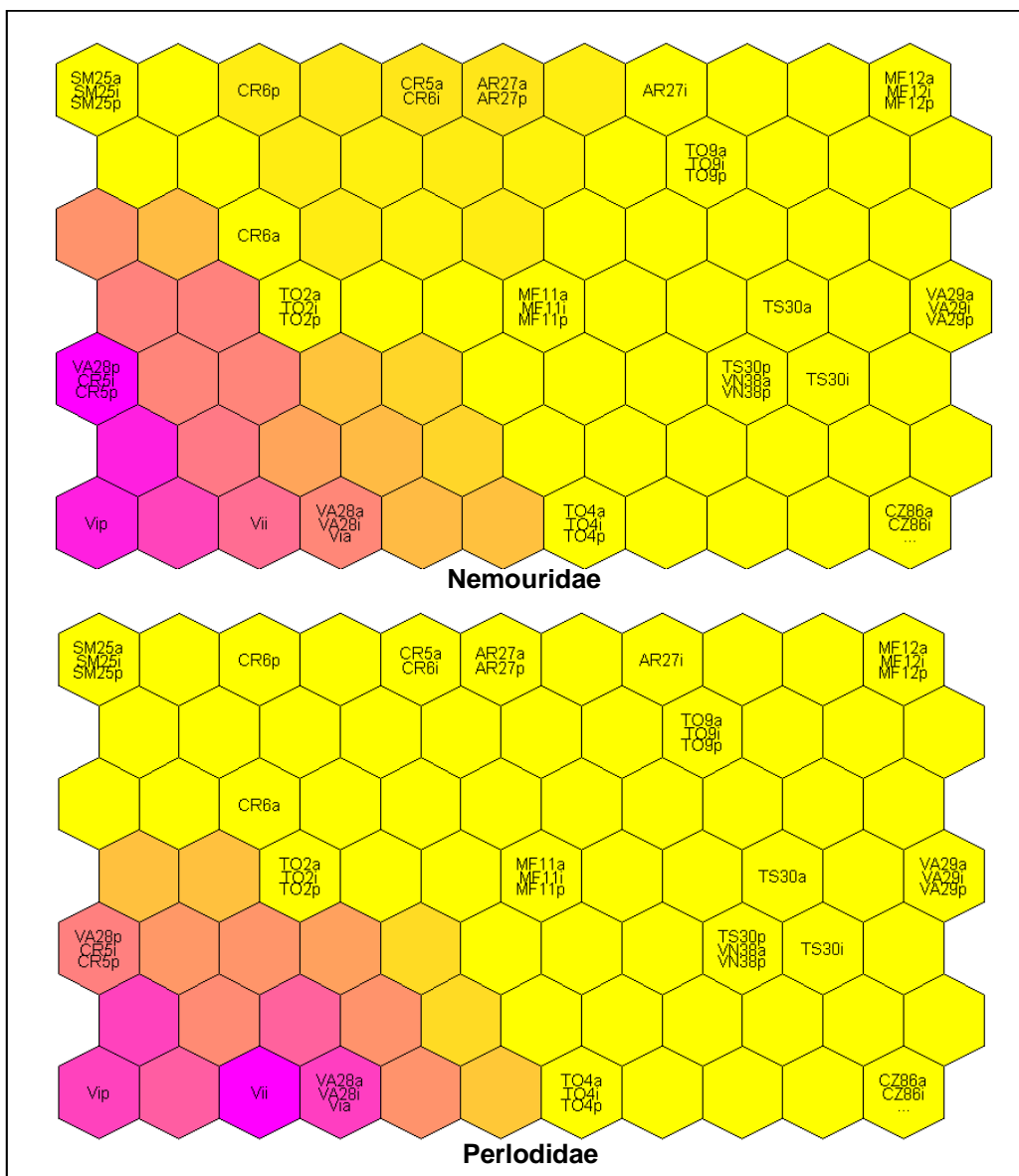


Figura 33. Visualizzazione delle aree della mappa SOM caratteristiche di alcuni taxa (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)
Figure 33. Visualization of the SOM areas peculiar to some taxonomic groups (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

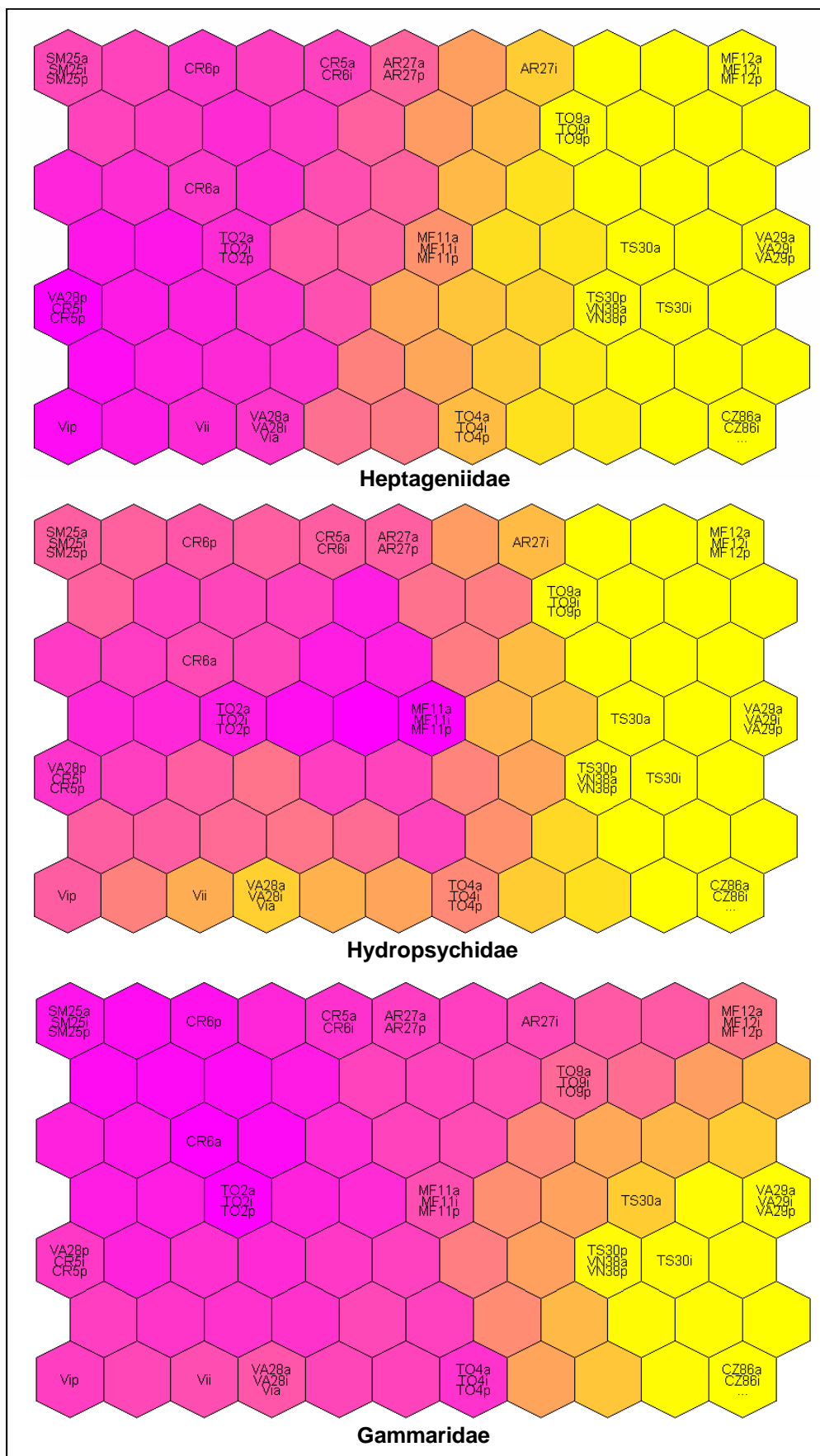


Figura 34. Visualizzazione delle aree della mappa SOM caratteristiche di alcuni taxa (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)
Figure 34. Visualization of the SOM areas peculiar to some taxonomic groups (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

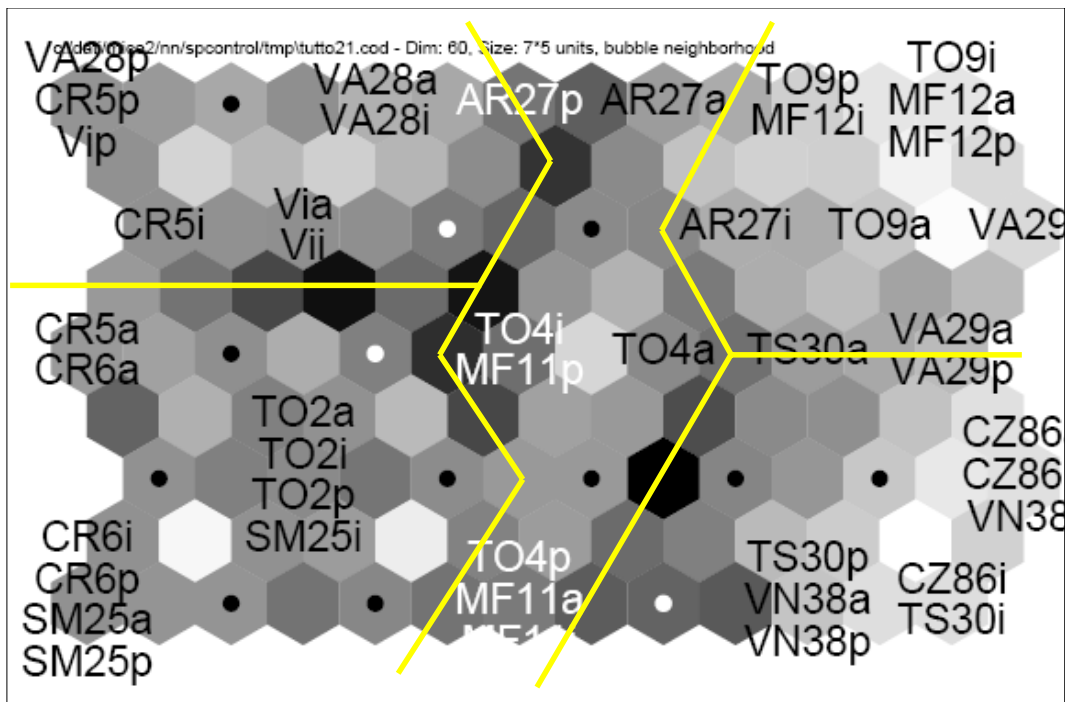


Figura 35. Rete neurale SOM-matrice U, con visualizzazione delle distanze in scala di grigi (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)
Figure 35. U-matrix SOM with visualization of distances in grey tones (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

Sulla base della matrice U è possibile classificare i siti in 5 gruppi come riportato in tabella 29, a grandi linee corrispondenti a quelli ottenuti dalla analisi TWINSpan e ai quali può essere fatta corrispondere una diversa classe di qualità. Alcuni siti si posizionano in neuroni intermedi tra due gruppi: la presenza di campioni non nettamente posizionati nella mappa rimane la conseguenza della naturale continuità nelle condizioni di qualità tra i siti studiati, nonostante la forma a cappello messicano della funzione di vicinanza avvicini tra loro neuroni simili e accentui le distanze dei dissimili (discretizzando ciò che discreto non è). Va sottolineato che variando i parametri di mappa e le impostazioni dell'apprendimento alcuni campioni in condizioni intermedie possono spostarsi da un gruppo all'altro, e che quindi è opportuno mantenere costanti le impostazioni se si vogliono svolgere dei confronti.

Per valutare l'efficacia delle reti SOM nel classificare nuovi campioni, sono stati presentati alla rete alcuni vettori formati da dati non utilizzati per la costruzione della mappa. Quando un nuovo campione è stato presentato alla rete come vettore *input*, esso è stato riconosciuto come appartenente ad un neurone già determinato oppure ad un nuovo neurone. I campioni, prelevati da 4 siti in contesti diversi (A: ramo secondario del fosso Vaccina in un'area boschiva; B: fosso della Caduta in area semi-naturale; C: fosso di San Martino in area agricola; D: fosso dell'Acquatraversa a Roma) sono stati posizionati nella mappa in settori contenenti campioni di siti in condizioni simili, confermando la capacità delle reti di classificare nuovi campioni (figura 36).

Tabella 29. Possibile raggruppamento dei siti in base ad una rete neurale di dimensioni 11x8 (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera)

Table 29. Possible site clustering with a 11x8 units SOM (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples)

Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3	Gruppo 4	Gruppo 5
VA28p	CR6a	AR27a	TO9a	TS30a
CR5p	CR6i	AR27p	TO9i	TS30i
VI46p	CR6p	TO4a	TO9p	TS30p
CR5i	CR5a	TO4p	MF12a	CZ86a
VA28i	SM25a	TO4i	MF12i	CZ86i
VA28a	SM25i	MA11a	MF12p	CZ86p
VI46a	SM25p	MA11i	VA29a	VN38a
VI46i	TO2a	MA11p	VA29i	VN38i
	TO2i		AR27i	VN38p
	TO2p			VA29p

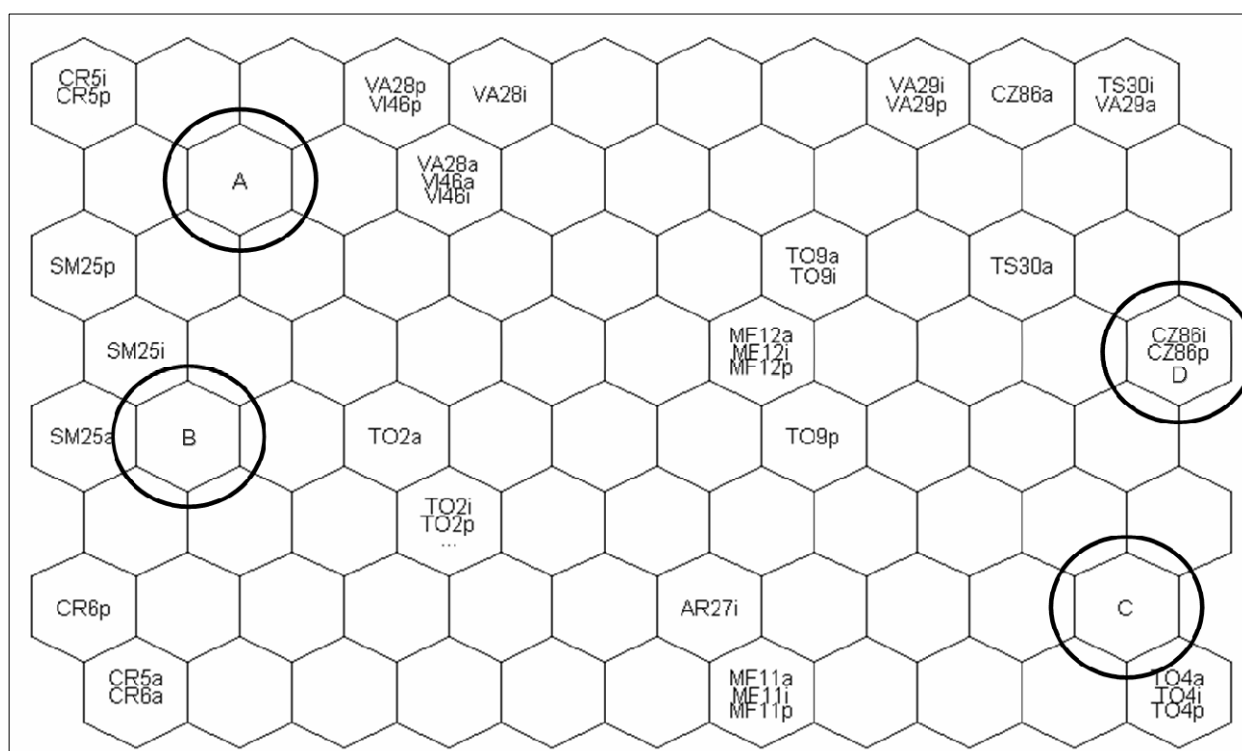


Figura 36. Posizionamento nella rete SOM di nuovi campioni (codici in tab. 2. Suffisso a, i, p: campioni autunno, inverno e primavera; i cerchi evidenziano la posizione dei nuovi campioni nella mappa)

Figure 36. Arrangement of new samples in the SOM map (codes as in tab. 2. Suffixes a, i and p indicate autumn, winter and spring samples; circles highlight the new samples' position in the map)

3.5 Confronto tra i metodi di classificazione applicati in questo studio e con l'indice STAR_ICMi

Il test di Friedman, che confronta gruppi di dati appaiati con un'analisi della varianza a due vie non parametrica, è stato utilizzato per confrontare i risultati ottenuti dai metodi sviluppati in questo studio, l'indice multimetrico (IM) e la SOM interpretata con matrice U (SOM_U), con

quelli ottenuti dall'applicazione degli altri metodi di classificazione utilizzati: STAR_ICMi, LIM, IFF, pre-classificazione in 5 gruppi basata sull'uso del suolo (pre), post-classificazione biologica (post) (tabella 30) .

Tabella 30. Classi di qualità ottenute con differenti metodologie (codici in tab. 2; per intestazioni, cfr. testo).

Table 30. Quality classes obtained with different methodologies (codes as in tab. 2; for headings, see text).

Sito	IM	SOM_U	STAR_ICMi	LIM	IFF	pre	post
VA28p	1	1	1	2	1	1	1
Vip	1	1	1	2	1	1	1
CR5p	1	1	2	2	1	1	1
CR5i	1	1	2	2	1	1	1
VA28i	1	1	2	2	1	1	1
Vii	2	1	2	2	1	1	2
CR5a	2	2	2	2	1	1	1
VA28a	2	1	2	2	1	1	2
Via	2	1	2	2	1	1	2
SM25p	2	2	2	3	1	2	2
CR6a	2	2	2	3	2	2	2
CR6i	2	2	2	3	2	2	2
CR6p	2	2	2	2	2	2	2
TO2p	2	2	2	2	2	2	2
SM25a	2	2	2	3	2	2	2
SM25i	2	2	2	2	2	2	2
TO2i	2	2	2	3	2	2	2
TO2a	2	2	2	2	2	2	2
AR27a	3	3	3	3	2,5	3	2
AR27p	3	3	3	3	2,5	3	3
MF11i	3	3	3	3	3,5	3	3
MF11a	3	3	3	2	3,5	3	3
TO4p	3	3	3	3	3,5	3	3
MF11p	3	3	3	3	3,5	3	3
TO4i	3	3	3	3	3,5	3	3
TO4a	4	3	3	3	3,5	3	3
MF12p	4	4	4	3	4	4	4
MF12a	4	4	4	3	4	4	4
VA29p	4	5	4	3	4	4	5
VA29i	4	4	4	3	4	4	5
TO9p	4	4	4	3	4	4	4
MF12i	4	4	4	3	4	4	4
VA29a	4	4	4	3	4	4	4
TO9a	5	4	4	3	4	4	4
TO9i	5	4	4	3	4	4	4
TS30p	5	5	5	5	4,5	5	5
VN38i	5	5	5	4	4	5	5
VN38p	5	5	5	4	4	5	5
TS30a	5	5	5	4	4,5	5	5
VN38a	5	5	5	4	4	5	5
CZ86i	5	5	5	5	4	5	5
TS30i	5	5	5	4	4,5	5	5
CZ86p	5	5	5	5	4	5	5
CZ86a	5	5	5	5	4	5	5

Il risultato mostra l'esistenza d'una differenza statisticamente significativa tra i metodi di classificazione ($X^2=88,09$; valore soglia per $p<0,01 = 65,63$) considerati nel loro insieme. Pertanto, per valutare la correlazione tra i metodi di classificazione e comprendere quali presentino il minor accordo, è stata calcolata la percentuale di siti attribuiti alla medesima classe (Nijboer et al., 2003). La tabella 31 mostra il risultato di questi confronti.

Tabella 31. Percentuali di siti attribuiti alla medesima classe dai diversi metodi di classificazione (per le intestazioni, cfr. testo)

Table 31. Percentage of sites assigned to the same class by different classification methods (for headings, see text)

Metodo	IM	SOM_U	STAR_ICMi	LIM	IFF	pre	post
IM		84%	84%	48%	71%	84%	84%
SOM_U			82%	37%	80%	95%	86%
STAR_ICMi				48%	66%	84%	82%

I due metodi sviluppati in questo studio presentano accordo di giudizio nell'84% dei siti, e sono in accordo con la classificazione ottenuta con il metodo nazionale STAR_ICMi nell'84% (Indice Multimetrico-IM) e nell'82% dei casi (metodo SOM_U). Tutti e tre i metodi basati sulle comunità di macroinvertebrati hanno elevate concordanze con le classificazioni ottenute con la pre-classificazione abiotica (pre) e la post-classificazione biologica (post) effettuate durante questo studio. La concordanza scende quando i metodi biologici sono confrontati con metodi che riguardano singoli aspetti dell'ecosistema (la qualità delle acque con l'indice LIM e la capacità autodepurativa con l'indice IFF).

3.6 Risultati dello studio dei Simulidi

Le ricerche effettuate nei corsi d'acqua della provincia di Roma nel triennio 2007-2009 hanno portato, nel complesso, alla raccolta di 18 specie della famiglia dei Simuliidae, rispetto alle 25 segnalate in letteratura per il territorio provinciale (Rivosecchi, 1972; Rivosecchi et al., 1974; Rivosecchi et al., 1977; Rivosecchi, 1988; Rubzov, 1956). In tabella 32 viene riportato il confronto tra la lista ottenuta dalla letteratura e quella stilata sui dati raccolti in questo studio.

Tabella 32. Confronto tra la lista di specie segnalate in letteratura (A) e quelle identificate in questo studio (B) (tra parentesi il sottogenere). Per le specie raccolte in questo studio è riportata l'abbreviazione usata nella visualizzazione delle analisi statistiche.

Table 32. Comparison between literature (A) and present study (B) lists of black fly species in the province of Rome. Codes are reported for species collected in this study.

Specie	A	B	Abbreviazione
<i>Prosimulium (Prosimulium) hirtipes</i> (Fries, 824)	+	+	PPh
<i>Prosimulium (P.) rufipes</i> (Meigen, 1830)	-	+	PPr
<i>Prosimulium (P.) latimucro</i> (Enderlein, 1925)	-	+	PPI
<i>Prosimulium (P.) tomoswaryi</i> (Enderlein, 1921)	+	-	
<i>Simulium (Eusimulium) velutinum</i> (Santos Abreu, 1922)	+	+	SEe
<i>Simulium (E.) angustipes</i> Edwards, 1915	+	+	SEa
<i>Simulium (E.) petricolum</i> (Rivosecchi, 1963)	+	-	
<i>Simulium (Nevermannia) angustitarse</i> (Lundstrom, 1911)	+	+	SNa
<i>Simulium (N.) cryophilum</i> (Rubzov, 1959)	+	+	SNC
<i>Simulium (N.) lundstromi</i> (Enderlein, 1921)	+	+	SNI
<i>Simulium (N.) vernum</i> Macquart, 1826	+	-	
<i>Simulium (N.) marsicanum</i> (Rivosecchi, 1962)	+	-	
<i>Simulium (N.) brevidens</i> (Rubzov, 1956)	+	+	SNb
<i>Simulium (Wilhelmia) equinum</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	SWe
<i>Simulium (W.) lineatum</i> (Meigen, 1804)	+	+	SWI
<i>Simulium (W.) pseudequinum</i> Séguy, 1921	+	+	SWp
<i>Simulium (W.) balcanicum</i> (Enderlein, 1924)	+	-	
<i>Simulium (Simulium) variegatum</i> Meigen, 1818	+	+	SSv
<i>Simulium (S.) argyreatum</i> Meigen 1838	+	+	SSa
<i>Simulium (S.) monticola</i> Friederichs, 1920	+	+	SSm
<i>Simulium (S.) ornatum</i> complesso (Meigen, 1818)	+	+	SSo
<i>Simulium (S.) intermedium</i> Roubaud, 1906	+	+	SSi
<i>Simulium (S.) hispaniola</i> Grenier & Bertrand, 1954	+	-	
<i>Simulium (S.) rivosecchii</i> Rubzov, 1954	+	-	
<i>Simulium (S.) reptans</i> (Linnaeus, 1758)	+	-	
<i>Simulium (S.) liriense</i> Rivosecchi, 1961	+	-	
<i>Simulium (S.) bezzii</i> (Corti, 1914)	+	-	
<i>Simulium (Boophthora) erythrocephalum</i> (De Geer, 1776)	+	+	SBe
<i>Simulium (Obuchovia) brevifile</i> Rubzov, 1956	+	-	

Undici specie segnalate in letteratura non sono state ritrovate, mentre due specie sono state per la prima volta segnalate nell'area, *P. latimucro* e *P. hirtipes*. Nella tabella 33 sono riportate le specie rinvenute nei 79 siti di campionamento in cui è stata rinvenuta la famiglia dei Simuliidae (per l'illustrazione dell'area di studio si veda la figura 3). In 26 stazioni, per lo più corrispondenti

a situazioni di estrema alterazione chimica delle acque (schiuma in alveo, batteri filamentosi), la famiglia è risultata completamente assente. Le specie del gruppo “ornatum” (compreso *S. intermedium*) costituiscono un complesso di specie riportate nell’analisi dei risultati come *S. ornatum* sensu lato.

Tabella 33. Specie rinvenute nei 79 siti in cui è presente la famiglia dei Simuliidae (codici siti in tab.2)
Table 33. Species collected in the 79 sites where black flies were reported (site codes as in tab. 2)

siti	specie																
	<i>P. hirtipes</i>	<i>P. rufipes</i>	<i>P. latimucro</i>	<i>S. erythrocephalum</i>	<i>S. velutinum</i>	<i>S. angustipes</i>	<i>S. pseudequinum</i>	<i>S. equinum</i>	<i>S. lineatum</i>	<i>S. ornatum</i> s.l.	<i>S. variegatum</i>	<i>S. argyreatum</i>	<i>S. monticola</i>	<i>S. cryophilum</i>	<i>S. lundstromi</i>	<i>S. angustitarse</i>	<i>S. brevidens</i>
TO1										+							
TO2					+	+	+			+							
TO3							+			+							
TO4							+			+							
CR5					+		+			+						+	
CR6					+		+			+							
CR7					+		+			+							
CR8							+										
TO9					+					+							
I10							+			+							
MF11										+							
MF12										+							
co13										+							
co14										+							
fi15										+							
e16										+							
li17										+	+		+				
li18	+	+			+					+			+				
li19	+									+		+	+	+			+
fi20										+							
si21											+	+					
SV22					+			+		+							
SV23										+							
SV24					+					+							
SM25					+					+						+	
SM26										+							
AR27					+			+		+							
VA28					+			+		+						+	
VA29					+												
TS30										+							
TS31										+							

continua

segue

siti	specie																
	<i>P. hirtipes</i>	<i>P. rufipes</i>	<i>P. latimucro</i>	<i>S. erythrocephalum</i>	<i>S. velutinum</i>	<i>S. angustipes</i>	<i>S. pseudequinum</i>	<i>S. equinum</i>	<i>S. lineatum</i>	<i>S. ornatum s.l.</i>	<i>S. variegatum</i>	<i>S. argyreatum</i>	<i>S. monticola</i>	<i>S. cryophilum</i>	<i>S. lundstromi</i>	<i>S. angustitarse</i>	<i>S. brevidens</i>
TS32										+							
TS33										+							
CZ34										+							
CZ35										+							
CZ36										+							
CZ37										+							
VN38						+				+							
VN39										+							
VN40					+		+			+							
VN41					+					+							
MG42						+	+			+							
SB43					+												
SB44										+						+	
an45									+								
VI46								+		+			+	+			
CR47										+							
CR48							+			+							
bg49	+					+				+				+			
vi50										+							
FU51						+				+	+						
FU52						+				+	+						
mi53	+					+		+		+				+			
mi54						+	+				+						
AR55										+							
li56	+									+	+			+			
si57												+					
si58			+														+
si59		+				+							+	+			
AR60							+		+	+							
co61														+			
DO62						+				+							
AR63							+		+								
an64								+	+	+		+		+			
an65										+		+					
an66										+	+	+	+				
an67										+		+					
mi68					+		+										
an69					+			+		+		+					
AL70															+		
an71										+		+					
O72								+		+							
ba73										+							

continua

segue

siti	specie																	
	<i>P. hirtipes</i>	<i>P. rufipes</i>	<i>P. latimucro</i>	<i>S. erythrocephalum</i>	<i>S. velutinum</i>	<i>S. angustipes</i>	<i>S. pseudequinum</i>	<i>S. equinum</i>	<i>S. lineatum</i>	<i>S. ornatum s.l.</i>	<i>S. variegatum</i>	<i>S. argyreatum</i>	<i>S. monticola</i>	<i>S. cryophilum</i>	<i>S. lundstromi</i>	<i>S. angustitarse</i>	<i>S. brevidens</i>	
RE74										+								
an75										+								
t76						+				+								
t77								+										
t78								+		+								
CA79				+	+			+		+								

In tabella 34 sono riportate le frequenze dei gruppi di specie “ornatum”, “aureum” (*S. velutinum* e *S. angustipes*), “variegatum” (*S. argyreatum*; *S. variegatum* e *S. monticola*) ed “equinum” (*S. pseudequinum*; *S. equinum* e *S. lineatum*) in quanto per questi gruppi, sebbene si sia ricorso all’identificazione delle pupe e degli adulti sfarfallati dalle pupe per avere conferme tassonomiche, non è sempre possibile, o comunque molto complicato, avere la certezza dell’attribuzione delle larve all’una o all’altra specie senza ricorrere a tecniche genetiche. Inoltre, in generale, nel giudizio sulla qualità delle acque, può essere talora più utile considerare i gruppi di specie piuttosto che le singole specie.

Tabella 34. Frequenze dei gruppi di specie
Table 34. Frequencies of species-groups

Gruppo	Specie comprese	Frequenza
gruppo “aureum”	<i>S. velutinum</i> , <i>S. angustipes</i>	0,35
gruppo “variegatum”	<i>S. variegatum</i> , <i>S. monticola</i> , <i>S. argyreatum</i>	0,22
gruppo “equinum”	<i>S. equinum</i> , <i>S. pseudequinum</i> , <i>S. lineatum</i>	0,39
gruppo “ornatum”	<i>S. intermedium</i> , <i>S. ornatum s.l.</i>	0,81
gruppo “hirtipes”	<i>P. hirtipes</i> , <i>P. rufipes</i> , <i>P. latimucro</i>	0,08

Dalla tabella 33 è evidente come la specie largamente più comune nei siti studiati sia *S. ornatum* s.l., presente nell’81% dei siti in cui la famiglia è segnalata. Le specie immediatamente successive in ordine di frequenza sono *S. velutinum* e *S. pseudequinum*, che si fermano al 23% e al 19% rispettivamente. Il dettaglio per tutte le specie raccolte è presentato in figura 37.

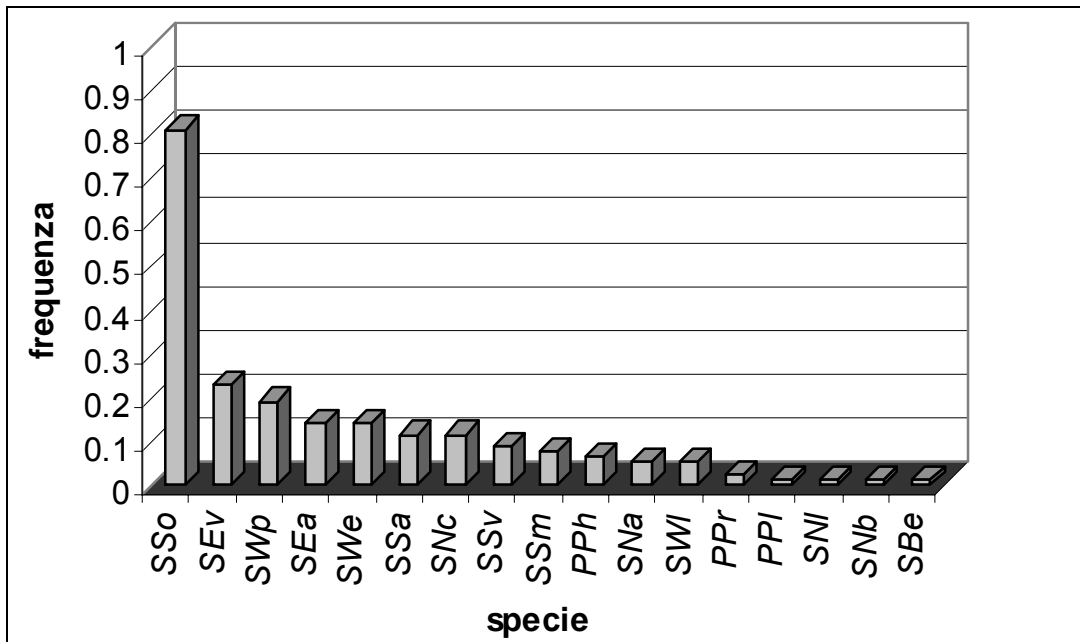


Figura 37. Frequenze di rinvenimento delle specie di Simuliidae (codici specie in tab. 31)
 Figura 37. Collecting frequencies of black fly species (species codes as in tab. 31)

Quattro specie, *S. erythrocephalum*, *S. brevidens*, *S. lundstromi* e *P. latimucro* sono state rinvenute solo nell'1% delle stazioni (cioè in 1 o 2 siti solamente) e pertanto sono state escluse dalle analisi statistiche di ordinamento; *S. intermedium* è stata invece considerata nelle analisi insieme alle altre specie del gruppo "ornatum".

I dati sulle associazioni di specie di Simulidi sono stati analizzati con una tecnica di analisi statistica (Analisi Canonica delle Corrispondenze) che raggruppa i siti (disponendoli in un piano cartesiano) in base alla struttura in specie delle associazioni di Simulidi, correlandole alle variabili ambientali che sono state misurate nei siti stessi (percentuale di saturazione dell'ossigeno disciolto, nitrati, quantità di sostanza organica in acqua, ione ammonio, altitudine, percentuali d'uso del suolo nel bacino sotteso, integrità della fascia di vegetazione riparia). Nella figura 38 sono rappresentati i siti, con il codice alfanumerico della tabella 2, le specie di Simulidi codificate come in tabella 32, e le variabili ambientali che meglio delle altre spiegano la disposizione di specie e siti di campionamento (correlazione >0,300). Gli assi 1 e 2 spiegano in totale il 31,57% della varianza dei dati (valori simili sono spesso ottenuti negli studi ecologici; ad esempio, Della Bella & Mancini, 2009). L'esecuzione del test di Monte Carlo (999 permutazioni) evidenzia una significatività dell'ordinamento rispetto ad entrambi gli assi per $p < 0,01$.

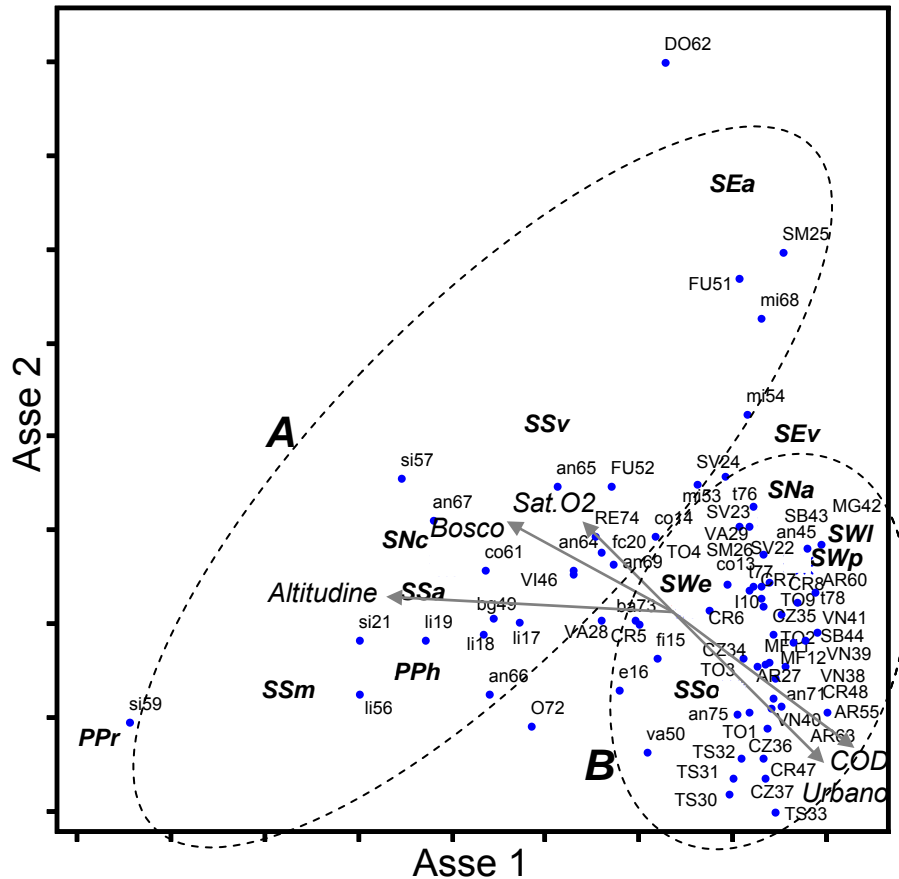


Figura 38. Analisi canonica delle corrispondenze (CCA) tra variabili ambientali e abbondanza delle specie di Simulidi nei siti studiati (codici siti in tab. 2; codici specie in tab. 32; gruppo A: condizioni migliori; gruppo B: condizioni peggiori)

Figure 38. Canonical correspondence analysis (CCA) on environmental variables and black fly species abundances in studied sites (site codes as in tab. 2; species codes as in tab. 32; group A: good conditions; group B: bad conditions)

Il risultato mostra come i siti del torrente Licenza (li17, li18, li19, li56), del torrente Simbrivio (si59, si21, si57), dell'alto Aniene (an66, an67) e del fosso Corese a monte (co61) siano caratterizzati da elevati valori di ossigeno e bassi valori di sostanze inquinanti, e che le specie caratteristiche di questo gruppo sono quelle del genere *Prosimulium* (PPh e PPr), il *S. monticola* (SSm) e il *S. argyreatum* (SSa) (settore sinistro del gruppo A); i siti del tratto superiore dell'Aniene (an64, an65 e an69) e il fosso Bagno (bg49) nei monti Prenestini, ad altitudini meno elevate, ma ancora riccamente ossigenate e con limitatissimo inquinamento delle acque, presentano comunità dominate da *S. argyreatum* (SSa) e *S. monticola* (SSm), con *S. cryophilum* (SNc) presente in alcuni siti (settore destro del gruppo A). I siti posti più a valle e in pianura presentano associazioni di specie più eterogenee. Si può osservare come i siti in migliori condizioni rispetto alla qualità delle acque abbiano prevalenza di Simuliidae del gruppo "aureum" (SEv e SEa) e di *S. angustitarse* (SNa). Siti con acque in condizioni peggiori (gruppo B) sono caratterizzate da una maggiore presenza di specie del gruppo "equinum" (SWI, SWe e

SWp) dal *S. ornatum* s.l. (SSo), che tende ad essere l'unica specie rinvenibile in condizioni estreme (metà inferiore del gruppo B). Nel complesso la variabile che più sembra essere influente nella presenza di specie di Simulidi nel totale dei 79 siti è l'altitudine, con tutto ciò che essa comporta in termini di caratteristiche dei corsi d'acqua (turbolenza, velocità di corrente, temperatura dell'acqua, ossigeno disciolto, tipo di substrato). Nella tabella seguente (35) è riportato il dettaglio della distribuzione delle specie nelle diverse fasce altitudinali, in base ai dati raccolti in questo studio. Singoli individui in una fascia non sono stati tenuti in considerazione per il possibile fenomeno di deriva.

Tabella 35. Intervalli altitudinali di distribuzione delle specie di Simuliidae
Table 35. Altitude ranges of black fly species distribution

		Altitudine (metri)					
		0-20	21-200	201-400	401-600	601-800	801-1300
Specie	<i>P. hirtipes</i>	-	-	-	+	+	-
	<i>P. rufipes</i>	-	-	-	-	-	+
	<i>P. latimucro</i>	-	-	-	-	-	+
	<i>S. ornatum</i>	+	+	+	+	+	-
	<i>S. velutinum</i>	+	+	+	-	-	-
	<i>S. angustipes</i>	-	+	-	+	+	-
	gr. aureum	+	+	+	+	+	-
	<i>S. angustitarse</i>	-	+	+	-	-	-
	<i>S. equinum</i>	+	+	+	-	-	-
	<i>S. lineatum</i>	+	+	+	-	-	-
	<i>S. pseudequinum</i>	+	+	-	-	-	-
	gr. equinum	+	+	+	-	-	-
	<i>S. argyreatum</i>	-	-	+	+	+	-
	<i>S. variegatum</i>	-	+	+	+	+	-
	<i>S. monticola</i>	-	+	+	+	-	+
	gr. variegatum	-	+	+	+	+	+
	<i>S. cryophilum</i>	-	+	+	+	-	-
	<i>S. lundstromi</i>	-	+	-	-	-	-
	<i>S. brevidens</i>	-	-	-	+	+	-
	<i>S. erythrocephalum</i>	+	-	-	-	-	-

Per meglio comprendere il significato di questi intervalli è opportuno fare una distinzione tra le specie di Simulidi. Alcune specie sono tipiche dell'ambiente montano (come le specie del genere *Prosimulium*, tutte univoltine di acque fredde); altre, come quelle del gruppo "equinum", il *S. erythrocephalum* e il *S. angustipes*, sono invece tipiche di acque più lentiche, e vengono per lo più ritrovate in pianura; un terzo gruppo, infine, composto dalle specie polivoltine, man mano che le acque si scaldano con l'incedere della primavera e dell'estate, si riproducono ad altitudini sempre maggiori, fino a sovrapporsi alle aree precedentemente occupate dai *Prosimulium*. E' questo il caso delle specie del gruppo "variegatum". E' quindi possibile che, data l'inevitabile distribuzione dei campionamenti su un tempo piuttosto lungo (i tre mesi della primavera e la

prima parte dell'estate), alcune specie sono state rinvenute in più fasce altitudinali per il verificarsi di questo fenomeno.

Per far emergere come le variabili indicative di qualità ambientale influenzassero le specie di Simulidi presenti nell'area a maggiore presenza antropica (quella di pianura analizzata anche nella rimanente parte dello studio) è stata ripetuta l'analisi escludendo tutti i siti posti ad un'altitudine maggiore di 300 m (figura 39). Gli assi 1 e 2 spiegano rispettivamente il 25% e il 13% della varianza totale. Il test di Monte Carlo (999 permutazioni) evidenzia significatività dei primi due assi ($p < 0,02$). Si osserva come *S. ornatum* (SSo) sia la specie più frequente in siti in ambiente urbano con forte inquinamento delle acque (gruppo C), e anche in siti meno alterati la specie tende a soppiantare tutte le altre (sebbene anche *S. lineatum* presenti elevata tolleranza). I siti in condizioni migliori (gruppo A), sia sotto l'aspetto della chimica delle acque, sia per il contesto ambientale, ospitano associazioni di Simulidi formate da specie come *S. cryophilum* (SNc), *S. monticola* (SSm), *S. angustitarse* (SNa), *S. velutinum* (SEv), *S. angustipes* (SEa) e *S. pseudequinum* (SWp). Dall'analisi emerge anche una buona tolleranza delle tre specie del gruppo "equinum" all'inquinamento dell'acqua (gruppo B).

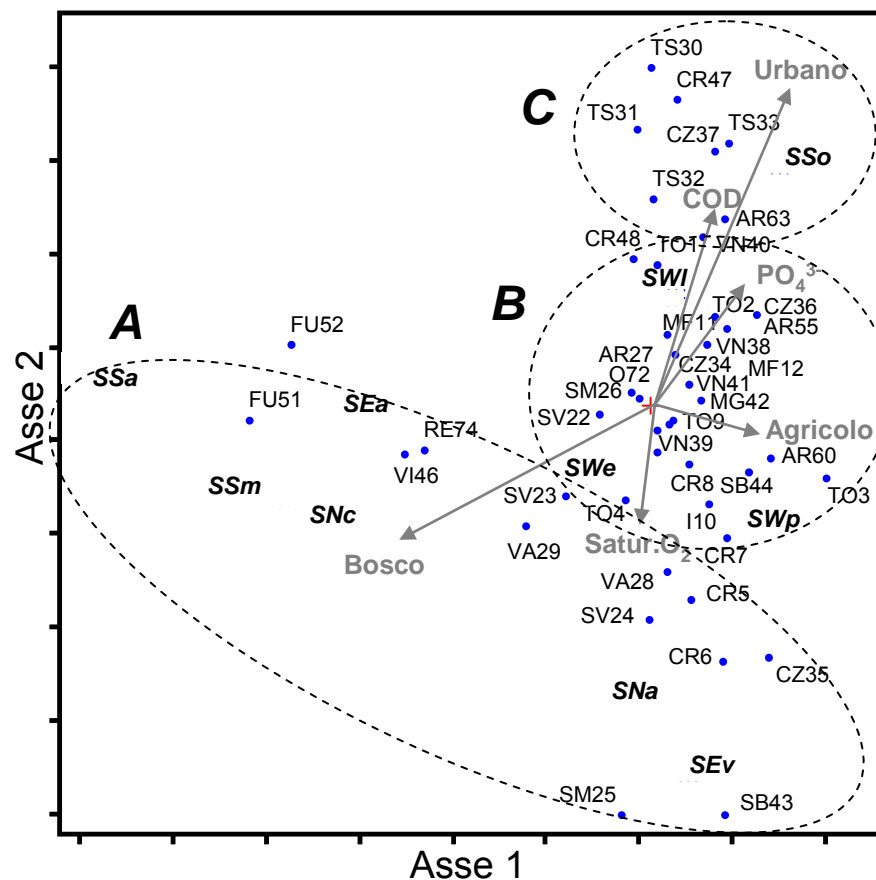


Figura 39. Analisi canonica delle corrispondenze (CCA) tra variabili ambientali e abbondanza delle specie di Simulidi nei soli siti silicei sotto i 200 m (codici siti in tab. 2; codici specie in tab. 32; gruppo A: condizioni migliori; gruppo B: condizioni intermedie; gruppo C: condizioni peggiori)
Figure 39. Canonical correspondence analysis (CCA) on environmental variables and black fly species abundances in siliceous sites under 200 m (site codes as in tab. 2; species codes as in tab. 32; group A: best conditions; group B: intermediate conditions; group C: worst conditions)

Basandosi sulle consolidate conoscenze sulle caratteristiche di sensibilità e tolleranza che rendono molti gruppi di macroinvertebrati buoni bioindicatori della qualità dei corsi d'acqua, si è studiata la frequenza di associazione delle diverse specie di Simulidi con gli altri invertebrati. La figura 40 mostra un ordinamento delle specie in base a questo fattore, rappresentando solo i gruppi per cui l'associazione è risultata altamente significativa. L'asse 1 della PCA spiega il 46% e l'asse 2 il 12% della varianza totale. Il risultato più evidente è la stretta associazione tra le specie del genere *Prosimulium* (PPh, PPr e PPI) con organismi appartenenti ad ordini di insetti quali i Plecoptera (famiglie Perlidae e Perlodidae), gli Ephemeroptera (famiglia Leptophlebiidae) e i Trichoptera (famiglie Lepidostomatidae, Limnephilidae, Policentropodidae e Philopotamidae) generalmente indicatori di buona qualità delle acque. Anche specie come *S. monticola* (SSm), *S. argyreatum* (SSa) e *S. cryophilum* (SNc) si osservano spesso in associazione con famiglie degli stessi ordini: Leuctridae e Nemouridae tra i Plecoptera, Heptageniidae e Ephemerellidae tra gli Ephemeroptera, Odontoceridae e Rhyacophilidae tra i Trichoptera. Ciò conferma che essi vengono principalmente ritrovati in corsi d'acqua in buono stato ecologico. Di contro, *S. ornatum* (SSo) e le specie del gruppo "equinum" sono caratterizzati da una forte associazione con organismi quali i Tubificidae, i Tabanidae e i Gastropoda, più spesso riconducibili ad acque in condizioni alterate o persino molto inquinate. Simili considerazioni possono essere fatte per le specie del gruppo "aureum". Altre specie di Simulidi hanno invece un profilo d'associazione meno definito, con elevate frequenze di rinvenimento insieme a organismi quali i tricoteri Hydropsychidae, i Gammaridae, gli Asellidae, i Chironomidae e altre famiglie di ditteri, che seppur compatibili con situazioni di mediocrità delle acque, non sono necessariamente indicatori di cattiva qualità dell'ambiente, per l'ampio intervallo di condizioni in cui sono generalmente ritrovate.

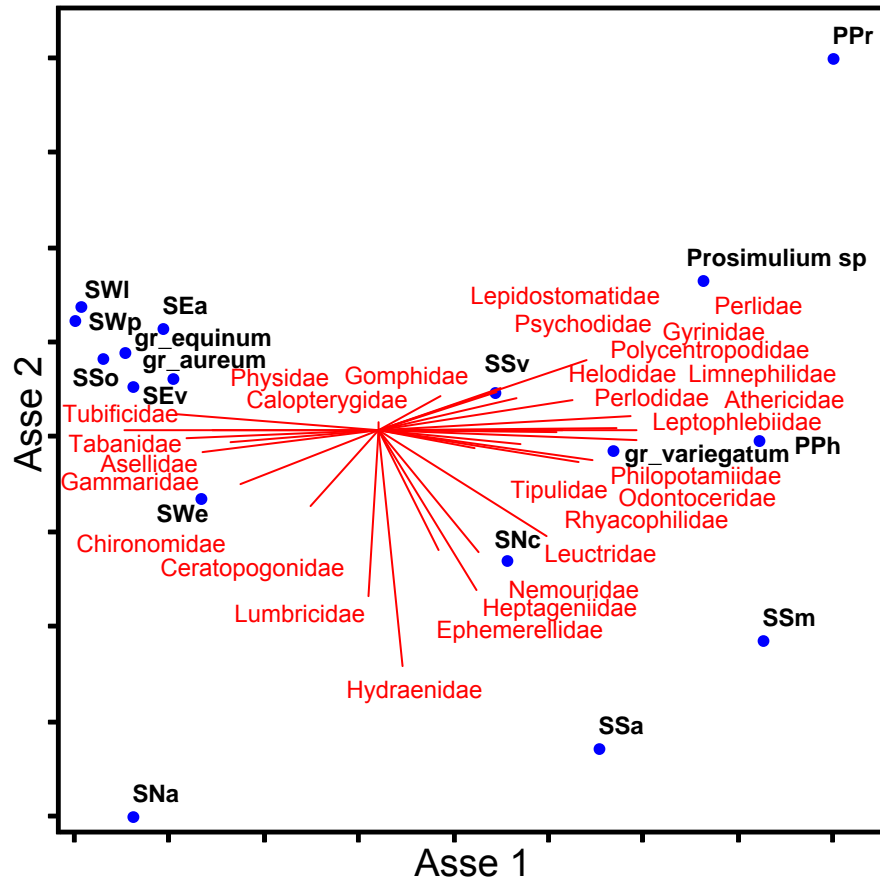


Figura 40. Ordinamento PCA basato sulla frequenza di co-rinvenimento dei Simulidi con altre famiglie di macroinvertebrati (Asse 1: 46,3% varianza totale, Asse 2: 12,2% varianza totale; codici specie in tab. 32)
Figure 40. PCA scatter based on black fly co-sampling frequency with other macroinvertebrate families (PC1: 46.3% total variance, PC2: 12.2% total variance; species codes as in tab. 32)

- *Distribuzione zonale e stagionale dei Simulidi in alcuni corsi d'acqua ancora in discrete condizioni di conservazione*

Nelle figure di seguito riportate sono presentati i grafici relativi alla composizione percentuale delle associazioni di specie ritrovate nei siti del medio-alto corso del fiume Aniene (figura 43, dalla confluenza con il torrente Simbrivio fino a Tivoli) e nei suoi affluenti principali di destra, il torrente Simbrivio (figura 41) ed il torrente Licenza (figura 42). Sia nella stazione più elevata del Simbrivio (si59) sia in quella del Licenza (li56) nella stagione invernale e nella primavera iniziale le associazioni sono dominate da specie del genere *Prosimulium* (PPh, PPr e PPI). Più a valle, in entrambe i corsi d'acqua, sono invece dominanti le specie del gruppo “variegatum” (SSv, SSm e SSa). Man mano che la stagione avanza si registra prima un picco nel numero di specie ritrovate, in corrispondenza del principio della primavera a valle, e della primavera più avanzata in quota, quindi le specie di montagna cominciano ad essere soppiantate dal gruppo “variegatum”. In tarda estate e in autunno tuttavia gli andamenti nei due corsi d'acqua

differiscono. Mentre i siti del Simbrivio, sia in quota sia più a valle, continuano ad essere dominati dal *S. argyreatum* e dal *S. monticola*, le associazioni di specie tra i siti del Licenza si comportano in modo differente. In particolare, il sito di Percile (li56) è caratterizzato dalla presenza persistente del gruppo “variegatum”, con la comparsa, anche massiva, di organismi del gruppo “aureum”. I siti li19, li18 e li17, posti invece a valle rispettivamente degli abitati di Licenza, Roccagiovane e Vicovaro e Mandela, sono interessati da una dominanza pressoché totale di organismi del gruppo “ornatum” (SSo), che vanno a soppiantare tutte le altre specie. Con l’arrivo dell’inverno nei siti più elevati si è registrata la ricomparsa delle specie del genere *Prosimulium*, mentre a valle le specie del gruppo “variegatum”, mai scomparse dai siti vallivi del Simbrivio, ricompaiono nei siti del Licenza, a scapito del *S. ornatum*.

Per quanto riguarda l’Aniene (figura 43), quasi tutti i siti del tratto medio-alto del corso d’acqua (da Trevi nel Lazio fino a Tivoli) sono caratterizzati dalla dominanza delle specie del gruppo “variegatum” (*S. argyreatum*, SSa, in particolare) durante l’intero anno. Questo discorso non vale per i siti a valle degli abitati di Marano Equo e Articoli Corrado, dove invece si registra, nel periodo tra la tarda estate e l’autunno, la dominanza del *S. ornatum* s.l. (SSo); questo complesso è presente anche negli altri siti più a monte, ma in essi non diviene mai parte dominante delle associazioni di Simulidi, rimanendo sempre intorno al 30% del totale degli individui. Dall’osservazione delle figure 42 e 43 si evince come il Simbrivio e l’Aniene siano in continuità per quanto riguarda non solo l’altitudine, ma anche le associazioni di Simulidi, così da poterli considerare come un unico gradiente altitudinale dai 1000 m ai 300 m. Più a valle l’Aniene non si presta a indagini faunistiche sui Simulidi a causa degli effetti delle attività estrattive di Villa Adriana, che intorbidiscono l’acqua di sedimento fine, rendendola probabilmente inadatta alla vita di organismi tipicamente filtratori.

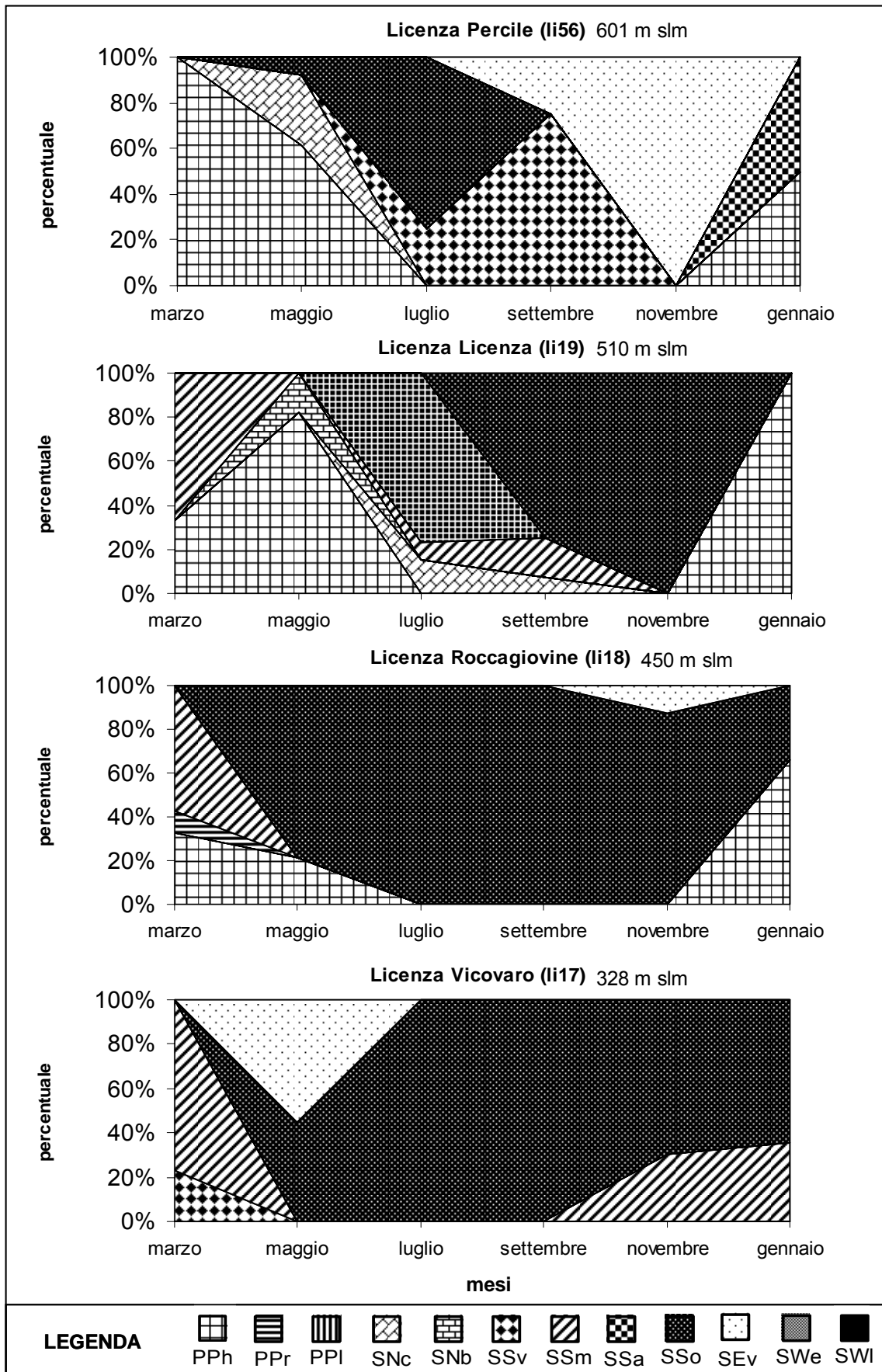


Figura 41. Composizione percentuale delle associazioni di specie di Simulidi ritrovate in 4 siti del torrente Licenza nei diversi mesi dell'anno (campionamento bimestrale; codici specie in tab.32)
Figure 41. Black fly assemblage percentage composition in 4 sites from the Licenza stream (1 year bi-month sampling; species codes as in table 32)

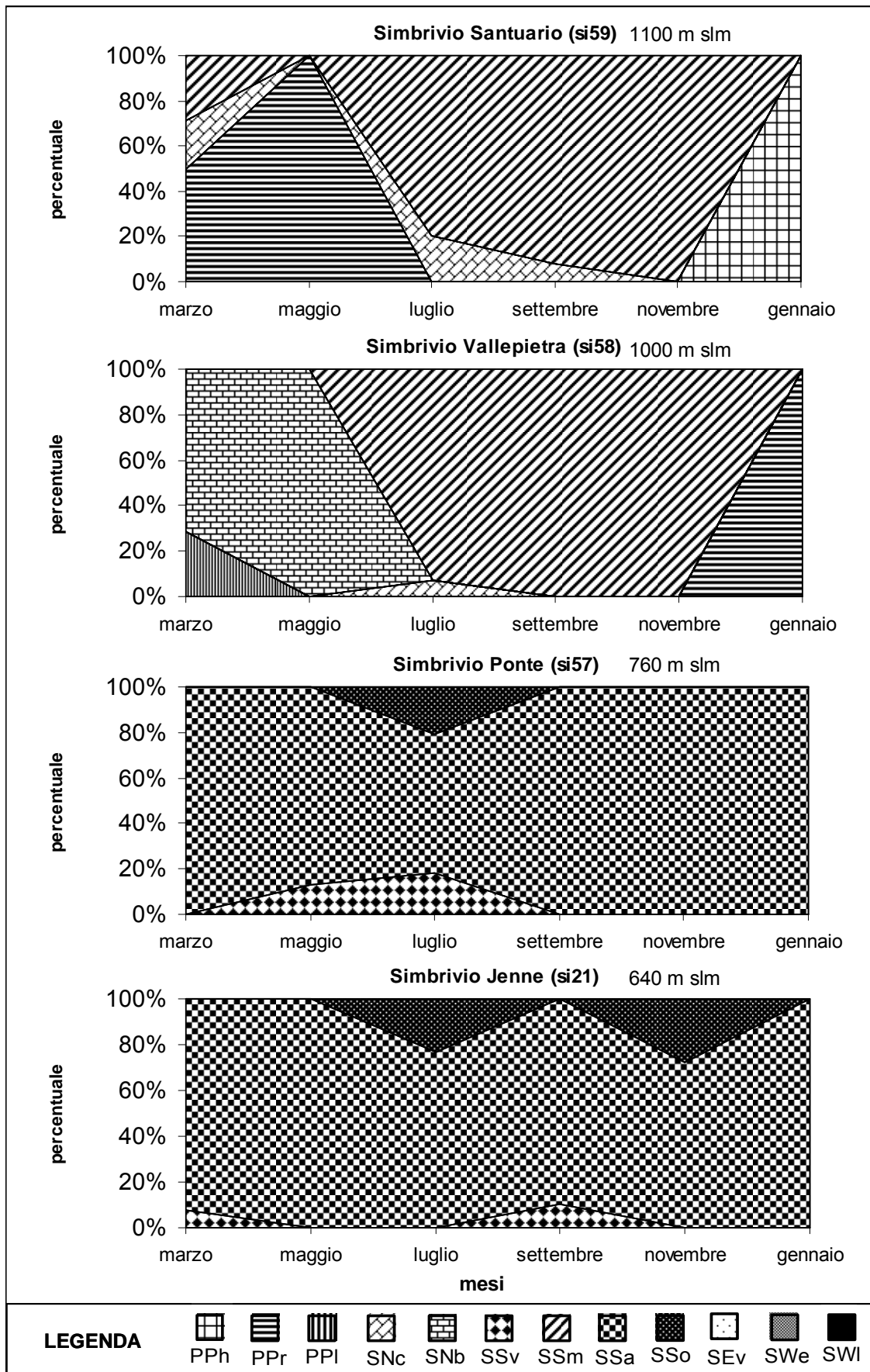


Figura 42. Composizione percentuale delle associazioni di specie di Simulidi ritrovate in 4 siti del torrente Simbrivio nei diversi mesi dell'anno (campionamento bimestrale; codici specie in tab. 32)
Figure 42. Black fly assemblage percentage composition in 4 sites of the Simbrivio stream (bi-month sampling; species codes as in tab. 32)

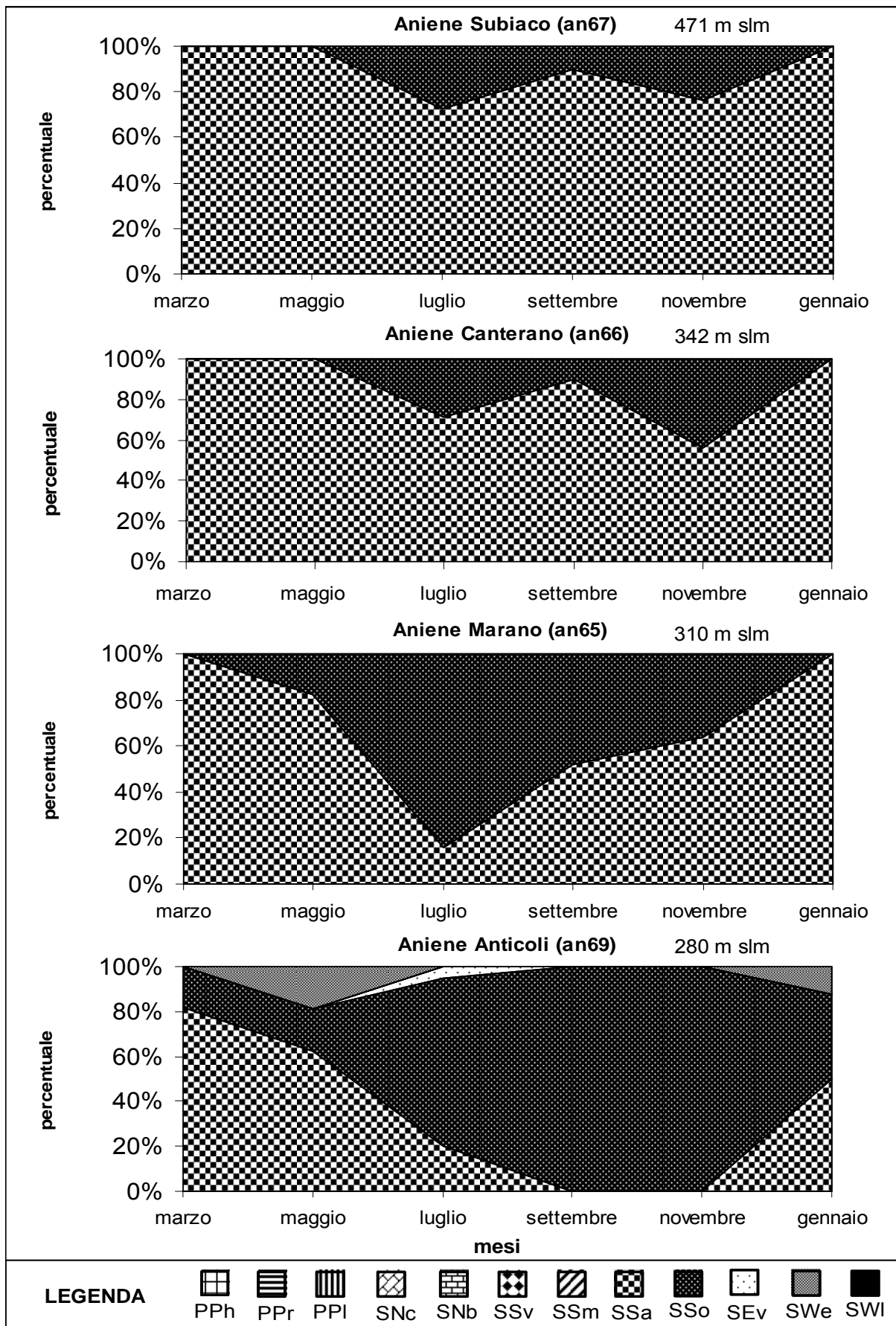


Figura 43. Composizione percentuale delle associazioni di specie di Simulidi ritrovate in 4 siti del fiume Aniene nei diversi mesi dell'anno (campionamento bimestrale; codici specie in tab. 32)
Figure 43. Black fly assemblage percentage composition in 4 sites of the Aniene river (bi-month sampling; species codes as in tab. 32)

- *Rapporto tra paesaggio e distribuzione di Simulidi*

Per verificare l'esistenza di una significativa corrispondenza tra stato di buona conservazione del paesaggio naturale e ricchezza in specie di Simulidi, la distribuzione dei siti, positivi o meno per la presenza di Simulidi, nell'area di studio è stata confrontata con la mappa delle aree protette e dell'urbanizzazione del territorio (figura 44).

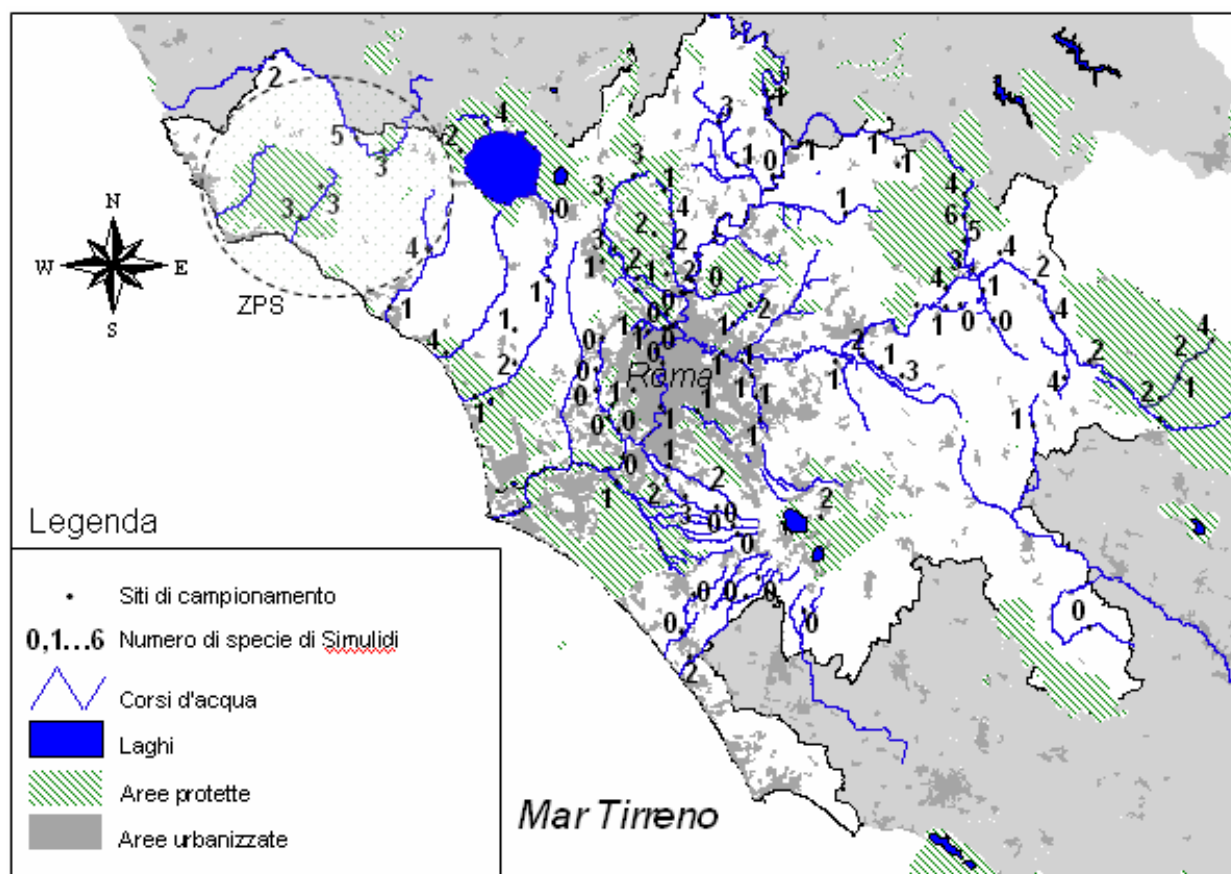


Figura 44. Numero di specie di Simulidi in ciascun sito rispetto all'urbanizzazione ed alle aree protette
Figure 44. Number of black fly species in each site, compared to urbanisation and protected areas

E' stata quindi effettuata un'Analisi della Varianza sul numero di specie di Simulidi rinvenute nei siti, raggruppati in tre tipologie: siti in aree protette (A), siti in aree non protette ma non urbanizzate (B) e siti in aree urbanizzate (C). Il risultato mostra una differenza statisticamente significativa per $p < 0,01$ tra i 3 gruppi ($F_{2,104} = 18,01$; valore soglia = 4,79). Il test di Tukey mostra che la significatività della differenza è basata sul confronto tra aree del gruppo A ed aree del gruppo B e tra aree del gruppo A e aree del gruppo C (entrambi $p < 0,01$), ma non tra aree del gruppo B ed aree del gruppo C. Pertanto la presenza di vincoli protezionistici attorno a taluni corsi d'acqua consente il mantenimento di un numero di specie significativamente superiore a quello riscontrabile in corsi d'acqua con simili condizioni nella qualità delle acque ma circondati da territori più o meno urbanizzati o con agricoltura intensiva.

4. DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

4.1 Le condizioni dei piccoli corsi d'acqua del territorio romano

La valutazione complessiva della situazione dei piccoli corsi d'acqua del territorio romano, sulla base delle analisi svolte durante questo studio, mostra un quadro di generale alterazione degli ecosistemi trattati, dovuta essenzialmente alla diffusa antropizzazione del territorio.

Dai risultati delle analisi fisico-chimiche, chimiche e microbiologiche di tutte e quattro le campagne di campionamento emerge il fatto che, eccezion fatta per alcuni torrenti di montagna, in quasi nessuno dei corsi d'acqua studiati è stata rilevata una condizione elevata nella chimica delle acque. Nello specifico, i valori della domanda biologica di ossigeno, della concentrazione di nutrienti e della concentrazione di microorganismi fecali sono le variabili ambientali che incidono maggiormente sulla qualità delle acque esaminate, con una distribuzione dei valori elevati inversamente correlata con l'altitudine dei corsi d'acqua e il grado di urbanizzazione del territorio. Il significativo aumento di questi parametri è stato riscontrato in altri studi sulle acque in contesto urbano (Lenat & Crawford, 1994; Latimer & Quinn, 1998) e viene spiegata sia dalla presenza di scarichi privi di trattamento (Litke, 1999) sia dal dilavamento del suolo impermeabilizzato (Duda et al., 1992). Inoltre, anche laddove i parametri relativi al carico organico presentano valori molto bassi, le concentrazioni di nutrienti raggiungono comunque livelli che rivelano la presenza di impatti derivanti da attività umane. Sia nei corsi d'acqua localizzati nelle aree urbanizzate, sia nei corsi d'acqua localizzati in contesti agricoli, le concentrazioni di nitrati e ortofosfati determinate in questo studio sono risultate superiori alle soglie definite dalla normativa di settore (Italia, 1999) per l'assegnazione di un giudizio buono alla qualità delle acque. L'aumento significativo degli ioni ortofosfato nei corsi d'acqua urbani è stato segnalato in diversi studi (Smart et al., 1985), talvolta a livelli tali da competere con i valori registrati nei bacini interessati dall'agricoltura (Osborne & Wiley, 1988) dove la pratica della fertilizzazione ne giustifica elevate concentrazioni. La spiegazione di questi valori è riconducibile a due fattori: l'apporto di ortofosfati dalle acque di scarico (La Valle, 1975) e la cosiddetta "bomba chimica a orologeria" (Bennett et al., 1999). Questa espressione fa riferimento al fenomeno per il quale la crescita delle città a scapito delle aree agricole (un

modello di sviluppo proprio del territorio romano) avvia processi di erosione in suoli che per decenni hanno accumulato fosforo, come risultato della fertilizzazione, mobilitandolo. Per quanto concerne l'azoto, l'aumento delle concentrazioni di nitrati e ione ammonio dovuto all'urbanizzazione è persino maggiore di quello dei fosfati (Wernick et al., 1998), e dipende dal tipo di trattamento subito dagli scarichi legali e dalla quantità di scarichi illegali. Le medesime cause valgono per spiegare l'elevata concentrazione di *Escherichia coli* che mediamente è stata rilevata nelle aree urbanizzate. L'intervallo di valori della concentrazione di coliformi fecali rilevato per i corsi d'acqua del territorio romano (0-250000 UFC/100 mL, Appendice 1/A) è paragonabile con quelli ottenuti in studi simili svolti in altre città (Young & Thackston, 1999). Gli alti valori del carico da coliformi fecali sembrano in particolare essere imputabili all'utilizzo di sistemi fognari combinati, che non separano cioè le acque reflue dalle acque piovane, con conseguenze facilmente immaginabili quando le forti piogge di fine estate – inizio autunno portano il livello delle acque oltre il livello di scollo (Gibson et al., 1998). I risultati chimici e microbiologici del presente studio sono in generale confermati dai dati reperiti da altre fonti. In particolare, i risultati delle analisi fisico-chimiche e chimiche effettuate dai laboratori della Provincia di Roma durante il monitoraggio annuale di routine delle acque superficiali (Arpalazio, 2006) confermano la presenza di un forte inquinamento d'origine domestica nei piccoli corsi d'acqua che scorrono a quote inferiori ai 200 metri, laddove si concentra il processo di urbanizzazione. Questi corsi d'acqua sono spesso utilizzati come corpi idrici recettori di scarichi, alcuni regolari, altri abusivi. Il catasto degli scarichi abusivi è tenuto aggiornato dagli enti di tutela ambientale, i quali però intervengono per la loro chiusura o collettamento alla rete fognaria ordinaria solo dopo che nei corsi d'acqua sono già stati riversati ingenti quantitativi di sostanze inquinanti, molto spesso assai superiori a quelli tollerabili dalla naturale capacità autodepurativa (funzionalità) dei corpi idrici recettori. Proprio per quantificare la funzionalità fluviale, recenti lavori, caratterizzati da un approccio di tipo ecosistemico alla valutazione della qualità degli ambienti lotici (La Vigna et al., 2009; Cataudella et al., 2009), hanno applicato l'indice IFF sui corsi d'acqua della stessa area o in parti di essa. I risultati emersi sono in accordo con quelli ottenuti dal presente studio. Nelle aree urbanizzate, oltre che all'uso del suolo e all'eccessivo apporto di sostanza organica, i bassi valori di funzionalità dei corsi d'acqua sono dovuti soprattutto alla mancata preservazione delle fasce di vegetazione perifluviale e ai sistematici interventi di rettifica e contenimento dell'alveo durante i lavori di gestione urbanistica o realizzazione di infrastrutture. Bassi valori di funzionalità sono stati rilevati anche in ambienti agricoli e zone limitatamente urbanizzate dell'area di studio. Questo risultato è legato alla gestione del reticolo minore effettuato dalle amministrazioni locali e da gestori

privati, che prevede il taglio della vegetazione perifluviale e la pulizia dell'alveo per dragaggio, in osservanza del solo funzionamento idraulico a breve termine del sistema.

4.2 Le comunità di macroinvertebrati

I risultati dello studio della composizione e abbondanza delle comunità di macroinvertebrati lungo il gradiente di urbanizzazione del territorio romano permettono di fare alcune considerazioni valide a livello generale per tutti i bacini urbanizzati. La riduzione della diversità degli invertebrati bentonici (da una media di 29 famiglie nei siti in ambiente naturale integro si scende a 4-5 famiglie per gli ambienti in contesto urbano) è il più notevole effetto del cambiamento d'uso del suolo e dei fenomeni ad esso legati. La diminuzione della diversità macrobentonica nei corsi d'acqua urbani è stata ricondotta a diverse cause, come la presenza di tossine, i cambiamenti della temperatura, l'aumento dei sedimenti in sospensione e l'aumento della concentrazione di sostanza organica e nutrienti (Resh & Grodhaus, 1983; Wiederholm, 1984; Rutherford et al., 2004; Miller & Boulton, 2005). In particolare, uno degli aspetti più studiati in letteratura è l'effetto degli inquinanti organici sugli invertebrati: le comunità macrobentoniche si trovano ad essere dominate da Ditteri (Chironomidae e Simuliidae) e Oligocheti (Wright et al., 1995; Couceiro et al., 2006). Nella figura 18, che sintetizza i risultati di questo studio per quanto concerne le abbondanze relative delle famiglie di organismi, si può riconoscere come questa dominanza sia nettamente spostata verso i Ditteri, che da soli compongono mediamente il 90% delle comunità macrobentoniche nelle aree fortemente urbanizzate. Analizzando gli andamenti dei diversi taxa all'aumentare dell'uso del suolo urbano la diminuzione della diversità si riscontra per tutti i gruppi zoologici principali (Thorne et al., 2000), ma più evidentemente negli ordini di insetti Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (Hachmoller et al., 1991; Urban et al., 2006). Nel presente studio, in particolare, il numero di famiglie di questi ordini passa da una media di 11,4 nei siti in aree prive di urbanizzazione a solo 0,66 famiglie nei siti in territorio urbanizzato, passando per le 8 famiglie circa in media nelle aree agricole e le circa 3 nelle aree di urbanizzazione rada.

Nello studio degli effetti dell'urbanizzazione sulle comunità di macroinvertebrati risulta in generale molto difficile discernere tra i differenti meccanismi che generano gli effetti osservati e misurati: la natura multivariata del disturbo urbano non consente infatti di isolarli efficacemente (Paul & Meyer, 2001). Sono stati effettuati studi sul grado di torbidità dell'acqua (Collier, 1995; Wood & Armitage, 1997), la tossicità dei sedimenti (Benke & Wallace, 1997), la deforestazione delle rive (Horner et al., 1997; Roy et al., 2006) e la presenza di suolo impermeabilizzato

(Forman & Alexander, 1998; Trombulak & Frissell, 2000). Ulteriori sforzi sono necessari per comprendere gli effetti di ciascun meccanismo sull'ecologia dei macroinvertebrati, anche in previsione della messa in atto di azioni di recupero (Palmer et al., 2007), come il ripristino delle fasce di vegetazione igrofila perifluviali. Dati sul potenziale di ricolonizzazione degli insetti acquatici in area urbana (Pedersen & Parkins, 1986) suggeriscono che interventi di questo tipo potrebbero dare risultati significativi. Tali azioni, se realizzate singolarmente, non sono tuttavia sufficienti per consentire il recupero delle comunità di macroinvertebrati: Walsh et al. (2007) osservano come la connessione diretta tra il suolo impermeabilizzato delle aree urbane e il corso d'acqua, tramite tubi, abbia l'effetto di cortocircuitare il sistema, rendendo inutili gli interventi di riqualificazione delle sponde, se non si procede contestualmente ad un ripensamento del meccanismo di drenaggio (Walsh et al., 2005b). Nel territorio romano le prime azioni in tal proposito sono state avviate per il reticolo idrografico del Parco Regionale dell'Appia Antica, con la piantumazione di vegetazione igrofila e un progetto per la riqualificazione della stabilità e diversità dell'alveo, ma si tratta di interventi ancora allo stato embrionale.

4.3 I metodi di valutazione basati sulla comunità di macroinvertebrati

In questo studio sono stati seguiti due approcci per lo sviluppo di un metodo di valutazione dello stato dei corsi d'acqua basato sulla struttura delle comunità di macroinvertebrati: la messa a punto di un indice multimetrico e la costruzione di una rete neurale SOM. L'approccio multimetrico ha previsto, sul modello di quanto già fatto in precedenza in Europa per studi simili (Pinto et al., 2004, Skoulikidis et al., 2004, Buffagni et al., 2004) una prima fase di analisi multivariata dei dati sulle comunità di invertebrati, per estrarne le componenti principali di variazione (PCA). L'asse di variazione principale, risultato fortemente correlato ai parametri esprimenti la qualità ecologica dei corsi d'acqua, è stato quindi utilizzato, congiuntamente ai risultati del raggruppamento dei siti in base alla presenza/assenza e abbondanza dei taxa (TWINSpan), per ottenere una classificazione dei siti in base alla quale testare l'efficacia delle metriche. Queste ultime sono risultate per la maggiorparte abbastanza correlate tra loro, in quanto tutte rispondono al forte gradiente di qualità determinato dal gradiente di urbanizzazione imposto per la messa a punto del metodo. Pertanto, onde evitare un eccessivo grado di intercorrelazione tra le metriche incluse nel metodo multimetrico, la selezione e l'assegnazione del peso alle metriche sono state effettuate tenendo conto di più aspetti, ciascuno dei quali teoricamente in grado di fornire una diversa descrizione dei cambiamenti della comunità dovuti alle alterazioni ambientali (Hering et al., 2004). Le tre metriche selezionate per l'aspetto della

ricchezza/diversità sono il “Numero di taxa a livello IBE”, l’“Indice di Margalef” e l’“Equitabilità/Eveness”. I risultati dei test t di Student hanno mostrato come tra di esse il “Numero di taxa a livello IBE” sia quella in grado di attribuire con più efficienza i campioni a una delle cinque classi di qualità, ed ha pertanto ricevuto un peso maggiore nel calcolo dell’indice. L’indice di Margalef è stato preferito all’ “Indice di Shannon” (già utilizzato in indici multimedrici; Buffagni & Erba, 2007b) perché ha mostrato maggiore correlazione con il gradiente di qualità dettato dal livello d’urbanizzazione. L’ “Equitabilità”, misura della uniformità di distribuzione degli organismi tra i diversi taxa, è stata selezionata per la capacità di distinguere nettamente i siti in aree fortemente urbanizzate da quelli in aree in cui l’urbanizzazione è meno forte. Alle due metriche “1-GOLD” e “Abbondanza relativa di Plecoptera”, sebbene riguardino diverse componenti delle comunità, sono stati assegnati differenti pesi nel calcolo dell’indice (maggiore per l’ “1-GOLD”). Ciò è legato al fatto che l’ “1-GOLD” ha un *pattern* di variazione rispetto all’inquinamento delle acque che è più graduale, consentendo la formulazione di classi di qualità con simili intervalli di variazione. Inoltre l’ “1-GOLD” è basato su taxa (Gasteropodi, Oligocheti e Ditteri) che sono presenti nei corsi d’acqua per lunghi periodi dell’anno, a differenza dei Plecotteri che sono invece più suscettibili alla stagionalità (Morais, 1995) soprattutto in corsi d’acqua che, sebbene perenni, vedono diminuire fortemente la loro portata nella stagione calda. L’ “Abbondanza relativa di Plecoptera”, nonostante la limitata linearità, è stata comunque selezionata perché determina una netta divisione tra i siti interessati da urbanizzazione e tutti gli altri. Il BMWP’, una metrica di tolleranza, è infine stato selezionato perché mostra sia linearità lungo il gradiente, sia efficacia nel separare tra loro le classi, come dimostrato dai test t di Student. Conferme a questi buoni risultati del BMWP’ sono presenti in altri studi svolti in corsi d’acqua mediterranei (Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1996). L’indice complessivo ottenuto si è dimostrato in grado di classificare efficacemente nuovi campioni, non utilizzati per lo sviluppo dell’indice stesso, assumendo nei diversi siti valori conformi alla caratterizzazione dei siti stessi in termini di livello di urbanizzazione del territorio e inquinamento.

L’utilizzo delle reti neurali non prevede l’identificazione (selezione) di caratteristiche dei campioni di macroinvertebrati per valutarli, ma raggruppa i campioni in base alla struttura dell’intera comunità campionata (Park et al., 2004). Partendo da dati di comunità complessi e multivariati, l’algoritmo fornisce una interpretazione globale dello stato ecologico dei siti in cui sono stati raccolti i campioni, rappresentandoli in una dimensione ridotta: la rete SOM (Chon et al., 1996; Recknagel, 2002; Park et al., 2003). Nonostante i risultati dell’utilizzo di una rete SOM siano per certi versi simili a quelli ottenuti da tecniche di classificazione e ordinamento più

convenzionali (*cluster analysis, PCA, MDS*), una differenza sostanziale sta nel fatto che la rete SOM spiega il 100% della varianza dei dati, mentre la PCA ne spiega solo una parte (in questo studio, le prime due componenti della PCA spiegano il 52% della variabilità dei dati di struttura di comunità). Inoltre il tipo di raggruppamento ottenuto con la rete SOM non presenta i problemi di sensibilità al rumore di fondo e distorsione tipici delle tecniche di ordinamento classiche, e pertanto è molto più indicata nel classificare i campioni (Vesanto et al., 1998). D'altro canto una rete SOM non porta all'espressione diretta di un giudizio tramite un numero, come viene ottenuto dall'applicazione di un indice multimettrico, ma rappresenta rapporti topologici di similarità sulla base dei quali è possibile assegnare un sito ad un raggruppamento o ad un altro, o ad una situazione intermedia. Nell'operazione di attribuzione dei siti ai gruppi si è dimostrata utile la costruzione della "matrice U", che segnala i confini più netti tra i gruppi tramite gradazioni di colore. Gruppi posizionati in settori vicini della mappa possono essere molto distanti rispetto alle caratteristiche delle relative comunità di macroinvertebrati se i neuroni interposti presentano toni molto scuri, e viceversa. In letteratura vengono riportati altri metodi per il raggruppamento dei nodi delle SOM (Giraudel et al., 2000; Park et al., 2003), ma dato che l'addestramento delle reti SOM avviene in maniera non supervisionata (non c'è un modello alla base), non è semplice valutare quale raggruppamento sia più efficace, e studi sono ancora necessari per migliorare i metodi per determinare la verosimiglianza dei raggruppamenti ottenuti (Park et al., 2004). L'interpretazione dei raggruppamenti come espressione di una classificazione relativa alla qualità è stata poi possibile tramite il confronto con la preclassificazione abiotica; una conferma della validità delle classi ottenute è stata inoltre fornita dall'analisi visiva dell'importanza di alcuni taxa, con provato valore di indicatori, nella determinazione della topologia della mappa. La rete SOM permette di fare questo perché, come in un'analisi di corrispondenza, consente di visualizzare contemporaneamente il raggruppamento dei campioni e la distribuzione dei taxa che lo determinano (mappe in figura 33 e 34). Il riconoscimento di nuovi vettori *input* (rappresentato da campioni non utilizzati nella costruzione della rete), utile alla validazione del metodo di classificazione con la rete SOM, è reso possibile dal fatto che il neurone che ha risposto nel modo migliore (vincente) ad un gruppo di vettori *input* durante l'addestramento della rete SOM gioca un ruolo di una vera e propria entità a sé stante, che rappresenta comunità simili tra loro (Ultsch, 1993). Un nuovo vettore presentato alla rete può essere attribuito ad un neurone già determinato o essere collocato in un nuovo neurone. Dai risultati di questo studio è emerso che solo nel caso di un vettore relativo ad un sito di un'area fortemente urbanizzata (D) si è verificata completa corrispondenza con un neurone già presente. Ciò riflette l'aumento in similarità tra comunità raccolte in siti alterati, povere di taxa e

banalizzate, rispetto a campioni provenienti da siti relativamente integri (A, B e C), nei quali le comunità presentano maggiore variabilità spaziale (Chon et al., 1996).

Una differenza fondamentale tra i due metodi IM e SOM_U è il fatto che mentre nel sistema multimetrico è stato individuato un gruppo di metriche definite, che non possono essere cambiate a meno di una revisione del metodo, la rete SOM non prevede una selezione, per quanto motivata, di alcune grandezze descrittive, ma analizza tutti gli aspetti della comunità ogni qual volta le viene presentato un nuovo campione da classificare. Si tratta di una differenza che conferisce alle reti una maggiore plasticità e una maggiore accuratezza nella classificazione e che va in parte a bilanciare la minore precisione legata al problema dell'interpretazione dei raggruppamenti ottenuti (problema che nel metodo multimetrico non si pone per la chiarezza degli intervalli delle classi). Va tuttavia sottolineato che in un approccio applicativo l'importanza della precisione di un metodo è maggiore di quella dell'accuratezza dello stesso, in quanto è prioritaria la possibilità di effettuare facilmente confronti tra metodi di valutazione applicati in diverse realtà; in tale contesto l'utilizzo di un indice multimetrico, apprezzabile anche per le sue caratteristiche di modularità, sembra essere quello più indicato. Un utilizzo congiunto delle due metodiche, l'indice multimetrico e la rete neurale, può comunque essere una soluzione al superamento dei limiti di entrambi, perché differenze nel giudizio costituiscono un segnale di scarsa chiarezza del risultato, un segnale di allarme in seguito al quale è necessario effettuare delle verifiche.

I due metodi di classificazione sviluppati in questo studio (l'indice multimetrico e la rete SOM interpretata con l'aiuto della matrice U) hanno presentato un accordo, nell'assegnazione dei siti alle classi di qualità, pari all'84% (calcolato tramite la percentuale di siti che ricadono nella stessa classe con i due metodi). Il significato di questo dato può essere valutato paragonandolo con quello ottenuto dai confronti tra gli stessi due metodi e gli altri metodi di classificazione applicati (Nijboer et al., 2003; tabella 31 del capitolo "Risultati"): preclassificazione basata sul livello di urbanizzazione del territorio, postclassificazione basata sui dati biologici, indice LIM basato sulle variabili chimiche e fisico-chimiche (Italia, 1999), indice IFF basato sulla funzionalità dell'ecosistema (Siligardi, 2007) e l'indice STAR_ICMi (Buffagni & Erba, 2007b) metodo nazionale in via di ufficializzazione per la valutazione dello stato dei corsi d'acqua guadabili tramite i macroinvertebrati. Gli accordi minori sono quelli registrati tra i metodi biologici e la classificazione in base alle variabili chimiche e fisico-chimiche (LIM). Ciò è in accordo con il fatto che le comunità di macroinvertebrati non rispondono principalmente ad uno o all'altro dei singoli tipi di impatti ma riflettono variazioni della qualità generale dell'ambiente. A conferma di ciò, l'indice IFF, che valuta l'ecosistema

lotico nel suo complesso, ha un più elevato livello di accordo sia con gli indici sviluppati in questo lavoro (IM e SOM_U) sia con lo STAR_ICMi. Quest'ultimo in particolare presenta elevato accordo nella classificazione dei siti sia con l'indice multimetrico IM (84%) sia con il metodo SOM_U (82%), sia ancora con la preclassificazione abiotica (84%) e la postclassificazione biologica (82%). Il metodo STAR_ICMi mostra pertanto validità anche nella valutazione degli impatti di generale alterazione dei corsi d'acqua legati all'urbanizzazione. Il maggior livello d'accordo tra IM e STAR_ICMi, rispetto a quello presente tra la rete SOM e lo STAR_ICMi, è legato al fatto che sono entrambi indici multimetrici (con una metrica componente in comune, l' "1-GOLD") che vanno a indagare aspetti simili delle comunità di macroinvertebrati. Le differenze presenti a livello di giudizio tra l'IM e lo STAR_ICMi sembrano comunque essere legate alla specificità del primo per la valutazione delle conseguenze dell'urbanizzazione: l'IM restituisce giudizio "elevato" a corsi d'acqua (CR5i, CR5p, VA28i) posti in aree naturali del tutto prive di urbanizzazione, ma non di attività agricole (percentuali riportate in Appendice 1/B), i cui impatti, seppur limitati, vengono colti dallo STAR_ICMi, che penalizza questi siti giudicandoli solo in stato "buono". Lo stesso discorso vale per il confronto tra i risultati del metodo SOM_U e lo STAR_ICMi, evidenziando la maggiore efficacia dei due indici messi a punto in questo studio nell'analisi dello specifico disturbo "urbanizzazione", per la valutazione del quale sono stati appositamente sviluppati.

4.4 I Simulidi nella valutazione dello stato ecologico dei corsi d'acqua della provincia di Roma

I risultati di questo studio confermano le osservazioni sulla possibilità di utilizzare gli stadi preimmaginali della famiglia dei Simulidi per la valutazione della qualità ambientale dei corsi d'acqua (Rivosecchi et al., 1973; 1974; 1983; Feld et al., 2002; Lautenschlager & Kiel, 2005). Oltre ad essere sufficientemente semplici da campionare sia allo stato di larva sia in quello di pupa, grazie al fatto che conducono vita larvale statica, essi sono risultati organismi particolarmente abbondanti e praticamente ubiquitari, e le uniche stazioni in cui non sono stati ritrovati sono i corsi d'acqua in condizioni di evidente fortissima alterazione, dove quindi non è necessario l'utilizzo di bioindicatori per valutare la qualità: è il caso dei corsi d'acqua letteralmente ricoperti di schiuma dell'area industriale dei Colli Albani, o dei fossi pieni di polveri derivanti dalla lavorazione del travertino nella zona di Tivoli. Fra gli insetti, in particolare, sono il gruppo più frequentemente utilizzato come bioindicatore dopo i Chironomidi, che a loro volta sono considerati buoni indicatori ecologici anche per le acque correnti e come

tali sono stati studiati più ampiamente dei Simulidi (Bazzanti & Bambagino, 1987; Adriaenssens et al., 2004).

Un confronto tra i dati ottenuti da questo studio e quelli recuperabili dalle ricerche effettuate in passato sui Simulidi della stessa area può essere utile per illustrare come i cambiamenti in atto nell'area di studio stiano alterando gli ecosistemi dei piccoli corsi d'acqua. Dai risultati emerge come 11 delle 25 specie di Simulidi precedentemente segnalate per il territorio di Roma non siano state ritrovate, mentre due specie sono state segnalate per la prima volta nell'area di studio. Per spiegare le assenze possono essere avanzate diverse ipotesi, dividendo le specie non ritrovate in quattro gruppi. Tre specie, identificabili con un primo gruppo, sono sicuramente assenti dall'area: *S. rivosecchii*, *S. balcanicum* e *S. liriense*. Le prime due furono segnalate negli anni '50 in una pubblicazione dal titolo "Fauna dell'U.R.S.S." (Rubzov, 1956), ma la loro presenza non è mai stata confermata. La terza, un tempo presente nell'alto corso del fiume Sacco presso Colleferro, è scomparsa da molti anni a causa del ben noto inquinamento chimico delle acque di questo fiume (Rivosecchi, 1988). Un secondo gruppo include le specie probabilmente ancora presenti nella Provincia di Roma, il cui mancato rinvenimento è imputabile a lacune nelle ricerche effettuate. Per esempio, tra le specie del gruppo "ornatum", il *Simulium pontinum*, appartenente al gruppo "ornatum", fu segnalato in numero scarsissimo in un'unica stazione presso Monterano (Rivosecchi et al., 1977); interventi di sistemazione dell'area per scopi ricreativi possono aver determinato la scomparsa della popolazione locale di questa specie, che comunque è stata ritrovata in un campionamento effettuato in un sito in provincia di Latina non lontano dal confine con la provincia di Roma (Ciadamidaro et al., dati non pubblicati). Non è stato ritrovato il *S. reptans*, segnalato come abbondantissimo alla foce del fiume Arrone (Rivosecchi et al., 1974), probabilmente a causa delle forti alterazioni intervenute nella qualità dell'acqua; non si può però escluderne la presenza in qualche piccolo affluente dell'Arrone o del Tevere. *S. marsicanum*, *S. petricolum* e *S. hispaniola* costituiscono un quarto gruppo, con specie segnalate in stazioni montane difficilmente accessibili, dove non è stato per ora fatto alcun tentativo di ritrovarle. L'ultimo gruppo comprende il solo *S. vernum*, per il quale possono essere fatte particolari considerazioni in rapporto all'urbanizzazione del territorio. Questa specie era stata segnalata per un piccolo corso d'acqua proveniente dal grande pantano della Doganella sui Colli Albani, circondato da un bosco di pioppi (*Populus nigra*) sui quali gli adulti femmine si appostavano per aspettare il vertebrato da pungere (Rivosecchi, 1972). In occasione del recente campionamento nella stazione DO62 nei pressi di Rocca Priora si è appurato come la costruzione di edifici ad uso abitativo e impianti sportivi abbia di fatto distrutto il bosco di pioppi, e nel corso d'acqua non sono state rinvenute larve di *S. vernum*, sebbene siano presenti altre specie di

Simulidi, in particolare *S. angustipes* e *S. ornatum*. Da questa e da altre scomparse di specie ornitofile, come *Simulium fucense* dalla sorgenti del Fucino (Rivosecchi, dati non pubblicati) sembra che l'abbattimento di alberi normalmente utilizzati come siti di appostamento da adulti ornitofili determini la scomparsa delle larve dalle limitrofe sorgive; a prescindere completamente dalla qualità delle acque medesime

L'analisi canonica delle corrispondenze ha permesso di appurare che la variabilità nella struttura delle associazioni di Simulidi dell'intera area di studio è spiegata in primo luogo dall'altitudine, in linea con osservazioni precedenti sulla successione ecologica, da monte a valle, delle specie di questa famiglia (Rivosecchi, 1971; Rivosecchi & Mancini, 1983; Illesova et al., 2004; 2008). La limitazione dell'analisi a siti di altitudini comparabili sotto i 300 m ha invece evidenziato come i fattori principali di variabilità nelle associazioni di specie siano variabili legate allo stato trofico e all'inquinamento d'origine domestica delle acque. La presenza di *S. ornatum* come specie dominante o come specie unica sembra in particolare denotare i siti in condizioni qualitative più alterate. Dall'analisi emerge anche una elevata tolleranza delle specie del gruppo "equinum" all'eutrofia dell'acqua, tanto che spesso sono le uniche ritrovate in associazione con il *S. ornatum*. Questo dato concorda con la riconosciuta predilizione degli adulti di questo gruppo di specie per aree in cui viene praticato l'allevamento (Rivosecchi, 1997), ad esempio lungo la valle dell'Arrone, alla riserva della Marcigliana o sui Monti della Tolfa, anche a scapito della qualità delle acque in cui vivono le larve (Rivosecchi, 2005).

L'ampia diffusione del gruppo "ornatum" rilevata nell'area di studio non è legata esclusivamente alla capacità delle larve di sopravvivere in acque inquinate. *S. ornatum* s.l. è stato rinvenuto in ben 12 casi su 37 come unica specie di Simulidi nel sito. Le specie del gruppo "equinum", che pure si ritrovano in un numero comparabile di siti (16) si rinvengono in un solo caso come unico gruppo presente, e questo nonostante i due gruppi abbiano mostrato di possedere simili intervalli di tolleranza all'inquinamento delle acque. La maggiore capacità del gruppo "ornatum" di soppiantare tutti gli altri gruppi e specie è legata al fatto che le specie che lo compongono non solo riescono a sopravvivere in condizioni di inquinamento piuttosto elevato, ma traggono giovamento, nella competizione interspecifica, dalla variazione dell'uso del suolo in atto nel territorio romano. Le specie del gruppo "equinum" hanno infatti una specificità parassitaria per i grandi vertebrati in generale e gli animali domestici allo stato brado in particolare (figura 45; Rivosecchi, 2005), il che ne ha comportato la scomparsa in tutte quelle aree in cui questo tipo di allevamento è stato sostituito da altre pratiche o il territorio è andato incontro a urbanizzazione, con definitiva eliminazione degli animali parassitati. Così, mentre le larve di ambedue i gruppi possono sopravvivere in condizioni di chimismo delle acque non ottimali, solo gli adulti

femmine del *S. ornatum* s.l. sono in grado di rivolgere le proprie ricerche per il pasto di sangue su organismi quali uccelli, ratti, e persino uomini, che si trovano in ambienti in cui il paesaggio è stato fortemente modificato, come nel contesto urbano (figura 46). In sintesi, si può schematizzare il processo di trasformazione della fauna a Simulidi, lungo un gradiente di qualità legato all'urbanizzazione, con la scomparsa delle specie presenti in condizioni naturali, in prima battuta sostituite dall'associazione gruppo "equinum" – gruppo "ornatum", e quindi dal solo gruppo "ornatum", unico in grado di sopravvivere con focolai massicci in ambiente urbano. Il campionamento bimestrale dei siti localizzati sui torrenti Simbrivio e Licenza e sul medio-alto corso del fiume Aniene ha permesso, da una parte, di confermare anche per la provincia di Roma



Figura 45. Bestiame allo stato brado nei monti della Tolfa; in questo ambiente è tipico il rinvenimento di Simulidi del gruppo "equinum" (anche in associazione con altre specie).

Figure 45. Cattle in the wild in the Tolfa hills; in such a landscape it is typical the collection of "equinum"-group black flies (in association with other species)

i dati sulla successione ecologica dei gruppi di specie di Simulidi nei corsi d'acqua dell'Appennino centrale in particolare (Rivosecchi, 1971) e dei massicci montuosi europei in generale (Moog, 1995; Illesova, 2003); dall'altra ha mostrato come l'alterazione delle condizioni ecologiche dei corsi d'acqua possa modificare la successione ecologica delle specie. Nel torrente Licenza, che tra la fine dell'estate e l'autunno va incontro a processi di eutrofizzazione legati alle attività produttive (quelle dei frantoi in particolare), le specie tipiche dei vari intervalli altitudinali (gruppi "equinum" e "aureum", gruppo "variegatum", gruppo "hirtipes") vengono sostituite dal solito *S. ornatum* s.l., il quale, essendo polivoltino, è in grado di risalire un po' alla

volta il corso d'acqua in eutrofizzazione, fino a presentarsi, nei tratti più elevati, in bizzarre associazioni con specie del genere *Prosimulium*.

I risultati di questo studio contrastano in parte con quanto osservato in Europa centrale da Illesova et al. (2008), secondo cui il *S. ornatum* sarebbe più facilmente rinvenuto in acque mesotrofiche in associazione con il *S. variegatum*, mentre nelle acque maggiormente eutrofiche sarebbe più tipico il rinvenimento del *S. lineatum* (gruppo "equinum") e del *S. erythrocephalum*. I dati raccolti nella provincia di Roma concordano con le suddette caratterizzazioni ecologiche del gruppo "variegatum" e del gruppo "equinum", ma attribuiscono al *S. ornatum* una più ampia valenza ecologica, essendo esso ritrovato in associazione sia alle specie del gruppo "variegatum" in condizioni di mesotrofia, sia a quelle del gruppo "equinum" in condizioni di eutrofia, fino alla condizione estrema di rimanere l'unica specie della famiglia in aree fortemente inquinate. Quest'ultima osservazione è in accordo con quanto osservato da Timm (1995) e Feld et al. (2002), per i quali il gruppo "ornatum" presenta al suo interno le specie più tolleranti in termini di qualità delle acque.

Un'interessante osservazione sulle implicazioni della maggiore adattabilità del gruppo "ornatum" riguarda le segnalazioni di attacchi all'uomo, già verificatisi in passato (Rivosecchi, 1997; Adler & McCreadie, 2002) e riscontrati recentemente anche nell'area di studio. Durante questo lavoro sono stati infatti registrati degli attacchi alle persone da parte di Simulidi, in un vivaio localizzato nei pressi della stazione TS33 (fosso di Tor Sapienza tra Roma e Grottaferrata). La forte alterazione sia delle acque del fosso sia del territorio circostante (figura 46) ha favorito la presenza di massivi focolai larve di *S. ornatum* s.l., unica specie rinvenuta nel fosso di Tor Sapienza (siti TS30, TS31, TS32 e TS34), la cui propensione ad attaccare l'uomo è già stata studiata, (Rivosecchi & Mancini, 1998), i cui adulti hanno sfruttato le condizioni d'umidità favorevoli presenti nel vivaio per appostarsi e pungere gli operai a lavoro (figura 47). L'importanza sanitaria della famiglia dei Simulidi è legata soprattutto al fatto che essi possono essere vettori di gravi malattie umane nei paesi tropicali; ai nostri climi sono stati registrati solo problemi di entità minore (fastidio, reazioni allergiche).

Questa situazione non deve tuttavia far sottovalutare le possibili minacce che questi ditteri possono rappresentare per le persone che risiedono o svolgono attività nei pressi dei corsi d'acqua. Soprattutto in un ambiente come quello creato dalla veloce urbanizzazione delle campagne, come nel caso delle periferie romane, l'improvvisa crescita della densità di popolazione e la cattiva gestione del reticolo idrografico minore possono aumentare le occasioni di esposizione dei cittadini agli attacchi dei Simulidi. Non si può ad esempio escludere che molte

delle punture attualmente attribuite ad altri ditteri pungitori più noti (zanzare, tafani) non siano in verità riconducibili al pasto di sangue delle femmine di *S. ornatum*.



Figura 46. Alterazione morfologica dei corsi d'acqua e cambiamento d'uso del suolo nella periferia sud-est di Roma; in queste condizioni è stato ritrovato il solo *S. ornatum*, che attacca l'uomo in un vicino vivaio.

Figure 46. Morphological alteration of streams and land use changes in the south-eastern area of Rome; they only were collected S. ornatum specimens, attaching people in a close nursery.

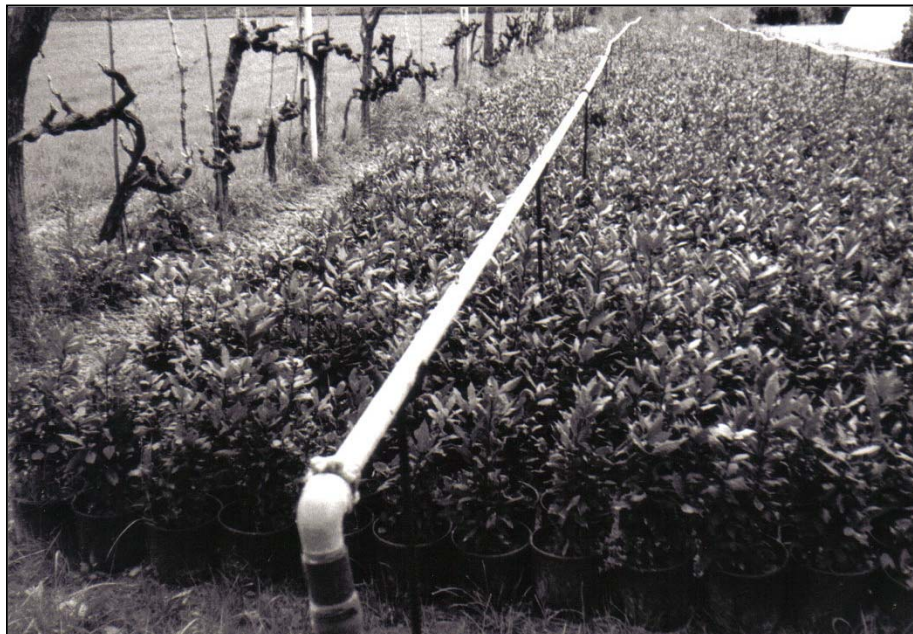


Figura 47. Vivaio con irrigazione in continuo; le condizioni che si creano sono ottimali per l'appostamento degli adulti femmina del *S. ornatum* che spesso attaccano gli operai

Figure 47. Nursery with continuous sprinkling; similar conditions are optimal for the ambush of S. ornatum adults, that often attach the nursery workers.

4.5 Considerazioni conclusive

I dati raccolti sui macroinvertebrati bentonici sono stati analizzati con differenti tecniche statistiche in ragione di differenti approcci alla valutazione dello stato dei piccoli corsi dell'area di studio. In particolare, due approcci sono stati basati sull'analisi del livello "comunità" ad un dettaglio tassonomico meno approfondito, compatibile con uno sforzo identificativo vantaggioso rispetto ai risultati ottenuti. I due metodi sviluppati, l'indice multimetrico e il metodo topologico della rete neurale-matrice U, si sono dimostrati entrambi validi nella classificazione dei corsi d'acqua studiati lungo il gradiente di condizioni imposto dall'urbanizzazione del territorio romano, in quanto riflettono sia la pre-classificazione abiotica sia la post-classificazione biologica dei siti. Le due differenti metodiche hanno restituito risultati tra loro coerenti, rappresentando, a volte con maggior accordo, a volte meno, analoghi schemi di classificazione; ciò conferma ancora una volta la validità dell'analisi delle comunità di macroinvertebrati nella valutazione delle condizioni dei corsi d'acqua, anche quando gli impatti sono dovuti all'urbanizzazione del territorio circostante.

Il terzo approccio, basato sull'analisi a livello di specie della famiglia dei ditteri Simuliidae, ha permesso di confermare la possibilità di utilizzare questi insetti nella valutazione dello stato dei corsi d'acqua. La difficoltà di arrivare al livello di specie potrebbe essere mitigata dall'utilizzo dei "gruppi di specie", più semplici da identificare, sull'esempio di quanto fatto per gli Efemerotteri (Unità Operazionali; Buffagni, 1997). Ulteriori dati (campionamenti quantitativi area-specifici, confronti con dati di idromorfologia fluviale, ampliamento dell'area di studio, ecc.) sono comunque necessari per poter approntare un metodo di valutazione (una metrica di qualità) basato su questi ditteri, come già proposto per gli Efemerotteri (Buffagni, 1999) e si sta facendo con i Chironomidi (cfr. Marziali et al., 2009). In particolare, i risultati di questo ultimo studio sui Chironomidi (organismi in prevalenza detritivori) mostrano come questi ditteri vadano più appropriatamente analizzati, per classificare i fiumi, nel mesohabitat di pozza (*pool*); lo studio dei Simulidi (organismi in prevalenza filtratori), che come già detto deve essere necessariamente effettuato nel raschio (*riffle*), potrebbe fornire un'utile informazione aggiuntiva da integrare per avere un quadro più esaustivo della situazione del fiume. In questo modo si potrebbero più chiaramente individuare le situazioni critiche presenti nell'ambiente, e su questa analisi congiunta impostare più facilmente gli interventi di ripristino della funzionalità del corso d'acqua.

Molti centri urbani, compresa la città di Roma, si sono sviluppati intorno ai corsi d'acqua, importanti vie di comunicazione e utili sistemi naturali di allontanamento degli scarti delle

attività umane. Tali utilizzi dei corsi d'acqua hanno per secoli messo in secondo piano l'importanza ecologica di questi ambienti, un fenomeno che continua tutt'oggi con l'accelerare dell'urbanizzazione del territorio. Eppure, nonostante un degrado diffuso, i corsi d'acqua urbani offrono alle comunità locali degli sprazzi di natura facilmente accessibili a chiunque: a Roma esistono piste ciclabili sia lungo il Tevere sia lungo l'Aniene, e quest'ultimo è interamente compreso, nel suo tratto urbano, in un'area protetta visitata e vissuta ogni giorno da centinaia di persone. Persino i piccoli corsi d'acqua (a Roma noti col nome vernacolare di "marane") sono compresi nel sistema di riserve naturali urbane: il Parco di Aguzzano, la Riserva dell'Insugherata, la Valle dei Casali, la Tenuta dei Massimi, la Riserva Naturale dell'Acqua Acetosa, la Tenuta dell'Acquafredda, il Parco Regionale dell'Appia Antica; tutti trovano tra le ragioni d'esistere il fatto che le aree in cui scorrono piccoli corsi d'acqua, evitate perché considerate a lungo come "malsane", sono quelle che hanno mantenuto le migliori caratteristiche di naturalità. Molti ragazzi che vivono nei vicini quartieri hanno il loro primo incontro con la natura nei pressi di piccoli corsi d'acqua, che quindi offrono infinite opportunità di educazione ambientale. Ma, affinché i corsi d'acqua in ambiente urbano possano essere sfruttati anche per questi scopi, sono necessari interventi di ripristino non più guidati solo da ingegneri e fisici, interessati quasi esclusivamente alla gestione del sistema di drenaggio ed alla stabilità delle sponde (Riley, 1998); l'attenzione dovrebbe essere spostata anche al ripristino del biota ed ai suddetti servizi ecologici forniti dai corsi d'acqua: dalla chimica delle acque alle fasce perfluviali ed ai processi biologici, dalla sicurezza dei cittadini all'estetica del paesaggio.

Questo studio, in conclusione, ha mirato a portare un contributo di base alla conoscenza faunistica di ambienti urbanizzati sottostimati sia dalla ricerca sia dalle azioni di monitoraggio. Resta aperta la questione di ciò che i numerosi portatori di interesse potrebbero utilizzare dei risultati ottenuti: di sicuro un quadro d'insieme che può supportare le azioni di ripristino, dove necessario, e salvaguardia, dove possibile. In ambiente urbano si è perso il contatto con quello che sono l'ambiente naturale e gli ecosistemi acquatici in particolare, visti come elementi di pericolo e quindi regimentati e il più possibile allontanati dalla popolazione. Solo un rinnovato contatto con l'acqua potrà determinare un'inversione di tendenza e di conseguenza permettere una migliore qualità della vita nelle città.

BIBLIOGRAFIA

- Adler, P. H., & J. W. McCreadie. 2002. Black Flies (Simuliidae). Pp 185-211 *in* Mullen G., & L. Durden. 2002. Medical and Veterinary Entomology. Elsevier, 310 pp.
- Adriaenssens, V., F. Simons, L. T. H. Nguyen, B. Goddeeris, P. L. M. Goethals, & N. De Pauw. 2004. Potential of bio-indication of chironomid communities for assessment of running water quality in Flanders (Belgium). *Belgian J. Zool.* 134:31-40.
- Aguilera, P. A., A. G. Frenich, J. A. Torres, H. Castro, J. L. M. Vidal, & M. Canton. 2001. Application of the Kohonen neural network in coastal water management: methodological development for the assessment and prediction of water quality. *Water Res.* 35:4035-4062.
- Alberti, M., E. Botsford, & A. Cohen. 2001. Quantifying the urban gradient: linking urban planning and ecology *in* J. M. Marzluff, R. Bowman, & R. Donnelly (ed) *Avian ecology and conservation in an urbanizing world*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Maryland USA.
- Allan, J. D. 1995. *Stream Ecology*. Chapman & Hall, Londra, UK, 404 pp.
- Andreasen, J. K., R. V. O'Neill, R. Noss, & N. C. Slosser. 2001. Considerations for the development of a terrestrial index of ecological integrity. *Ecol. Indic.* 1:21-35.
- APAT. 2005. La realizzazione in Italia del progetto europeo Corine Land Cover 2000. Rapporti 36/2005, APAT, 86 pp.
- APAT. 2007. Protocollo per il campionamento dei macroinvertebrati bentonici nei corsi d'acqua guadabili *in* APAT, *Metodi biologici per le acque*. Roma. Disponibile su (ultimo accesso 31.08.09):http://www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/metodi_corsi_acqua.pdf
- APAT. 2007. Protocollo per il campionamento dei parametri fisico-chimici a sostegno degli elementi biologici nei corsi d'acqua superficiali *in* APAT, *Metodi biologici per le acque*. Roma. Disponibile su (ultimo accesso 31.08.09):
http://www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/metodi_corsi_acqua.pdf
- APHA, AWWA, WPCF. 1998. *Standard methods for the examination of water and waste-water*. 20th ed. American Public Health Association, Washington DC. 1000 pp.
- AQEM consortium. 2002. *Manual for the application of the AQEM method. A comprehensive method to assess European stream using macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Frame Directive*. Versione 1.0, Febbraio 2002.
- Argano, R. 1979. *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane – 5 Isopodi*. CNR, 63 pp.
- Armitage, P. D., D. Moss, J. F. Wright, & M. T. Furse. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Res.* 17:333-347.
- Arpalazio. 2006. *Rapporto sulla qualità delle acque superficiali e sotterranee della Provincia di Roma – Anno 2006*. Provincia di Roma e Arpalazio, Roma, 415 pp.
- Ascoli, V., D. Manco, S. Guzzinati, S. Tognazzo, P. Zambon, P. Arcà, C. Costantini, & M. Coluzzi. 2002. The bloodsucking arthropod bite as possible cofactor in the transmission of

- human herpesvirus-8 infection in the expression of Kaposi's sarcoma disease. *Parassitologia* 44:8.
- Barbour, M. T., J. Gerritsen, B. D. Snyder, & J. B. Stribling. 1999. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Wadeable Streams and Rivers. Peryphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, second edition. US Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington DC.
- Bazzanti, M., & F. Bambagino. 1987. Chironomids as water quality indicators in the river Mignone (Central Italy). *Hydrob. Bullet.* 21:213-222.
- Belfiore, G. 1983. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane – 24 Efemeroteri. CNR, 113 pp.
- Belfiore C., S. Erba, & A. Buffagni. 2009. Valori di riferimento per la classificazione – nota 3: Italia Centrale in IRSA-CNR Notiziario dei metodi Analitici, Luglio 2009.
- Benke A. C., & J. B. Wallace. 1997. Trophic basis of production among riverine caddisflies: implication for food web analysis. *Ecology* 78: 1132-1145.
- Bennett, E. M., T. Reed-Andersen, J. N. Hauser, J. R. Gabriel, & S. R. Carpenter. 1999. A phosphorus budget for the lake Mendota watershed. *Ecosystems* 2:65-75.
- Bologna, M. A., S. Daniele, & M. Pitzalis. 2007. Atlante degli anfibi e dei rettili della Provincia di Roma. Provincia di Roma, Gangemi editore, Roma. 192 pp.
- Bonada, N., N. Prat, V. H. Resh, & B. Statzner. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. *Annu. Rev. Entomol.* 51:495-523.
- Boyero, L., & R. C. Bailey. 2001. Organization of macroinvertebrate communities at a hierarchy of spatial scales in a tropical stream. *Hydrobiologia* 464:219-225.
- Buchwalter, D. B., J. F. Sandahl, J. J. Jenkins, & L. R. Curtis. 2004. Roles of uptake, biotransformation, and target site sensitivity in determining the differential toxicity of chlorpyrifos to second to fourth instar *Chironomus riparius* (Meigen). *Aquat. Toxicol.* 66:149-157.
- Buffagni, A. 1997. Mayfly community composition and the biological quality of streams. Pp 235-246 in Landolt, P., & M. Sartori (Eds.), *Ephemeroptera & Plecoptera: Biology-Ecology-Systematics*, MTL, Friburgo, CH.
- Buffagni, A. 1999. Pregio naturalistico, qualità ecologica e integrità delle comunità degli Efemeroteri (Insecta Ephemeroptera): un indice per la classificazione dei fiumi italiani. *Acqua&Aria* 8:99-107.
- Buffagni A., & C. Belfiore. 2006. ICMeasy 1.2 - Intercalibration common metrics and index easy calculation. CNR-IRSA & UniTuscia-DECOS, Roma, Agosto 2006.
- Buffagni A., & C. Belfiore. 2007. ICMeasy 1.2: A Software for the Intercalibration Common Metrics and Index easy calculation. User guide in IRSA-CNR Notiziario dei Metodi Analitici del 1 Marzo 2007 (1). 118 pp.
- Buffagni, A., & S. Erba. 2007a. Macroinvertebrati acquatici e Direttiva 2000/60/EC (WFD). Parte A – Metodo di campionamento per i fiumi guadabili in IRSA-CNR, Notiziario dei metodi analitici del 1 Marzo 2007. 118 pp.
- Buffagni, A., & S. Erba. 2007b. Macroinvertebrati acquatici e Direttiva 2000/60/EC (WFD). Parte E - Intercalibrazione e classificazione di qualità ecologica dei fiumi per la 2000/60/EC

- (WFD): l'indice STAR_ICMi in IRSA-CNR, Notiziario dei metodi analitici del 1 Marzo 2007. 118 pp.
- Buffagni, A., S. Erba, C. Marcello, & J. L. Kemp. 2004. The AQEM multimetric system for the southern Italian Apennines: assessing the impact of water quality and habitat degradation on pool macroinvertebrate in Mediterranean rivers. *Hydrobiologia* 516:313-329.
- Buffagni A., M. Munafò, F. Tornatore, I. Bonamini, A. Didomenicantonio, L. Mancini, A. Martinelli, G. Scanu, & C. Sollazzo. 2006. Elementi di base per la definizione di una tipologia per i fiumi italiani in applicazione della Direttiva 2000/60/EC. In IRSA-CNR, Notiziario dei metodi analitici 1-2006.
- Buffagni, A., S. Erba, F. Aste, C. Mignuoli, G. Scanu, C. Sollazzo, & R. Romano. 2009. Criteri per la selezione di siti di riferimento fluviali per la direttiva 2000/60/EC in IRSA-CNR, Notiziario dei metodi analitici. Numero speciale 2008. 86 pp.
- Butler, M. G. 1984. Life histories of aquatic insects in V. H. Resh, & D. M. Rosenberg (Eds.) *The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger, New York, NY.
- Campatoli, S., P. F. Ghetti, A. Minelli, & S. Ruffo. 1999. Manuale per il riconoscimento dei macroinvertebrati delle acque dolci italiane. Vol I e II. Provincia Autonoma di Trento, Trento.
- Capelli, G., & R. Mazza. 2005. Sistema idrologico della Città di Roma. Gestione della risorsa idrica e del rischio Geologico. La IV Dimensione. Geologia dell'ambiente. Atti dei convegni Lincei 218:325-334.
- Castagnolo, L., D. Franchini, F. Giusti. 1980. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane – 10 Bivalvi. CNR, 62 pp.
- Cataudella, S., L. Tancioni, R. Caprioli, D. Ciuffa, G. Gibertini, M. Grygielewicz, S. Larsen, G. Moccia, G. Pace, M. Scalici, T. Russo, G. Antonucci, D. Costantini, M. Scardi, L. Mancini, S. Ciadamidaro, M. Munafò, F. Mattina, P. T. Colombari, & R. Becera. 2009. Carta Ittica della Provincia di Roma. Roma, Provincia di Roma, Roma. 367 pp.
- Centre for watershed protection, 2003. Impacts of impervious cover on aquatic ecosystems. Centre for watershed protection, Ellicott City, Maryland, USA.
- Chaves, M L., J. L. Costa, P. Chainho, M. J. Costa, & N. Prat. 2006. Selection and validation of reference sites in small river basins. *Hydrobiologia* 573:133-154.
- Cheke, R. A., I. Tirados, J. Mas, P. Geenan, J. M. M. Adjaru, J. L. A. Bouaha, A. Sima, R. R. F. Meyer, & M. D. Wilson. 2006. Onchocerciasis transmission by the Bioko form of *Simulium yahense* VAJIME & DUNBAR 1975 (Diptera: Simuliidae). Proceedings of the International Simuliidae Symposium, Berlino, 15-18 Settembre 2004.
- Chon, T. S., Y. S. Park, M. H. Moon, & E. Y. Cha. 1996. Patternizing communities by using an artificial neural network. *Ecol. Model.* 90:69-78.
- Ciadamidaro, S., & L. Mancini (a cura di). 2006. Stato ecologico del reticolo idrografico minore di Roma. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2006. Rapporti ISTISAN 06/42. *Disponibile su:* www.iss.it/binary/publ/cont/06-42.1170944928.pdf (ultimo accesso, 31 agosto 2009).
- Clarke, K. R., & R. M. Warwick. 1994. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Natural Environment Research Council, UK, 144 pp.
- Collier, J. 1995. Environmental factors affecting the taxonomic composition of aquatic macroinvertebrate communities in lowland waterways of Northland, New Zealand. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 29:453-465.

- Comunità Europea. 1991. Direttiva 91/271/CEE del Consiglio, del 2 Aprile 1979, concernente il trattamento delle acque reflue urbane. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea n. L 135 del 30 Maggio 1991.
- Comunità Europea. 1991. Direttiva 91/676/CEE del Consiglio, del 12 dicembre 1991, relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea n. L 375 del 31/12/1991.
- Comunità 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. Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea n. L327 del 22/12/2000.
- Consiglio, C. 1980. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane – 9 Plecotteri. CNR, 67 pp.
- Cottingham, P., C. Walsh, G. Rooney, & T. Fletcher. 2003. Urban impacts on stream ecology – from syndrome to cure. Acts of the Symposium on Urbanization and Stream Ecology. 8th-10th December 2003, Melbourne Australia.
- Couceiro, S. R., N. Hamada, S. L. Luz, B. R. Forsberg, & and T. P. Pimentel. 2006. Deforestation and sewage effects on aquatic macroinvertebrates in urban streams in Manaus, Amazonas, Brazil. *Hydrobiologia* 575(1):271-284.
- Croiseau, P. 2003. Utilisation des réseaux neuronaux de Kohonen pour l'analyse de la diversité génétique. Maîtrise de Biologie Informatique. Musée de l'Homme, Parigi, Francia.
- Crosskey, R. W. 1990. The natural history of blackflies. John Wiley and Sons, Chichester UK. 711 pp.
- Cummins, K. W. 1974. Structure and function of stream ecosystems. *BioScience* 24:631-641.
- Davis, J. C. 1986. Statistics and Data Analysis in Geology. John Wiley & Sons, New York.
- D'Arca Simonetti, A., L. Sebastiani, A. Borgioli, & A. Panà. 1976. Indagine sulle acque delle "Marane". *Acqua e Aria* 10:757-764.
- Duda, A. M., D. R. Lenat, & D. R. Penose. 1992. Water quality in urban streams – what we can expect? *J. Water Pollut. Con. F.* 54:1139-1147.
- Environmental Agency. 1999. Procedures for collecting and analysing macroinvertebrate samples. Environmental Agency Document, BT001.
- Eriksen, C. H., V. H. Resh, & G. A. Lamberti. 1996. Aquatic insect respiration. Pp. 29-40 in R. W. Merritt, & K.W. Cummins (Eds.). An introduction to the Aquatic Insects of North America, 3rd ed. Kendall/Hunt, Dubuque, IA.
- European Commission. 2005. Guidance on the Intercalibration Process 2004-2006. Water Framework Directive Common Implementation Strategy (2000/60/EC), Guidance document 14, 2005, 31pp.
- Feld, C. K., E. Kiel, & M. Lautenschlager. 2002. The indication of morphological degradation of streams and rivers using Simuliidae. *Limnologia* 32:273-288.
- Forman, R. T. T., & L. E. Alexander. 1998. Roads and their major ecological effects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29:207-231.
- Ghetti, P. F. 1995. Indice Biotico Esteso (I.B.E.). Notiziario dei Metodi Analitici, IRSA (CNR), ISSN:0333392-1425:1-24.

- Ghetti, P. F. 1997. *Indice Biotico Esteso (I.B.E.). Manuale di Applicazione*. Provincia Autonoma di Trento, Trento. 223 pp.
- Gibson, C. J., K. L. Stadterman, S. States, & J. Sykora. 1998. Combined sewer overflows: a source of *Cryptosporidium* and *Gordia*? *Wat. Sc. Technol.* 38:67-72.
- Giraudel, J. L., & S. Lek. 2000. A comparison of self-organizing map algorithm and some conventional statistical methods for ecological community ordination. *Ecol. Model.* 146:329-339.
- Glotzel, R. 1973. Populationsdynamik und Ernährungsbiologie von Simuliidenlarven in einem mit organischen Abwassern verunreinigten Gebirgsbach. *Arch. f. Hydrob.* 42:406-451.
- Grimm, N.B., M. J. Grove, S. T. A. Pickett, & C. L. Redman. 2000. Integrated approaches to long-term studies of urban ecological systems. *Bioscience* 50:571-584.
- Grimm, N. B., R. W. Sheibley, C. L. Crenshaw, C. N. Dahm, W. J. Roach, & L. H. Zeglin. 2005. N retention and transformation in urban streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 25:623-642.
- Groffman, P. M., D. J. Bain, L. E. Band, K. T. Belt, G. S. Brush, J. M. Grove, R.V. Pouyat, I. C. Yesilonis, & W. C. Zipperer. 2003. Down by the riverside: urban riparian ecology. *Front. Ecol. Environ.* 1:315-321.
- Hachmoller, B., R. A. Matthews, & D. F. Brakke. 1991. Effects of riparian community structure, sediment size, and water quality on the macroinvertebrate communities in a small, suburban stream. *Northwest Sci.* 65:125-132.
- Hahs, A. K., & M. J. McDonnel. 2006. Selecting independent measures to quantify Melbourne's urban-rural gradient. *Landscape Urban Plan.* 78:435-448.
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper, & P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontol. Electron.* 4(1):1-9.
- Hatt, B. E., T. D. Fletcher, C. J. Walsh, & S. L. Taylor. 2004. The influence of urban density and drainage infrastructure on the concentrations and loads of pollutants in small streams. *Environ. Manage.* 34:112-124.
- Hauer, F. R., & J. A. Stanford. 1982. Bionomics of *Dicosmoecus gilvipes* (Trichoptera: Limnephilidae) in a large western montane river. *Am. Midl. Nat.* 108:81-87.
- Hauer, F. R., & J. A. Stanford. 1986. Ecology and coexistence of two species of *Brachycentrus* (Trichoptera) in a Rocky Mountain river. *Can. J. Zoolog.* 64:1469-1474.
- Hauer, F. R., J. A. Stanford, J. J. Giersch, & W. H. Lowe. 2000. Distribution and abundance patterns of macroinvertebrates in a mountain stream: an analysis along multiple environmental gradients. *Verh. Int. Ver. Theoret. Limnol.* 27:1485-1488.
- Hauer, F., & G. Lamberti (a cura di). 2006. *Methods in stream ecology*. Second edition. Academic press, Barlington, USA. 896 pp.
- Hellawell, J. M. 1986. *Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management*. Elsevier, New York, NY.
- Hering, D., O. Moog, L. Sandin, & P. F. M. Verdonschot. 2004. Overview and application of the AQEM assessment system. *Hydrobiologia* 516:1-20.
- Hering, D., A. Buffagni, O. Moog, L. Sandin, M. Sommerhauser, I. Stubauer, C. Feld, R. K. Johnson, P. Pinto, N. Skoulikidis, P. F. M. Verdonschot, & S. Zahradkova. 2003. The development of a system to assess the ecological quality of streams based on

- macroinvertebrates – design of the sampling programme within the AQEM project. *Int. Rev. Hydrobiol.* 88:345-361.
- Hildrew, A. G., & J. M. Eddington. 1979. Factors facilitating the coexistence of hydropsychid caddis larvae (Trichoptera) in the same river system. *J. Anim. Ecol.* 48:557-576.
- Hill, M. O. 1979. TWINSpan - a FORTRAN program for arranging multivariate data in an ordered two-way table by classification of the individuals and attributes. Section of Ecology and Systematics, Cornell University, Ithaca, NY.
- Horner, R. R., D. B. Booth, A. Azous, & C. W. May. 1997. Watershed determinants of ecosystem functioning. Pp. 251-274 *in* Roessner, C., editore. Effects of watershed development and management on aquatic ecosystems. Am. Soc. Civil Eng., New York.
- Hose, G., E. Turak, & N. Waddell. 2004. Reproducibility of AUSRIVAS rapid bioassessments using macroinvertebrates. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 23: 126-139.
- Hynes, H. B. 1970. *The Ecology of Running Waters*. University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- Illesova, D., & J. Halgos. 2004. Black flies (Diptera, Simuliidae) of the Turiec river. *Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae. Zoologia* 46:59-63.
- Illesova, D., J. Halgos, & I. Krno. 2008. Blackfly assemblages (Diptera Simuliidae) of the Carpathian river: habitat characteristics, longitudinal zonation and eutrophication. *Hydrobiologia* 598:163-174.
- ISO 7150-1: 1984. Water quality - Determination of ammonium - International Organization for Standardization, Ginevra, CH.
- ISO 7828: 1985 (BS EN 27828: 1994). Water Quality – Methods of biological sampling – Guidance on handnet sampling of aquatic benthic macro-invertebrates. International Organization for Standardization, Ginevra, CH.
- ISO 7890-1: 1986. Water quality - Determination of nitrate. International Organization for Standardization, Ginevra, CH.
- ISO 15705: 2002. Water quality - Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) International Organization for Standardization, Ginevra, CH.
- ISO 5815-1: 2003. Water quality - Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD_n). International Organization for Standardization, Ginevra, CH.
- ISO 6878: 2004. Water quality - Determination of phosphorus - International Organization for Standardization, Ginevra, CH.
- Italia. 1999. Decreto legislativo 11 maggio 1999 n. 152. Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque reflue urbane e della direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana - Supplemento Ordinario*, n. 124 del 29 maggio 1999.
- Italia. 2006. Decreto legislativo 3 aprile 2006 n. 152. Norme in materia ambientale. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana – Supplemento Ordinario*, n. 96 del 14 aprile 2006.
- Italia. 2008. Decreto ministeriale 16 giugno 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. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana – Supplemento Ordinario, n. 189 11 agosto 2008.
- Italia. 2009. Decreto Ministero Ambiente 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 della Repubblica Italiana - Supplemento Ordinario, n. 124 del 30 maggio 2009.
- Jongman, R. H. G., C. J. F. Ter Braak, & O. F. R. Tonerenm. 1995. Data analysis in community and landscape ecology. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 229 pp.
- Kachvoryan, E. A., K. V. Harutyunova, M. V. Harutyunova, D. Werner, & P. H. Adler. 2006. Biodiversity of black flies (Diptera: Simuliidae) in relation to water quality in Hrazdan River system of Armenia. Proceedings of the International Simuliidae Symposium, Berlin, 15-18 September 2004.
- Kohonen, T. 2001. Self-organizing maps 3rd edition. Springer, Berlino, DE. 501 pp.
- Kohonen, T., J. Hynninen, J. Kangas, & J. Laaksonen. 1996. SOM_PAK: The Self-Organizing Map Program Package. Technical Report A31, Helsinki University of Technology, Laboratory of Computer and Information Science, Finland.
- Kolkwitz, R., & M. Marsson. 1909. Öcologie der tierischen Saprobien. Beiträge zur Lehre von des biologischen Gewässerbeurteilung. Int. Rev. Ges. Hydrobiol. Hydrogr. 2:279-290.
- La Valle, P. D. 1975. Domestic sources of stream phosphates in urban streams. Wat. Resour. 9:913-915.
- La Vigna, F., G. Capelli, & R. Mazza. 2008. Assetto idrogeologico del settore romano del bacino del fiume Aniene in Funiciello, R., A. Praturlon, & G. Giordano (ed.). La Geologia di Roma. S.E.L.C.A., Firenze.
- La Vigna, F., S. Ciadamidaro, R. Mazza, & L. Mancini. 2009. Water quality and relationship between superficial and ground water in Rome (Aniene River basin, central Italy). Environmental Earth Sciences. DOI 10.1007/s12665-009-0267-2. Pubblicato online: 28 Agosto 2009.
- Ladson, A. R., C. J. Walsh, & T. D. Fletcher. 2005. Improving stream health in urban areas by reducing runoff frequency from impervious surfaces. Acta from 29th Hydrology and Water Resources Symposium, 21-23 February 2005, Canberra, Australia.
- Lamouroux, N., S. Doledec, & S. Gayraud. 2004. Reproducibility of AURIVAS rapid bioassessments using macroinvertebrates. J. N. Am. Benthol. Soc. 23:449-466.
- Latimer, J. S., & J. G. Quinn. 1998. Aliphatic petroleum and biogenic hydrocarbons entering Narragansett Bay from tributaries under dry weather conditions. Estuaries 21:91-107.
- Lautensclager, M., & E. Kiel. 2005. Assessing morphological degradation in running waters using Blackfly communities (Diptera Simuliidae): Can habitat quality be predicted from land use? Limnologia 35:262-273.
- Legendre, P., & L. Legendre. 1998. Numerical ecology. Elsevier, Amsterdam, NE. 853 pp.
- Lek, S., & J. F. Guegan. 2000. Artificial neural networks: application to ecology and evolution. Springer, Berlino, DE. 262 pp.

- Lenat, D. R., & J. K. Crawford. 1994. Effects of land use on water quality and aquatic biota of three North Carolina Piedmont streams. *Hydrobiologia* 294:185-199.
- Litke, D. W. 1999. Review of phosphorus control measures in the United States, and their effects on water quality. USGS Water Resour. Inv. Rep. 99-407.
- Lorenz, A., D. Hering, C.K. Feld, & P. Rolaufts. 2004. A new method for assessing the impact of hydromorphological degradation on the macroinvertebrate fauna of five German stream types. *Hydrobiologia* 516(1):107-127.
- Macchi, S. 2001. Verso una riqualificazione non-moderna delle marane romane in P. Bottaio, C. Cellamare, & E. Scandurra (a cura di). 2001. *Labirinti della città contemporanea*. Meltemi, Roma. 105-126.
- Mancini, L., & G. Arcà (a cura di). 2000. *Carta della qualità biologica dei corsi d'acqua della regione Lazio*. Istituto Superiore di Sanità e Regione Lazio, Roma. 156 pp.
- McCune, B., & M. J. Mefford. 1997. *Multivariate analysis of ecological data*. Version 3.09. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, USA.
- McDonnell, M. J., & S. T. Pickett. 1990. Ecosystem structure and function along urban-rural gradients: an unexploited opportunity for ecology. *Ecology* 71:1232-1237.
- McDonnell, M. J., & A. K. Hahs. 2008. The use of gradient analysis studies in advancing our understanding of the ecology of urbanizing landscapes: current status and future directions. *Landscape Ecol.* 23:1143-1155.
- Majori, G., L. Rivosecchi, G. Matassi, & R. Romi. 1986. Lotta biologica contro i Simulidi: primo esperimento di lotta con *Bacillus thuringiensis* H-14 contro *Wilhelmia stilata* e *Boopthora erythrocephala* in Friuli Venezia Giulia. XIV Congresso Nazionale della Società Italiana di Parassitologia. *Parassitologia* 28:272-273.
- Marchese, L. 1995. Reti Neurali su Personal Computer e Fuzzy Logic. Disponibile su <http://www.synaptics.org/neurbook/> (ultimo accesso, 01/09/2009).
- Marziali, L., D. G. Armanini, M. Cazzola, S. Erba, E. Toppi, A. Buffagni, B. Rossaro. 2009. Responses of Chironomid larvae (insecta, Diptera) to ecological quality in Mediterranean river mesohabitats (South Italy). *Riv. Res. Appl.* in stampa (estratto consultabile sul sito internet http://s3.amazonaws.com/publicationslist.org/data/david.armanini/ref-24/Marziali%20et%20al_RRA_ChironomidWaterQuality_MedRiver_2Jul09.pdf; ultimo accesso 18.10.2009)
- McGarigal, K., S. Cushman, & S. Stafford. 2000. *Multivariate statistics for wildlife and ecology research*. Springer-verlog, New York, NY. 283 pp.
- Meyer, J. L., M. L. Paul, and W. K. Taulbee. 2005. Stream ecosystem function in urbanizing landscapes. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 24:602-612.
- Miller, W., & A. J. Boulton. 2005. Managing and rehabilitating ecosystem processes in regional urban streams in Australia. *Hydrobiologia* 552:121-133.
- Moog, O., A. Chovanec, J. Hinteregger, & A. Romer. 1999. Richtlinie zur Bestimmung der saprobiologischen Gewässergüte von Fliessgewässern. Bundesministerium für Land und Forstwirtschaft, Vienna, Austria. 144 pp.
- Morais, M. 1995. Organização espacial e temporal de um rio temporário mediterrânico (rio Degebe, Bacia hidrográfica do Guadiana). PhD thesis, Universidade de Évora 266 pp.
- Moretti, G. P. 1983. *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane – 19 Tricotteri*. CNR, 155 pp.

- Morley, S. A., & J. R. Karr. 2002. Assessing and restoring the health of urban streams in the Puget Sound Basin. *Conserv. Biol.* 16:1494-1509.
- Nijboer, R. C., R. K. Johnson, P. F. M. Verdonshot, M. Sommerhauser, & A. Buffagni. 2004. Establishing reference condition for European streams. *Hydrobiologia* 516:91-105
- Nilsson, C., J. Pizzuti, G. Moglen, M. Palmer, E. Stanley, N. Bockstael, & L. Thompson. 2003. Ecological forecasting and the urbanization of stream ecosystems: challenges for economists, geomorphologists and ecologists. *Ecosystems* 6:659-674.
- Norris, R. H. 1995. Biological monitoring: the dilemma of data analysis. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 14:440-450.
- Omernik, J. M. 1987. Ecoregions of the conterminous United States. *Ann. Assoc. Am. Geog.* 77: 118-125
- Palmer, M., J. D. Allan, J. L. Meyer, & E. Bernhardt. 2007. River restoration in the twenty-first century: data and experimental knowledge to inform future efforts. *Rest. Ecol.* 15:472-481.
- Park, Y. P. T., R. Céréghino, A. Compin, & S. Lek. 2003. Application of artificial neural networks for patternizing and predicting aquatic insect species richness in running waters. *Ecol. Model.* 160:265-280.
- Park, Y. P., T. Chon, I. Kwak, & S. Lek. 2004. Hierarchical community classification and assessment of aquatic ecosystems using neural networks. *Sci. Total Environ.* 327:105-122.
- Paul, M. J., & J. L. Meyer. 2001. Streams in the urban landscape. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 32:333-365.
- Pedersen, E. R., & M. A. Perkins. 1986. The use of benthic macroinvertebrate data for evaluating impacts of urban runoff. *Hydrobiologia* 139:12-22.
- Pinto, P., J. Rosado, M. Morais, & I. Antunes. 2004. Assessment methodology for southern siliceous basins in Portugal, *Hydrobiologia* 516:191-214.
- Punti, T., M. Rieradevall, & N. Prat. 2007. Chironomidae assemblages in reference condition Mediterranean streams: environmental factors, seasonal variability and ecotypes. *Fund. Appl. Limnol.* 170:149-165.
- Recknagel, F. 2002. *Ecological informatics: understanding ecology by biologically-inspired computation.* Springer, Berlin, DE. 398 pp.
- Resh, V. H., & G. Grodhaus. 1983. Aquatic insects in urban environments. Pp. 247-276 *in* *Urban Entomology: Interdisciplinary Perspectives.* G. W. Frankie & C. S. Koehler, (Eds.). Praeger Publishers, New York.
- Riley, A. C. 1998. *Restoring streams in cities: a guide for planners, policymakers, and citizens.* Island press, Washington DC. 448 pp.
- Rivosecchi, L. 1971. Osservazioni preliminari sulla scomparsa di focolai larvali di Simuliidae da acque inquinate. *Parassitologia* 13:321-331.
- Rivosecchi, L. 1973. Contributo alla conoscenza dei Simulidi italiani XXII. Raccolte di Simulidi adulti mediante trappole ad anidride carbonica. *Riv. Parass.* 33:253-312.
- Rivosecchi, L. 1978. Simuliidae: Diptera. Nematocera. *Fauna d'Italia* 13. Ed. Calderini. Bologna. 533 pp.

- Rivosecchi, L. 1997. Attacco massivo all'uomo di *Simulium intermedium* (= *nitidifrons*) in provincia di Ascoli Piceno. Riv. Parassitologia 14:329-37.
- Rivosecchi, L. 2005. Paesaggio e attacco massivo di Ditteri Simulidi all'uomo e ad animali domestici. Ann. Ist. Super. Sanità 41:415-419.
- Rivosecchi, L., & L. Mancini. 1983. Contributo alla conoscenza dei Simulidi italiani XXVI. Distribuzione e zonazione del fiume Tordino. Riv. Parassitologia 44:393-407.
- Rivosecchi, L., C. Cavallini, M. Noccioli, & L. Ribeca. 1974. Osservazioni ecologiche sui Simulidi (Diptera, Nematocera) del fiume Arrone e degli Affluenti del lago di Bracciano. Riv. Parassitologia 35:331-356.
- Rivosecchi, L., E. Stella, & P. G. Turillazzi. 1977. Indagine eco-faunistica sui Simulidi (Diptera, Nematocera) del bacino imbrifero del fiume Mignone. Quaderno Accademia Nazionale dei Lincei 277:227-241.
- Rivosecchi, L., L. Mancini, & I. Di Girolamo. 1988. Variazioni nella fauna dei Simulidi (Diptera, Nematocera) in corsi d'acqua dell'Italia Centrale, dal 1960 ad oggi. Boll. Mus. Sto. Nat. Lunigiana 6:139-143.
- Rivosecchi, L., L. Mancini, & I. Di Girolamo. 1996. I ditteri Simulidi di Roma (Diptera, Simuliidae). Atti "1° Convegno Nazionale sulla fauna urbana", Roma, 12 Aprile 1996. Pp. 115-117.
- Rivosecchi, L., M. Addonizio, & M. Bruno. 2007. I Ditteri Simulidi, nuove chiavi dicotomiche per l'identificazione delle specie italiane con brevi note bio-tassonomiche. Quaderni del Museo Tridentino di Scienze Naturali. TEMI editrice, Trento. 152 pp.
- Rosenberg, D. M., & V. H. Resh (Eds.). 1993. Freshwater biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. Chapman & Hall, New York, NY.
- Roy, A. H., A. D. Rosemond, D. S. Leigh, M. J. Paul, & J. B. Fallace. 2003. Habitat specific responses of stream insects to land disturbance: biological consequences and monitoring implications. J. N. Am. Benthol. Soc. 22:292-307.
- Roy, A. H., M. C. Freeman, B. Freeman, S. Wenger, W. Ensign, & J. L. Meyer. 2006. Importance of riparian forests in urban catchment contingent on sediments and hydrologic regimes. Env. Manag. 37:523-539.
- Rubzov, I. A. 1956. Blackflies (Family Simuliidae), Fauna of the URSS. New Series, 64, Diptera 6(6). Leningrad, Mosca, URSS. 860 pp.
- Rutherford, J. C., N. A. Marsh, P. M. Davies, & S. E. Bunn. 2004. Effects of patchy shade on stream water temperature: how quickly do small streams heat and cool? Mar. Freshw. Res. 55:737-748.
- Sansoni, G. 1988. Macroinvertebrati dei corsi d'acqua italiani. Trento, Provincia Autonoma di Trento. 191 pp.
- Seitz, G. 1992. Verbreitung und Ökologie der Kriebelmücken (Diptera: Simuliidae) in Niederbayern. Lauterbonia 11:1-231.
- Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. Bell System. Tech. J. 27:379-423.
- Siligardi, M., F. Avolio, G. B. Baldaccini, S. Bernabei, M. S. Bucci, C. Cappelletti, E. Chierici, F. Ciutti, B. Floris, A. Franceschini, L. Mancini, M. R. Minciardi, C. Monauni, P. Negri, G.

- Pineschi, S. Pozzi, G. L. Rossi, R. Spaggiari, C. Tamburo, & M. Zanetti. 2007. IFF 2007, Indice di Funzionalità Fluviale, Manuale APAT, Trento. 325 pp.
- Skoulikidis, N. T., K. C. Gritzalis, T. Kouvarda, & A. Buffagni. 2004. The development of an ecological quality assessment and classification system for Greek running waters based on benthic macroinvertebrates. *Hydrobiologia* 516:149-160.
- Smart, M. M., J. R. Jones, & J. L. Sebaugh, 1985. Stream-watershed relations in the Missouri Ozark Plateau Province. *J. Environm. Qual.* 14:77-82.
- Stanford, J. A., M. S. Lorang, & F. R. Hauer. 2005. The shifting habitat mosaic of river ecosystems. *Verh. Int. Ver. Theoret. Limnol.* 29:123-136.
- Statistische Bundesamt. 1997. Daten zur Bodenbedeckung für die Bundesrepublik Deutschland auf CD-ROM – CORINE Land Cover 1900. Statistische Bundesamt, Wiesbaden, DE.
- Suren, A. M. 2000. Effects of urbanisation. Pp. 260-288 in K. J. Collier, & M. J. Winterbourn, (Eds.). *New Zealand stream invertebrates: implications for management*. New Zealand Limnological Society, Christchurch, New Zealand.
- Tachet, H., M. Bournard, & P. Richoux. 1987. Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces (systématique élémentaire et aperçu écologique). Université de Lyon – Biologie animale et ecologie, Villeurbanne Cedex, Francia.
- Taylor, S. L., S. C. Robert, C. J. Walsh, & B. E. Hatt. 2004. Catchment urbanization and increased benthic algal biomass in streams: linking mechanisms to management. *Freshwater Biol.* 49:835-851.
- Ter Braak, C. J. F., & I. C. Prentice. 1988. A theory of gradient analysis. *Adv. Ecol. Res.* 18:271-317.
- Ter Braak, C. J. F., & Smilauer. 1997. CANOCO, Software for Canonical Community Ordination (ver. 4.02). Agriculture Mathematics Group, Wageningen. Paesi Bassi.
- Thorne, R. S. J., W. P. Williams, & C. Gordon. 2000. The macroinvertebrates of a polluted stream in Ghana. *J. Freshw. Ecol.* 15:209-217.
- Timm, T. 1995. Ufer- und Auestrukturen und Simuliidae-Plagen. Pp 1-28 in Steinberg, C, W. Calmano, H. Klapper, & R.D. Wilken (Eds.). *Handbuch angewandte Limnologie*, Landsberg.
- Trombulak, S. C., & C. A. Frissell. 2000. Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conserv. Biol.* 14:18-30.
- Ultsch, A. 1993. Self-organizing neural network for visualization and classification. Pp 307-313 in Opitz, O., B. Lausen, & R. Klar, (Eds.). *Information and classification*. Springer-Verlag, Berlin.
- Urban, M. C., D. K. Skelly, D. Burchsted, W. Price, & S. Lowry. 2006. Stream communities across a rural-urban landscape gradient. *Diversity Distrib.* 12:337-350.
- Vannote, R. L., G. W. Minshall, K. W. Cummins, J. R. Sedell, & C. E. Cushing. 1980. The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37:130-137.
- Ventriglia, U. 1990. *Idrogeologia della provincia di Roma*. Vol. II-IV. Provincia di Roma, Assessorato Lavori Pubblici, Viabilità e Trasporti, Roma.
- Vesanto J., J. Himberg, M. Siponen, & O. Simula. 1998. Enhancing SOM based Visualization. Pp 64-67 in *Proceedings of the 5th International Conference on Soft Computing and Information/Intelligent Systems*, Lizuka, Japan.

- Vlek, H., P. F. Verdonschot, & R. C. Nijboer. 2004. Towards a multimetric index for the assessment of Dutch streams using benthic macroinvertebrates. *Hydrobiologia* 515:173-189.
- Walsh, C. J. 2004. Protection of in-stream biota from urban impacts: to minimize catchment imperviousness or improve drainage design? *Mar. Freshwater Res.* 55:317-326.
- Walsh, C. J., P. J. Papas, D. Crowther, P. T. Sim, & J. Yoo. 2004. Stormwater drainage pipes as a threat to a stream-dwelling amphipod of conservation significance, *Austragammarus australis*, in south-eastern Australia. *Biodivers. Conserv.* 13:781-793.
- Walsh, C. J., A. H. Roy, J. W. Feminella, P. D. Cottingham, P. M. Groffman, & R. P. Morgan II. 2005a. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 24:706-723.
- Walsh, C. J., T. D. Fletcher, & A. R. Ladson. 2005b. Stream restoration in urban catchments through re-designing stormwater systems: looking to catchment to save the stream. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 24:690-705.
- Walsh, C. J., A. K. Waller, J. Gehling, & R. Mac Nally. 2007. Riverine invertebrate assemblages are degraded more by catchment urbanization than riparian deforestation. *Freshwater Biol.* 52:574-587.
- Wang, L., & J. Lyons. 2003. Fish and benthic macroinvertebrate assemblages as indicators of stream degradation in urbanizing watersheds *in* Biological Response Signatures. Indicator Patterns Using Aquatic Communities. Simon eds, Boca Raton, USA.
- Wasson, J. G., A. Chandesris, H. Pella, & L. Blanc. 2002. Définition des Hydro-écoregions francaises métropolitaines. Approche régionale de la typologie des eaux courantes et éléments pour la définition des poulements de référence d'invertébrés. Rapport, Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Cemagref Lyon BEA/LHQ. 190 pp.
- Wiederholm, T. 1984. Responses of aquatic insects to environmental pollution. Pp. 508-557 *in* Resh V. H. & Rosenberg D. M., (Eds.). *The ecology of aquatic insects*. Praeger, New York.
- William, D. D. 1987. *The Ecology of Temporary Waters*. Timber Press, Portland, Oregon USA.
- Wittaker, R. H. 1967. Gradient analysis of vegetation. *Biol. Rev.* 49:207-264.
- Wong, T., P. Breen, & S. Lloyd. 2000. Water sensitive road design. Cooperative Research Centre for Catchment Hydrology, Technical report 01, Melbourne, Australia.
- Wood., P. J., & P. D. Armitage. 1997. Biological effects of fine sediment in lotic environment. *Env. Manag.* 21:203-217.
- Woodiwiss, F. S. 1964. The biological system of stream classification used by the Trent River Board. *Chem. Ind.* 14:443-447.
- Woodiwiss, F. S. 1978. Comparative study of biological-ecological water quality assessment methods. Second practical demonstration. Summary Report. Commission of the European Communities.
- Wright, J. F., M. T. Furse, & P. D. Armitage. 1993. RIVPACS: A technique for evaluating the biological quality of rivers in the UK. *Eur. Water Pollut. Contr.* 3:15-25.
- Young, K. D., & E. L. Thacksto. 1999. Housing density and bacterial loading in urban streams. *J. Environm. Engin.* 125:1177-1180.

- Zahar, R. 1951. The ecology and distribution of black-flies (Simuliidae) in south-east Scotland. *J. Anim. Ecol.* 20:33-62.
- Zamora-Muñoz, C., & J. Alba-Tercedor. 1996. Bioassessment of organically polluted Spanish rivers using biotic index and multivariate methods. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 15:332–352.
- Zelinka, M., & P. Marvan. 1961. Zur prazisierung der biologische Klassifikation der reinheit fliessender gewasser. *Arch. f. Hydrob.* 57:389-407.

Lista delle pubblicazioni inerenti il Dottorato di Ricerca pubblicate o accettate durante il triennio di durata del Corso

La Vigna, F., S. Ciadamidaro, G. Mazza, & L. Mancini. 2009. **Water quality and relationship between superficial and ground water in Rome (Aniene River basin, Central Italy)**. Environmental Earth Sciences. Accettato: 29 Luglio 2009. Pubblicato online: 28 agosto 2009, DOI 10.1007/s12665-009-0267-2.

Ciadamidaro, S., L. Rivosecchi, & L. Mancini. 2009. **Attacks of *Simulium ornatum* (Diptera, Simuliidae) to humans in the area of Rome, Italy**. Proceedings of the “5th European Mosquito Control Association Congress”. Torino, 9-13 marzo 2009.

Andreani, P., M. Battezzatore, C. Belfiore, S. Bernabei, A. Buffagni, N. Casino, S. Ciadamidaro, G. Damiani, S. Erba, B. Floris, M. Le Foche, L. Mancini, C. Martone, A. Morisi, G. Pace, R. Pagnotta, & M. Siligardi. 2007. **Protocollo per il campionamento dei macroinvertebrati bentonici nei corsi d’acqua guadabili**. In APAT, Metodi biologici per le acque. Roma. Disponibile su: http://www.apat.gov.it/site/_files/Pubblicazioni/Metodi_bio_acque/metodi_corsi_acqua.pdf (ultimo accesso 31.08.09)

Cataudella, S., L. Tancioni, R. Caprioli, D. Ciuffa, G. Gibertini, M. Grygielewicz, S. Larsen, G. Moccia, G. Pace, M. Scalici, T. Russo, G. Antonucci, D. Costantini, M. Scardi, L. Mancini, S. Ciadamidaro, M. Munafò, F. Mattina, P.T. Colombari, R. Berera. 2009. **Carta Ittica della Provincia di Roma**. Roma, Provincia di Roma, 367 pp.

Ciadamidaro, S., V. Della Bella, S. Marcheggiani, G. Pace, C. Puccinelli, F. Piccari, A. Guarino, A. Rossi, G. Paoletti, A. Somaschini, & L. Mancini. 2008. **Diversità macrobentonica e indicatori d’impatto antropico nei corsi d’acqua di alcuni Parchi Naturali Regionali (Lazio)**. Accademia Nazionale Dei Lincei, Atti “VIII Giornata Mondiale dell’Acqua - Acque Interne in Italia: Uomo e Natura”. Roma, 28 marzo 2008.

APPENDICE 1. DETTAGLIO DEI RISULTATI DEI CAMPIONAMENTI D'INDAGINE

A) Analisi Fisico-chimiche, Chimiche e Microbiologiche
Chemico-physical, chemical and microbiological analyses

Sito	Saturazione % O ₂	COD (mg/L)	BOD5 (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	<i>E. coli</i> UFC/100mL
TO1	56	34,32	17	6,77	3,72	3,20	84000
TO2	72	14,13	2	2,01	0,61	0,15	1000
TO3	70	18,34	0	3,47	1,34	0,20	1700
TO4	84	26,01	1	5,31	1,05	0,53	2700
CR5	81	10,23	1	1,01	0,37	0,01	90
CR6	78	27,34	4	8,65	0,32	0,51	500
CR7	75	19,65	4	5,74	0,40	1,10	30000
CR8	80	14,89	1	3,30	0,36	0,60	1000
TO9	80	27,76	4	3,92	1,60	2,45	7000
li10	84	15,32	10	8,80	2,54	1,05	15100
MF11	69	9,76	1	6,37	0,81	0,05	550
MF12	72	10,11	4	6,00	1,38	0,00	6900
co13	65	12,23	3	5,53	2,40	1,10	4600
co14	76	20,98	4	5,01	0,38	0,54	4000
fi15	63	21,23	8	5,06	0,42	0,09	3800
e16	48	17,12	4	2,09	0,45	0,19	1100
li17	79	26,21	3	0,74	0,00	0,30	6800
li18	80	16,54	3	0,80	0,03	0,15	800
li19	83	9,76	1	0,80	0,03	0,15	0
fc20	80	24,53	3	3,83	0,09	0,08	500
si21	74	10,95	6	1,16	0,00	0,00	0
SV22	68	20,76	6	6,22	0,31	0,93	16000
SV23	70	17,45	2	7,23	0,28	0,10	300
SV24	73	19,33	1	3,85	0,13	0,00	100
SM25	88	12,78	3	1,16	0,12	0,00	1450
SM26	73	11,93	5	3,93	2,29	0,00	3700
AR27	56	28,07	4	25,00	7,15	0,00	920
VA28	84	9,21	2	1,16	0,13	0,10	250
VA29	100	16,21	10	3,67	1,77	0,56	4150
TS30	64	26,43	7	6,26	3,62	1,15	26000
TS31	63	27,54	4	11,15	3,92	0,90	33000
TS32	63	29,28	6	12,36	4,28	1,61	32000
TS33	35	42,11	11	11,34	4,31	2,34	41000
CZ34	70	24,22	6	4,41	0,67	0,01	3400
CZ35	76	23,78	4	16,70	0,66	0,77	234
CZ36	58	58,75	15	5,35	3,63	4,56	7400
CZ37	48	58,21	27	2,49	5,10	4,54	32000
VN38	67	30,32	7	6,57	3,54	2,38	35000
VN39	58	58,65	14	20,00	9,46	4,34	130000
VN40	62	53,76	14	2,99	8,64	3,03	46000
VN41	75	49,82	17	1,26	3,56	2,35	2200
MG42	70	26,23	2,5	8,99	2,86	2,20	300

continua

segue

Sito	Saturazione % O₂	COD (mg/L)	BOD5 (mg/L)	NO₃⁻ (mg/L)	PO₄³⁻ (mg/L)	NH₄⁺ (mg/L)	<i>E. coli</i> UFC/100mL
SB43	82	11,12	1	24,94	0,71	0,23	12
SB44	74	22,12	3	6,11	0,73	0,00	30
an45	67	13,34	11	6,45	0,85	2,49	150
VI46	81	13,76	1	3,86	0,00	0,00	0
CR47	50	41,43	3	5,04	3,62	4,60	24000
CR48	62	25,76	5	3,58	1,81	2,10	22000
bg49	84	13,32	2	0,50	0,03	0,12	15
vi50	62	23,87	12	2,40	0,49	0,69	780
FU51	70	16,98	4	1,20	0,21	0,90	230
FU52	75	14,21	3	0,50	0,06	0,80	30
mi53	75	14,32	6	1,70	0,05	0,60	230
mi54	79	14,87	3	1,90	0,18	0,26	79
AR55	63	18,87	7	3,50	0,90	0,69	2300
li56	76	9,21	1	0,80	0,03	0,15	0
si57	85	11,32	6	0,20	0,01	0,19	0
si58	78	3,81	1	1,40	0,00	0,35	0
si59	94	1,11	0	1,30	0,00	0,30	10
AR60	72	17,21	8	1,70	0,02	0,07	3200
co61	85	15,82	5	0,70	0,08	0,80	10
DO62	88	17,56	2	1,40	0,02	0,10	76
AR63	48	28,67	6	4,60	0,52	0,60	4900
an64	80	21,12	4	1,90	0,01	0,18	129
an65	83	18,90	3	1,70	0,02	0,07	40
an66	84	17,03	3	1,70	0,02	0,07	50
an67	100	10,17	2	1,70	0,02	0,07	0
mi68	93	10,18	5	0,30	0,00	0,26	120
an69	84	16,53	3	1,80	0,04	0,20	110
AL70	73	24,01	3	12,90	0,16	0,16	32000
an71	100	4,32	0	2,00	0,04	0,10	10
O72	59	23,90	6	2,10	1,40	0,23	12000
ba73	62	15,10	2	5,00	0,90	0,80	35000
RE74	79	17,21	4	2,40	1,30	0,30	2300
an75	78	19,43	4	2,90	0,19	0,80	8700
t76	84	6,65	0	0,52	0,05	0,10	2000
t77	75	7,17	2	2,10	0,08	0,04	35000
t78	60	8,56	4	9,68	0,27	0,82	34000
CA79	68	10,20	2	5,01	0,18	1,00	8700
MG80	57	48,17	23	1,60	2,80	4,30	101000
MG81	58	42,01	22	1,60	2,82	4,20	76000
MG82	72	13,04	20	1,80	4,30	2,50	1000
MG83	59	38,39	25	1,30	5,30	4,30	76000
MG84	47	41,12	24	1,20	2,20	4,40	54000
CZ85	45	36,00	15	2,50	5,10	4,54	63000
CZ86	36	24,23	9	9,32	1,44	4,44	38000
CZ87	38	31,99	27	5,20	4,63	4,56	43000
SE88	31	45,66	26	12,20	2,30	4,80	100000
ri89	32	57,32	32	0,97	10,84	4,47	205000
PR90	33	54,05	18	2,60	4,30	4,40	3000
I91	61	47,00	21	4,30	3,60	4,20	14000
I92	54	44,12	22	3,30	4,20	2,50	13000
RT93	34	51,21	20	4,60	3,00	4,30	18000

continua

segue

Sito	Saturazione % O ₂	COD (mg/L)	BOD5 (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	<i>E. coli</i> UFC/100mL
MF94	38	34,90	7	3,30	4,30	4,40	12000
MF95	33	33,31	6	4,10	2,90	4,53	16000
VN96	40	28,09	12	1,26	3,56	2,35	11000
RT97	57	19,22	16	4,11	3,83	2,83	54000
t98	62	12,01	7	3,06	0,80	0,83	2000
t99	59	13,18	6	3,30	0,70	0,50	5000
t100	55	18,90	7	2,60	1,90	0,80	7600
t101	58	15,11	4	2,30	1,50	0,90	3200
e102	72	10,64	2	1,20	0,80	0,20	300
fc103	69	12,00	7	5,60	0,60	0,90	20000
AR104	71	8,34	2	1,30	0,83	0,32	3000
t105	40	47,21	31	1,20	5,86	4,62	250000

B) Percentuali d'uso del suolo nei sottobacini a monte dei siti di campionamento
Land use percentages in sub-basins related to sampled sites

Sito	% Bosco	% Pascolo	% Agricolo	% Urbano
TO1	17	0	78	5
TO2	20	0	80	0
TO3	8	0	92	0
TO4	17	0	74	9
CR5	42	0	58	0
CR6	24	0	71	5
CR7	14	2	78	6
CR8	15	1	77	7
TO9	10	0	80	10
I10	0	0	90	10
MF11	15	0	80	5
MF12	5	0	86	9
co13	22	5	66	7
co14	44	5	44	7
fi15	56	0	41	3
e16	54	4	40	2
li17	78	0	18	4
li18	81	0	19	0
li19	89	0	11	0
fc20	50	4	38	8
si21	88	4	8	0
SV22	27	3	63	7
SV23	38	5	53	4
SV24	37	8	50	5
SM25	36	16	40	8
SM26	26	4	60	10
AR27	3	0	79	18
VA28	51	0	49	0
VA29	28	0	67	5
TS30	0	0	23	77
TS31	0	0	22	78
TS32	0	0	34	66

continua

segue

Sito	% Bosco	% Pascolo	% Agricolo	% Urbano
TS33	0	0	85	15
CZ34	18	0	60	22
CZ35	0	0	70	30
CZ36	0	0	73	27
CZ37	0	0	81	19
VN38	0	0	79	21
VN39	0	0	91	9
VN40	0	0	95	5
VN41	0	0	90	10
MG42	0	8	37	55
SB43	0	0	90	10
SB44	0	0	95	5
an45	33	5	47	15
VI46	82	0	18	0
CR47	0	3	39	58
CR48	18	2	65	15
bg49	61	2	35	2
vi50	21	0	69	10
FU51	80	15	5	0
FU52	90	5	5	0
mi53	50	7	40	3
mi54	36	10	50	4
AR55	4	0	93	3
li56	95	0	5	0
si57	80	10	10	0
si58	90	10	0	0
si59	100	0	0	0
AR60	1	4	87	8
co61	76	3	17	4
DO62	37	29	30	4
AR63	1	2	92	5
an64	71	2	21	6
an65	74	6	17	3
an66	75	6	28	1
an67	88	2	8	2
mi68	51	10	38	1
an69	33	5	47	15
AL70	6	0	45	49
an71	83	9	7	1
O72	15	0	82	3
ba73	63	0	37	0
RE74	44	0	50	6
an75	76	3	19	2
t76	0	0	60	40
t77	40	5	50	5
t78	40	5	50	5
CA79	3	1	94	2
MG80	0	0	56	44
MG81	0	4	51	45
MG82	0	20	54	26
MG83	0	0	56	44

continua

segue

Sito	% Bosco	% Pascolo	% Agricolo	% Urbano
MG84	0	0	38	62
CZ85	0	0	88	12
CZ86	1	0	66	33
CZ87	2	0	57	41
SE88	0	0	95	5
ri89	77	3	18	2
PR90	15	0	65	20
I91	0	0	78	22
I92	0	0	60	40
RT93	0	0	77	23
MF94	0	0	90	10
MF95	0	0	90	10
VN96	0	0	99	1
RT97	3	0	71	26
t98	40	5	50	5
t99	40	5	50	5
t100	38	5	47	10
t101	35	5	45	15
e102	70	0	30	0
fc103	44	2	44	10
AR104	0	0	58	42
t105	40	5	50	5

C) Punteggi delle risposte ottenute dall'applicazione dell'indice IFF a tratti fluviali omogenei.
(i codici sono spiegati in tabella 2, le domande sono presentate in Materiale e Metodi)
Scores of answers from IFF index application to homogeneous river reaches (codes as in tab.2, for questions see Material and methods).

		ALa	ri_a	ri_b	ri_c	vl_a	vl_b	vl_c	vl_d	si_a	si_b	fc_a	fc_b	fc_c	li_a	li_b
<i>km</i>		3,5	4	4,2	5	1	2	1,1	2	4	5	3	3	4	1	2
Domanda	1	5	5	5	20	20	5	5	5	25	20	25	20	25	1	5
	2	10	25	10	25	25	25	25	25	40	40	40	25	40	25	25
	3	5	10	5	5	10	5	5	5	15	10	10	5	10	5	10
	4	10	10	10	5	15	15	15	10	15	10	10	10	15	5	10
	5	20	10	10	10	20	20	20	20	20	20	20	20	10	10	15
	6	5	5	5	5	5	15	15	15	1	1	15	15	5	5	15
	7	5	15	5	5	15	15	15	5	25	25	15	15	15	15	15
	8	15	20	5	15	15	15	15	15	20	20	20	20	20	15	15
	9	5	15	5	5	15	15	15	15	20	20	15	15	20	15	20
	10	5	20	5	5	20	20	20	20	25	25	20	20	5	20	15
	11	1	15	5	5	15	15	15	15	20	20	15	15	15	15	5
	12	5	5	5	5	5	5	5	5	15	15	10	10	15	5	10
	13	5	10	10	15	10	10	10	10	15	25	10	10	15	5	10
	14	1	5	5	5	5	5	5	5	20	20	10	10	10	10	10
Totale		97	170	90	130	195	185	185	170	276	261	235	210	220	155	170
Classe		IV	III	IV	III	II-III	II-III	II-III	III	I	I	II	II	II	III	III
		li_c	li_d	li_e	li_f	e_a	e_b	e_c	e_d	SVa	SVb	SVc	SCd	I_a	I_b	I_c
<i>km</i>		1,1	2	1,1	2	1,7	3	4,5	2	1,8	3	4	3	2,2	3	3
Domanda	1	25	20	5	25	1	5	5	25	1	5	20	25	5	1	20
	2	40	1	25	40	25	25	25	40	10	25	40	40	10	10	10
	3	10	1	5	10	5	5	5	10	5	5	10	15	5	5	5
	4	10	5	10	10	10	10	15	15	5	10	15	15	10	10	10
	5	5	5	10	10	20	20	20	20	5	20	20	20	10	10	10
	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	7	15	15	15	15	15	15	15	15	5	5	15	15	1	5	5
	8	15	1	5	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	1	15
	9	15	5	5	15	5	5	15	15	5	15	15	15	5	5	20
	10	20	5	20	20	20	20	20	5	1	20	20	20	5	5	20
	11	15	5	5	15	5	5	15	15	5	15	15	15	1	5	15
	12	5	5	10	10	5	5	10	15	1	15	15	15	5	10	10
	13	10	10	10	10	5	5	10	15	5	15	15	15	10	10	10
	14	10	10	10	10	5	5	10	10	1	10	10	20	10	5	5
Totale		175	73	135	210	140	140	185	220	68	180	230	250	97	87	160
Classe		III	IV	III	II-III	III	III	II-III	II	IV	III	II	II	IV	IV	III
		I_d	I_e	I_f	RTa	RTb	RTc	RTd	VaA	VAb	VAc	VAd	MFa	MFb	MFc	MFd
<i>km</i>		4	4	3	2,3	2,1	4	4	7	3	3	3	2,4	3,5	4	4
Domanda	1	5	5	1	5	1	5	5	5	20	25	20	1	5	20	20
	2	25	25	10	10	25	25	25	1	25	40	25	1	25	10	25
	3	5	5	5	5	5	5	5	1	5	10	5	1	5	5	5
	4	10	15	5	10	5	10	5	5	10	15	10	5	5	10	5
	5	10	10	5	10	10	10	10	10	20	10	10	10	10	10	5
	6	15	15	5	5	5	5	5	5	25	15	15	5	5	5	5
	7	15	15	5	1	5	5	15	5	15	25	15	1	15	5	15
	8	15	15	1	15	15	15	15	20	20	20	20	5	5	5	20
	9	20	20	5	5	5	15	15	5	20	20	15	5	5	5	15
	10	20	20	1	5	5	5	5	5	20	25	5	5	5	5	5
	11	15	15	1	1	5	15	5	5	15	20	15	5	5	5	5
	12	10	10	5	5	5	5	5	10	15	15	10	10	10	10	10
	13	10	5	5	10	10	10	10	15	15	15	15	10	10	10	10
	14	5	5	1	5	5	5	1	5	20	20	10	5	10	5	5
Totale		180	180	54	92	106	135	121	97	245	275	90	69	120	110	150
Classe		III	III	IV-V	IV	III-IV	III	III	IV	II	I	II-III	IV	III-IV	III-IV	III

continua

segue

		ARa	ARb	ARc	ARd	ARe	ARf	fi_a	fi_b	fi_c	fi_d	fi_e	fi_f	CAa	CAb	CA_c
<i>km</i>		6	7	6	3,5	4,5	4	2,5	2,5	2,5	1,6	2	3	3	2,5	2,5
Domanda	1	5	5	5	20	20	1	5	5	20	20	5	20	5	20	20
	2	10	25	25	25	25	1	10	25	25	25	25	40	10	25	40
	3	5	5	5	5	5	5	5	5	10	5	5	10	5	5	10
	4	5	5	5	5	5	5	5	10	15	10	5	10	10	10	15
	5	10	10	10	10	10	5	10	5	10	5	10	10	10	10	10
	6	5	15	15	15	15	5	15	5	5	15	5	5	5	5	5
	7	1	5	15	15	15	5	5	15	15	15	5	25	1	5	15
	8	5	15	15	15	15	5	15	15	15	15	15	20	5	15	20
	9	5	5	15	15	15	5	5	5	15	20	15	15	5	20	20
	10	5	5	20	20	20	5	5	5	20	5	5	20	5	20	20
	11	5	5	5	15	15	5	5	5	15	5	5	15	5	15	20
	12	5	10	5	5	5	5	5	5	10	10	10	10	5	10	10
	13	10	10	5	10	10	10	10	15	10	10	10	10	5	10	15
	14	5	5	10	5	5	1	5	10	10	10	5	10	10	5	10
Totale		97	81	125	155	180	160	63	105	135	195	170	125	220	86	175
Classe		IV	IV	III	III	III	III	IV	III-IV	III	II-III	III	III	II	IV	III

		CRa	CRb	CRc	CRd	CRE	CRf	CRg	SMa	SMb	SMc	SMd	TOa	TOb	TOc	TOD
<i>km</i>		2,8	5,8	3,5	3,5	3,5	3	2	2,5	2,5	4,5	4,5	3	2	3	3
Domanda	1	5	20	25	5	20	20	25	5	1	20	25	1	5	5	20
	2	10	25	40	10	40	25	40	25	25	25	40	10	10	25	40
	3	5	5	15	5	10	15	15	5	5	5	15	5	5	15	15
	4	5	5	15	10	10	5	15	10	5	10	15	5	5	5	10
	5	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	20	5	20	20
	6	5	15	15	5	15	15	15	15	1	15	15	5	5	5	15
	7	5	5	15	5	15	15	25	5	5	15	15	1	1	5	25
	8	5	15	20	15	15	20	15	5	15	20	20	5	5	15	20
	9	15	20	20	15	20	20	20	5	5	15	20	15	15	15	20
	10	5	20	20	20	20	20	20	5	5	20	20	5	5	5	20
	11	5	15	15	5	15	15	20	5	5	15	20	5	5	15	20
	12	5	5	10	5	10	10	10	5	5	15	15	5	5	5	10
	13	5	1	15	10	15	15	15	5	5	10	15	15	15	15	15
	14	5	5	5	5	5	10	20	5	1	10	10	5	5	5	10
Totale		175	90	166	240	125	220	215	265	110	92	200	255	102	91	155
Classe		III	IV	III	II	III	II	II	I	III-IV	IV	II-III	I-II	III-IV	IV	III

		TOe	TOf	coa	cob	coc	cod
<i>km</i>		2,5	3	2,7	2,7	2,5	4
Domanda	1	25	5	5	5	20	20
	2	40	10	25	25	25	25
	3	15	5	5	5	5	10
	4	15	5	10	10	10	5
	5	20	20	10	10	10	10
	6	15	5	5	15	5	5
	7	25	5	5	15	15	15
	8	5	20	5	15	20	20
	9	20	20	15	15	20	20
	10	25	20	20	20	20	20
	11	20	5	15	15	15	15
	12	5	10	5	10	10	10
	13	15	10	10	10	15	15
	14	5	5	5	10	10	10
Totale		180	250	145	140	180	200
Classe		III	II	III	III	III	II-III

D) Composizione dei campioni di macrobenthos raccolti durante il campionamento d'indagine.

Composition matrix of macroinvertebrate samples collected during the survey sampling

Significato dei numeri in intestazione di colonna: 1. *Leuctra* sp; 2. *Isoperla* sp; 3. *Dinocras cephalotes*; 4. *Perla grandis*; 5. *Protonemura lagrecai*; 6. *Taeniopteryx* sp; 7. *Epeorus alpicola*; 8. *Rythrogena* sp; 9. *Ecdyonurus venosus*; 10. *Heptagenia* sp; 11. *Habrophlebia*.sp; 12. *Habroleptoides* sp; 13. *Choroterpes* sp; 14. *Paraleptophlebia* sp; 15. *Ephemera danica*; 16. *Serratella ignita*; 17. *Oligoneuriella renana*; 18. *Baetis* sp; 19. *Cloeon dipterum*; 20. *Caenis* sp; 21. Rhyacophilidae; 22. *Hydropsyche* sp; 23. *Halesus* sp; 24. *Limnephilus* sp; 25. *Sericostoma* sp; 26. *Lepidostoma* sp; 27. *Policentropus flavomaculatum* 28. *Microsema* sp; 29. *Philopotamus* sp; 30. *Psycomia* sp; 31. *Odontocerum albicorne*; 32. Hidroptilidae; 33. Leptoceridae; 34. Ecnomidae; 35. Glossosomatidae; 36. Dytiscidae; 37. Hydrophilidae; 38. Elmidae; 39. Hydraenidae; 40. Gyrinidae; 41. Helodidae; 42. Helophoridae; 43. Dryopidae; 44. Haliplidae; 45. *Cordulegaster* sp; 46. *Onychogomphus* sp; 47. *Gomphus* sp; 48. *Ladona* sp; 49. *Orthetrum* sp; 50. *Calopteryx* sp; 51. *Ischnura* sp; 52. *Boyeira irene*; 53. *Anax* sp; 54. *Platycnemis* sp; 55. Chironomidae; 56. Ceratopogonidae; 57. Simuliidae; 58. Limoniidae; 59. Tipulidae; 60. Tabanidae; 61. Psychodidae; 62. *Atheryx* sp; 63. *Athrycops* sp; 64. Stratiimididae; 65. Ptychopteridae; 66. Dixidae; 67. Empididae; 68. Anthomyiidae; 69. *Velia* sp; 70. *Nepa cinerea*; 71. *Gerris* sp; 72. *Anisops sardea*; 73. Corixinae; 74. *Plea minutissima*; 75. *Sialis* sp; 76. Gammaridae; 77. *Proasellus* sp; 78. Palaemonidae; 79. *Potamopyrgus antipodarum*; 80. *Bithynia* sp; 81. *Physa acuta*; 82. *Lymnaea* sp; 83. *Ancylus fluviatilis*; 84. *Theodoxus* sp; 85. Planorbidae; 86. *Pisidium* sp; 87. *Dugesia* sp; 88. *Dina lineata*; 89. *Herpobdella* sp; 90. *Helobdella* sp; 91. Lumbricidae; 92. Tubificidae; 93. Lumbriculidae; 94. Naididae; 95. Haplotaxidae

Sito	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
TO1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TO2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0
TO3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	
TO4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	
CR5	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
CR6	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
CR7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
CR8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0
TO9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
I10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
MF11	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0
MF12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
co13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
co14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
fi15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
li17	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0
li18	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0
li19	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1
fc20	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0
si21	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
SV22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
SV23	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
SV24	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0
SM25	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0
SM26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
AR27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
VA28	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0
VA29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
TS30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TS31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
TS32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TS33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CZ34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

continua

segue

Sito	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
CZ36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
VN39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
VN41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
MG42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SB43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
SB44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
an45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VI46	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0
CR47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CR48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
bg49	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1
vi50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
FU51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0
FU52	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1
mi53	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
mi54	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
AR55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0
li56	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
si57	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
si58	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
si59	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
AR60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
co61	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
DO62	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
AR63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an64	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
an65	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
an66	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
an67	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
mi68	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
an69	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
AL70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
an71	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
O72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
ba73	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
RE74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
an75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
MG80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CZ87	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SE88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
PR90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

continua

segue

Sito	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
I91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RT93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RT97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
fc103	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1
AR104	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
t105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
CA79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
t76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
t77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
t78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Taxa 25-48

Sito	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
TO1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TO2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TO3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
TO4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
CR5	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CR6	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
CR7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CR8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
TO9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
I10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF11	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
MF12	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
co13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
co14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
fi15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
li17	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0
li18	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0
li19	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
fc20	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
si21	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
SV22	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
SV23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
SV24	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
SM25	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
SM26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AR27	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
VA28	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
VA29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

continua

segue

Sito	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
TS31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TS32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TS33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ34	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
CZ35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
CZ36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CZ37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN38	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
VN41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SB43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
SB44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
an45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VI46	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
CR47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CR48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
bg49	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
vi50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FU51	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
FU52	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
mi53	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1
mi54	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
AR55	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
li56	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
si57	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
si58	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
si59	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AR60	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
co61	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
DO62	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
AR63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an64	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an65	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an66	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an67	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mi68	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
an69	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AL70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
O72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ba73	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
RE74	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
MG80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

continua

segue

Sito	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
CZ87	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
SE88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
ri89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PR90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RT93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RT97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
fc103	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0
AR104	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
t105	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
CA79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
t76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
t77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Taxa 50-73

Sito	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73
TO1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TO2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TO3	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TO4	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CR5	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CR6	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CR7	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
CR8	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
TO9	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I10	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF11	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
MF12	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
co13	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
co14	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
fi15	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e16	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
li17	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
li18	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
li19	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
fc20	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
si21	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
SV22	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
SV23	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
SV24	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

continua

segue

Sito	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73
SM25	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SM26	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AR27	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
VA28	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
VA29	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TS31	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TS32	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TS33	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ34	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CZ35	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ36	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ37	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN38	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN39	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN40	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN41	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG42	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SB43	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SB44	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an45	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VI46	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CR47	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CR48	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
bg49	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
vi50	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FU51	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FU52	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
mi53	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mi54	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AR55	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
li56	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
si57	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
si58	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
si59	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AR60	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
co61	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
DO62	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
AR63	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
an64	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an65	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an66	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an67	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mi68	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an69	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AL70	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an71	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
O72	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ba73	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
RE74	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an75	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
MG80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

continua

segue

Sito	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73
MG81	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG82	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG83	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MG84	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ85	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CZ87	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
SE88	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
ri89	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PR90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
I91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RT93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
MF94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MF95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN96	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RT97	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t98	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t99	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t100	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t101	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
e102	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
fc103	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AR104	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t105	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CA79	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
t76	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
t77	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
t78	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Taxa 74-95

Sito	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	
TO1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
TO2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
TO3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
TO4	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0
CR5	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0
CR6	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
CR7	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
CR8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
TO9	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
I10	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
MF11	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
MF12	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
co13	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
co14	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
fi15	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
e16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
li17	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
li18	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
li19	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
fc20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
si21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

continua

segue

Sito	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
SV22	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0
SV23	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
SV24	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
SM25	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
SM26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
AR27	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
VA28	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
VA29	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
TS31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
TS32	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
TS33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
CZ34	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
CZ35	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
CZ36	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
CZ37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
VN38	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
VN39	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
VN40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0
VN41	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0
MG42	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
SB43	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
SB44	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
an45	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
VI46	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
CR47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
CR48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
bg49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
vi50	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
FU51	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0
FU52	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
mi53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
mi54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
AR55	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
li56	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
si57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
si58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
si59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
AR60	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
co61	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0
DO62	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
AR63	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
an64	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
an65	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
an66	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
an67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
mi68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
an69	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
AL70	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
an71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
O72	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
ba73	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
RE74	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0

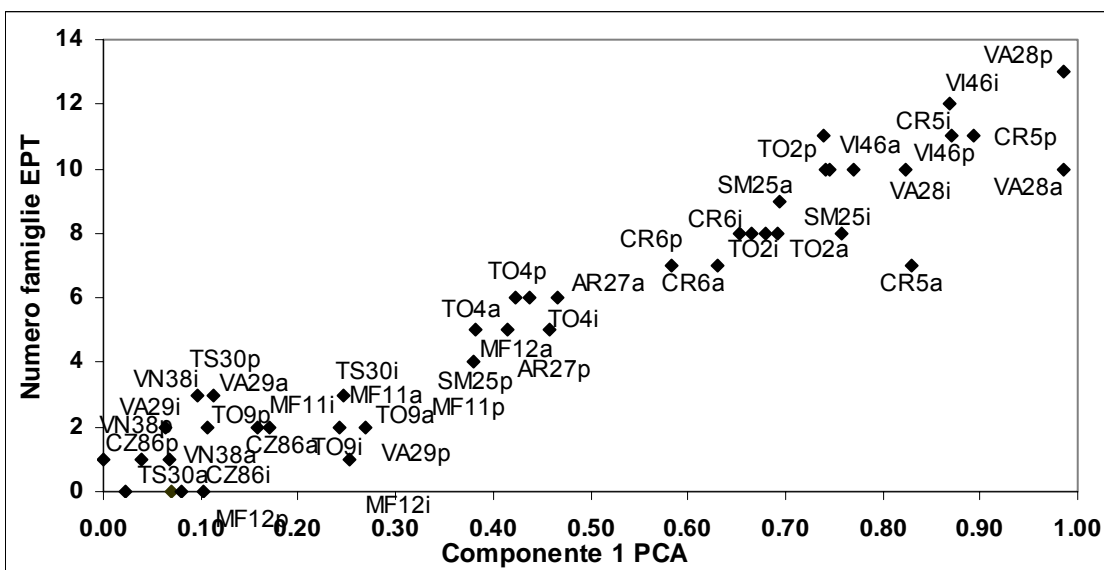
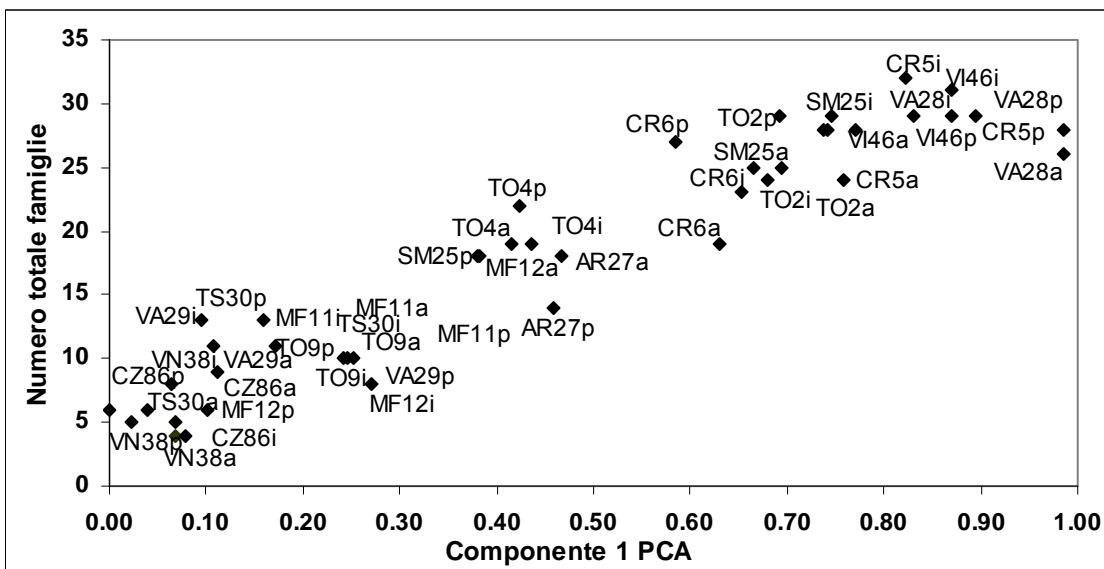
continua

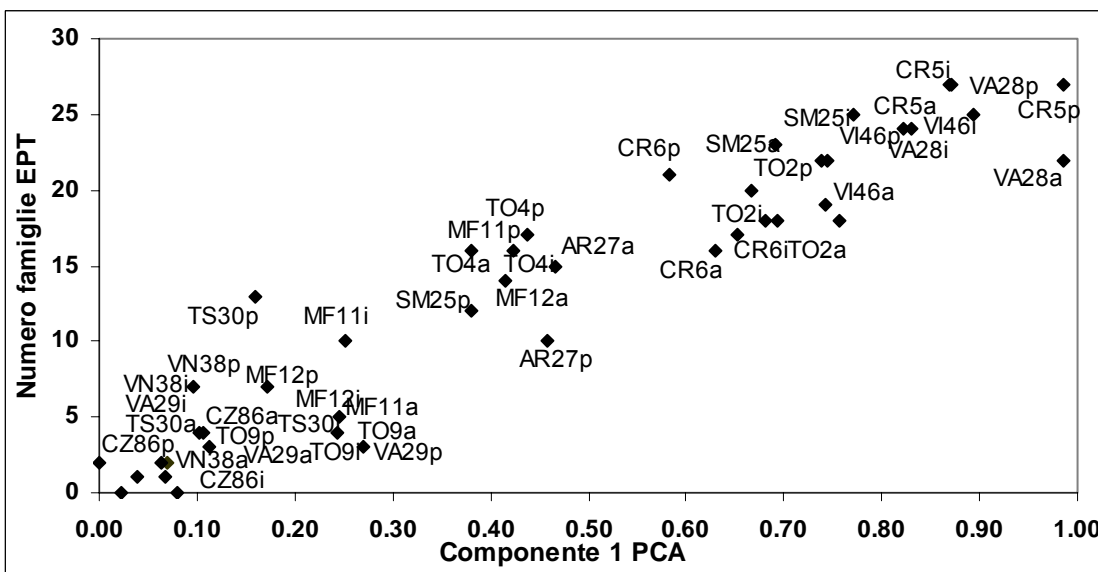
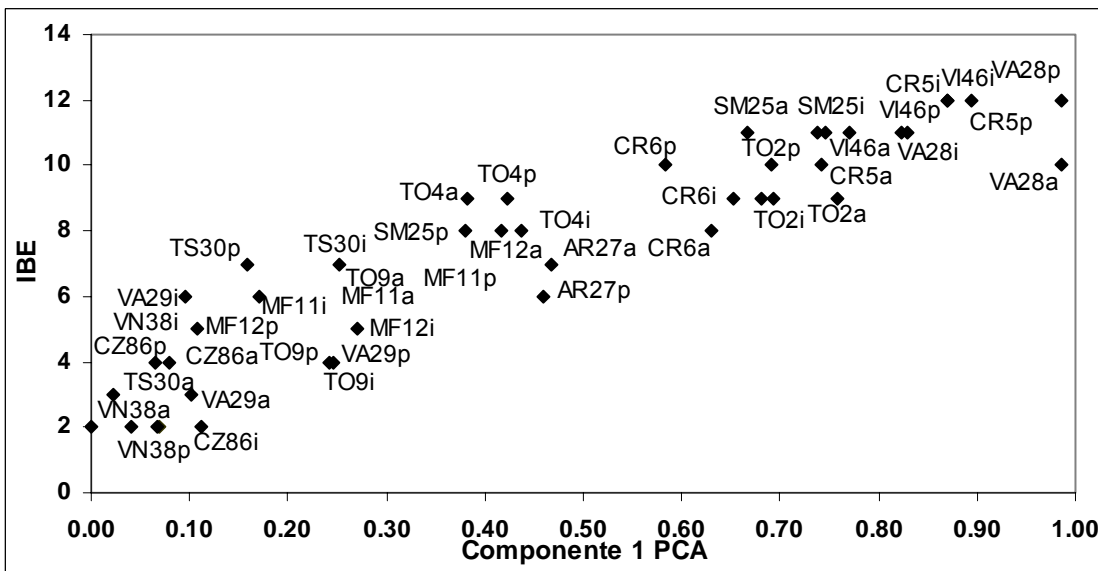
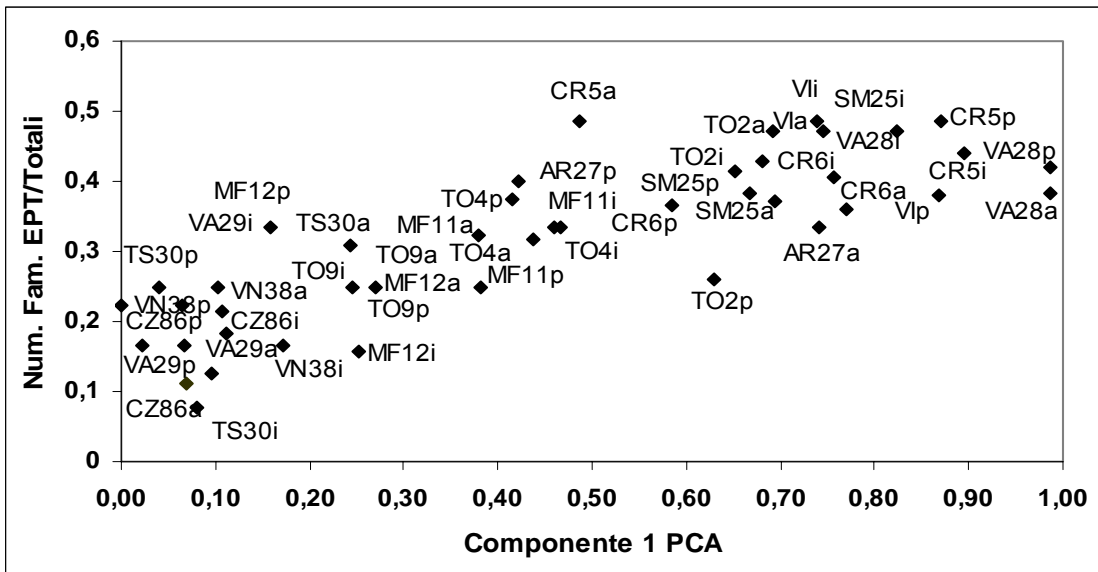
segue

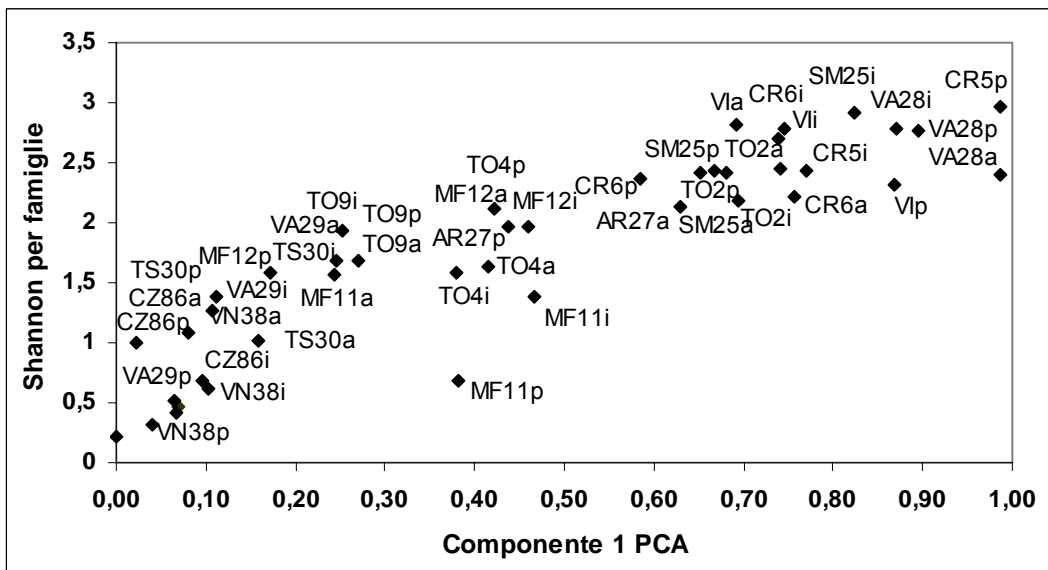
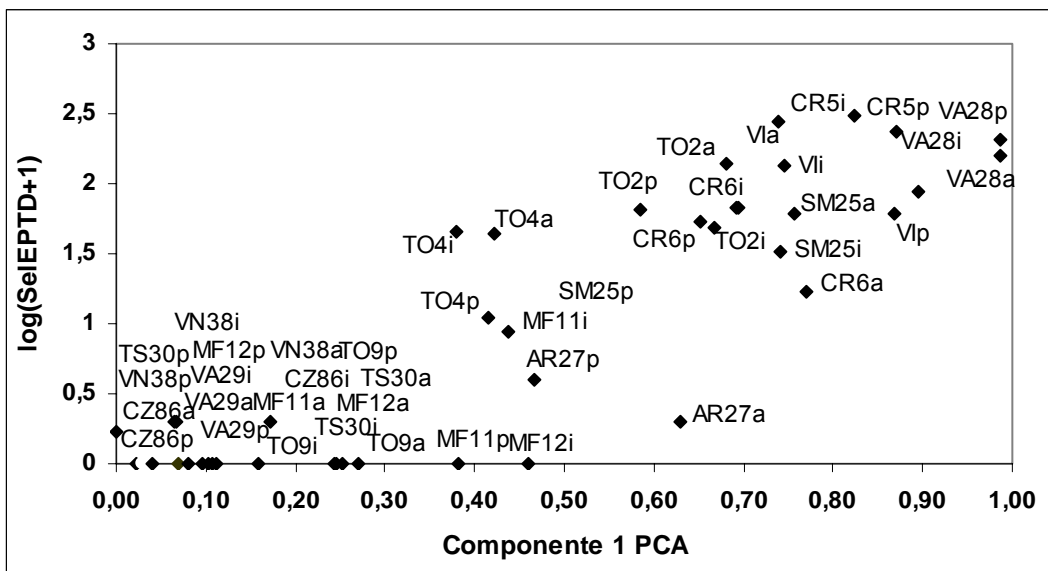
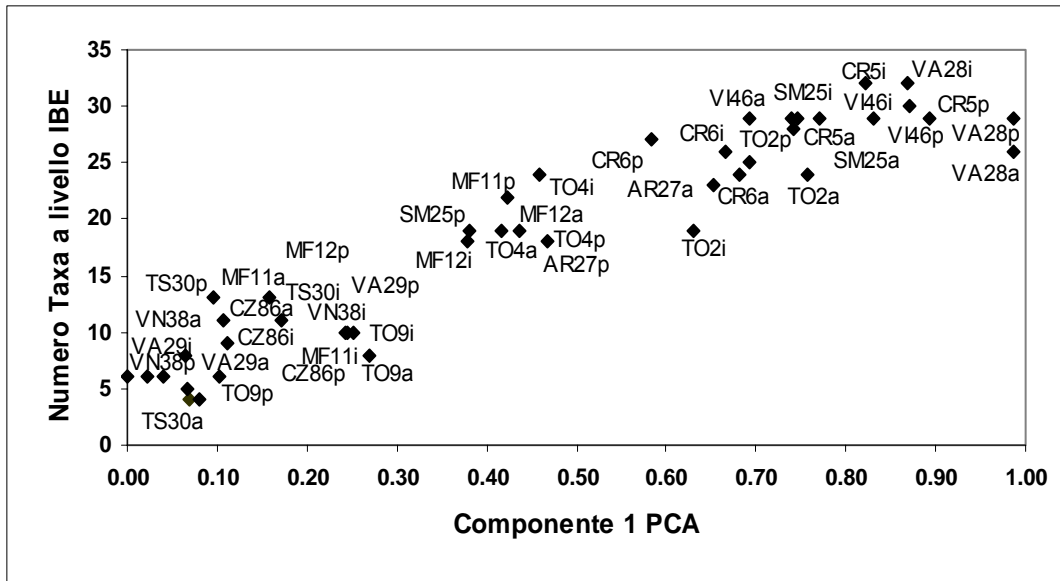
Sito	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
an75	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
MG80	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MG81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MG82	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
MG83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MG84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
CZ85	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
CZ87	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0
SE88	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0
ri89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
PR90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
I91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
I92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
RT93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
MF94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
MF95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
VN96	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0
RT97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
t98	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
t99	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
t100	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
t101	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
e102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
fc103	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
AR104	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
t105	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
CA79	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
t76	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
t77	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
t78	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0

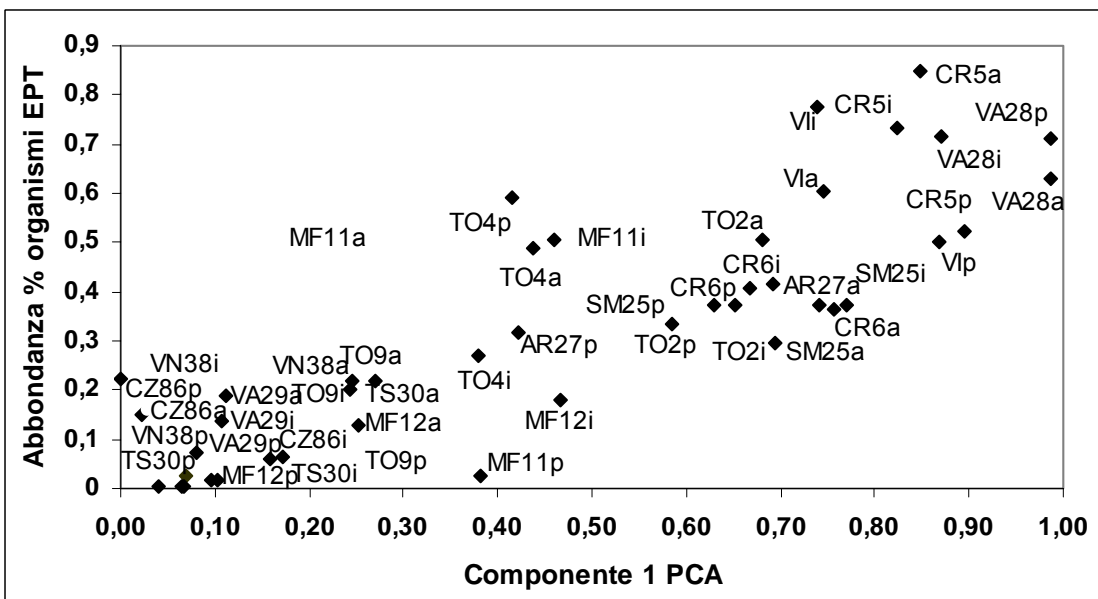
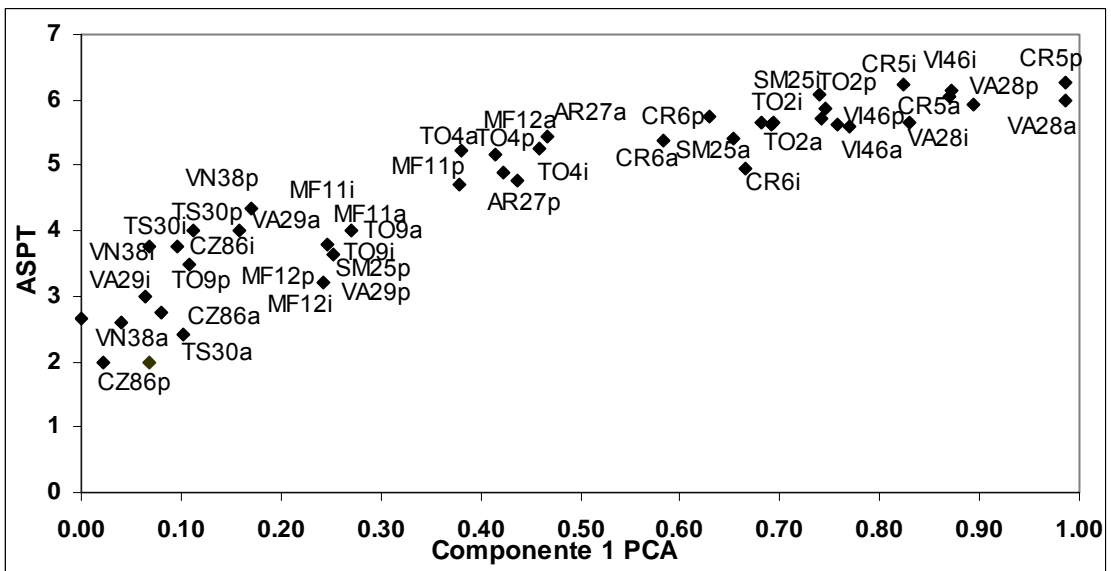
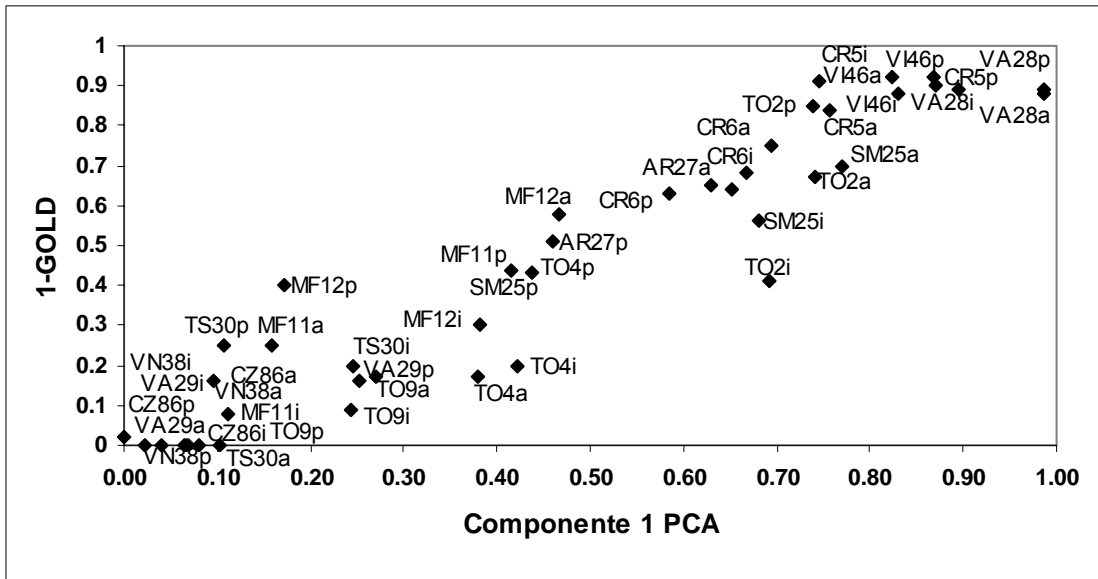
APPENDICE 2. GRAFICI PER LA SELEZIONE DELLE METRICHE

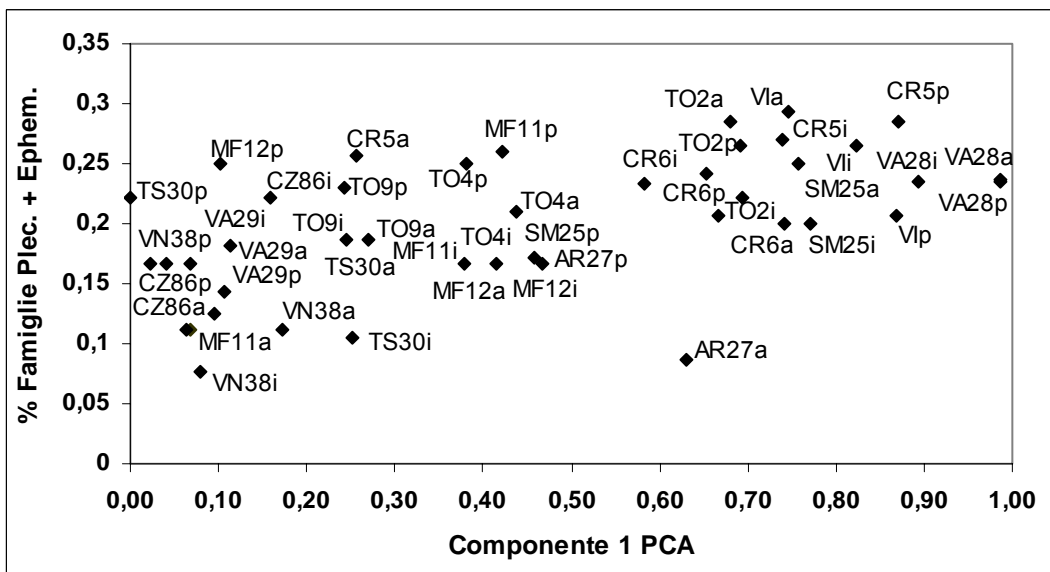
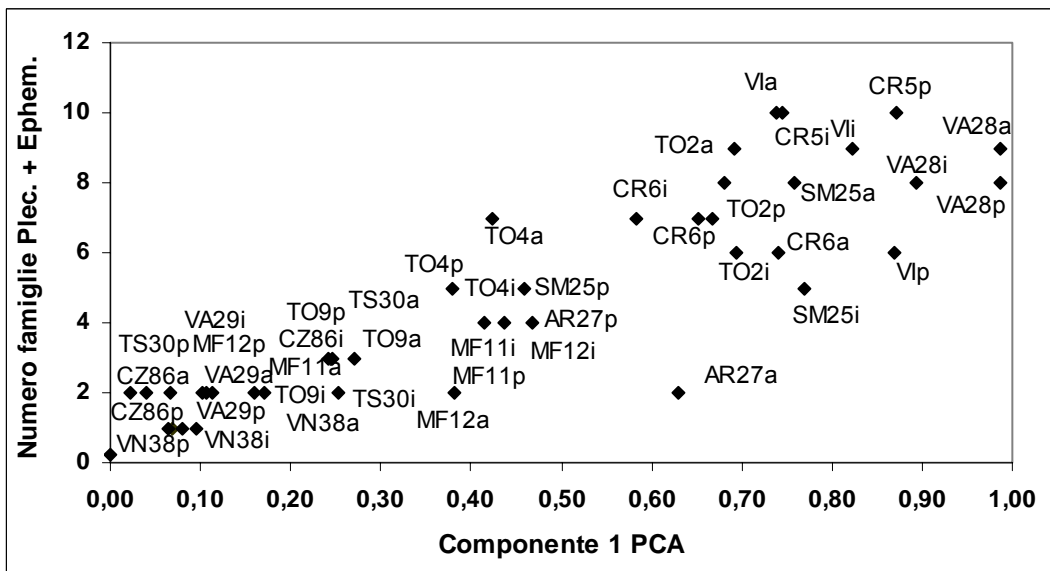
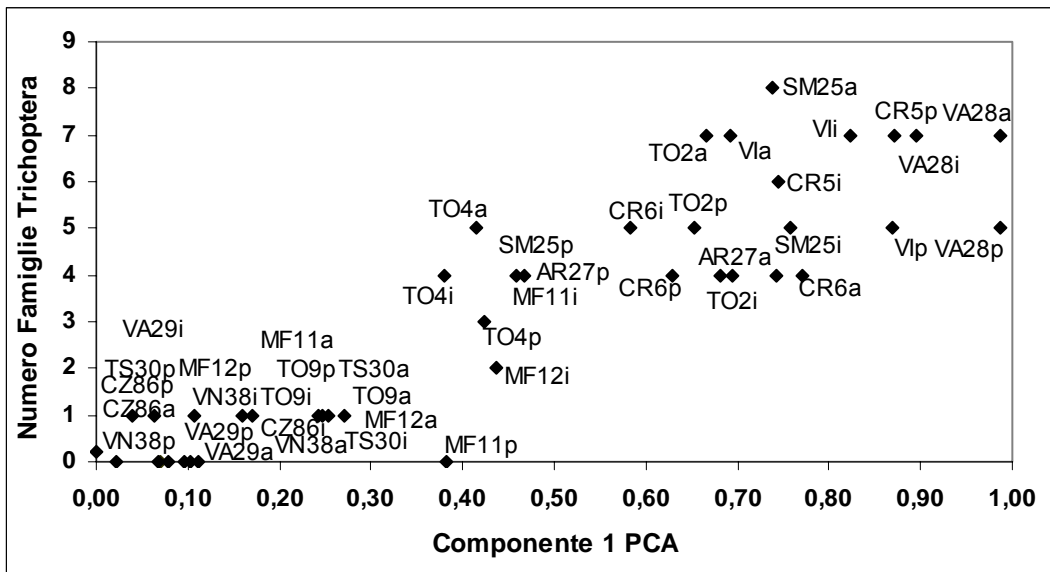
- A) Grafici di confronto tra le metriche e i punteggi CP1 della PCA sui campioni di macrobenthos. Sono riportate solo le metriche con forti correlazioni significative ($p > 0,6$, $p < 0,01$) con la CP1
Comparison graphs between metrics and PCA scores on macrobenthos samples

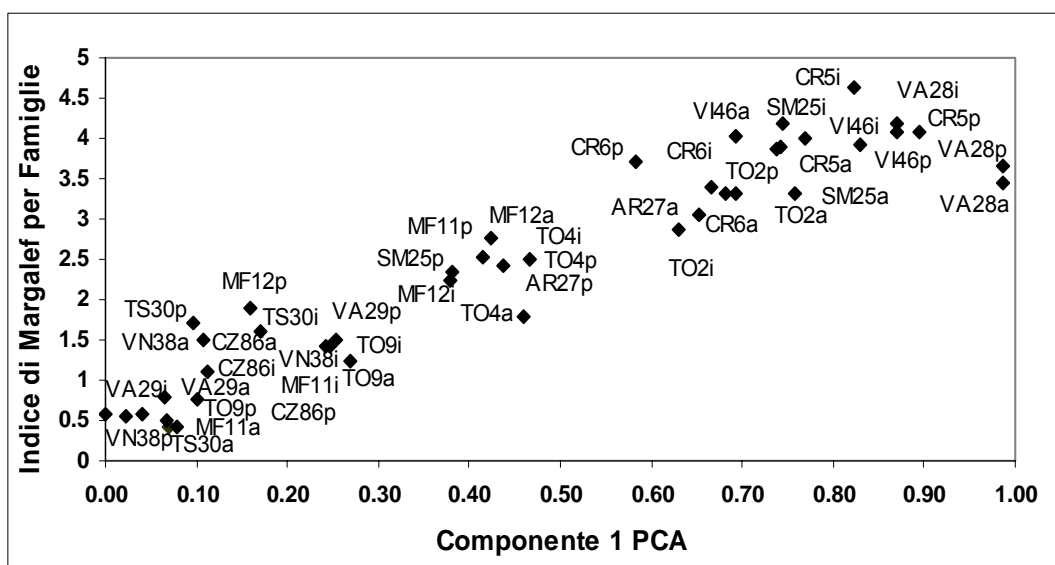
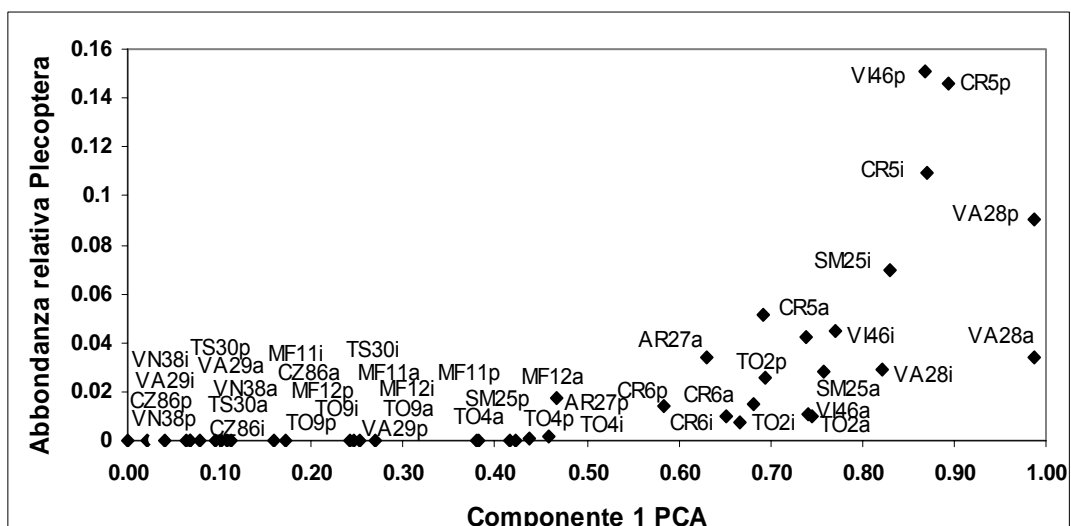
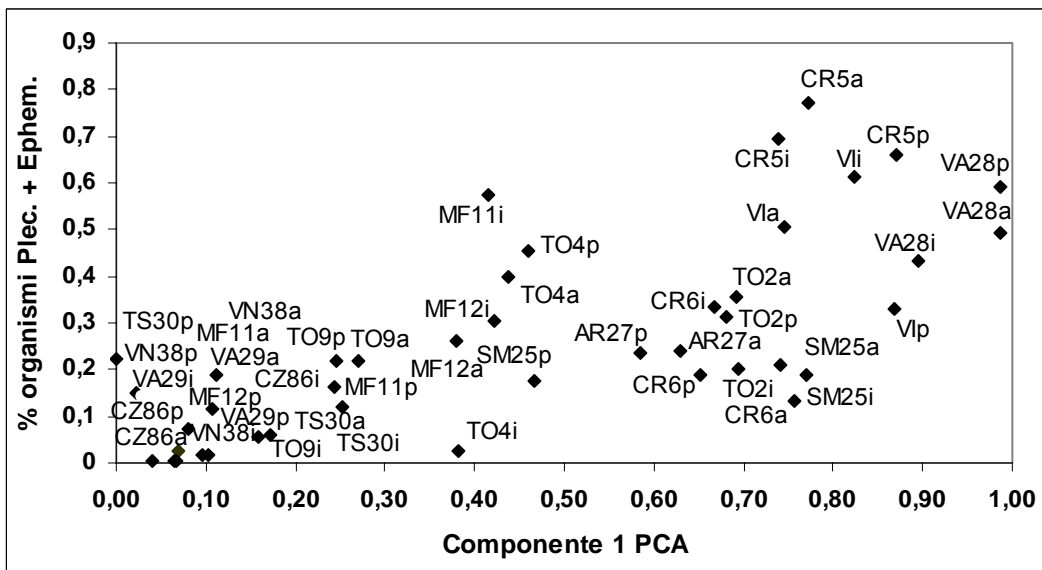


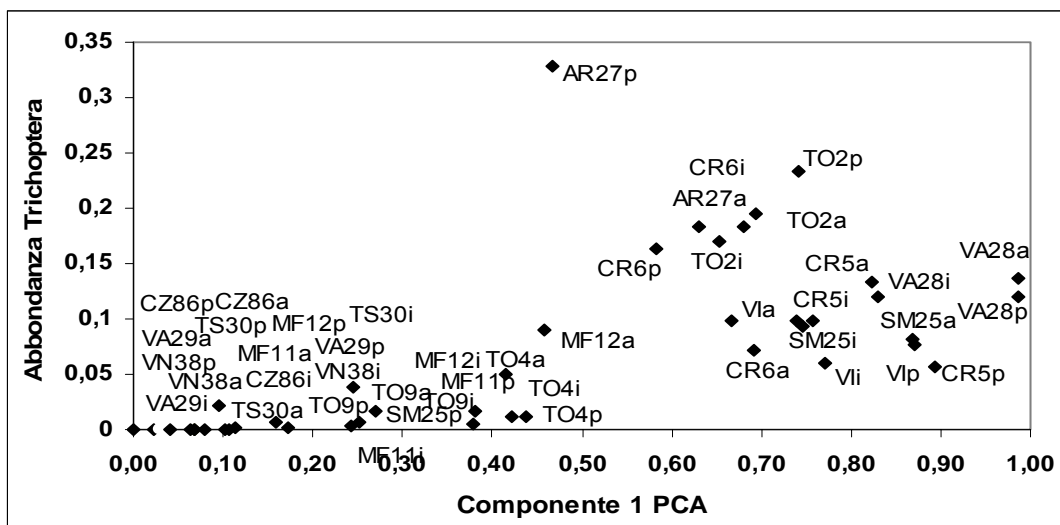
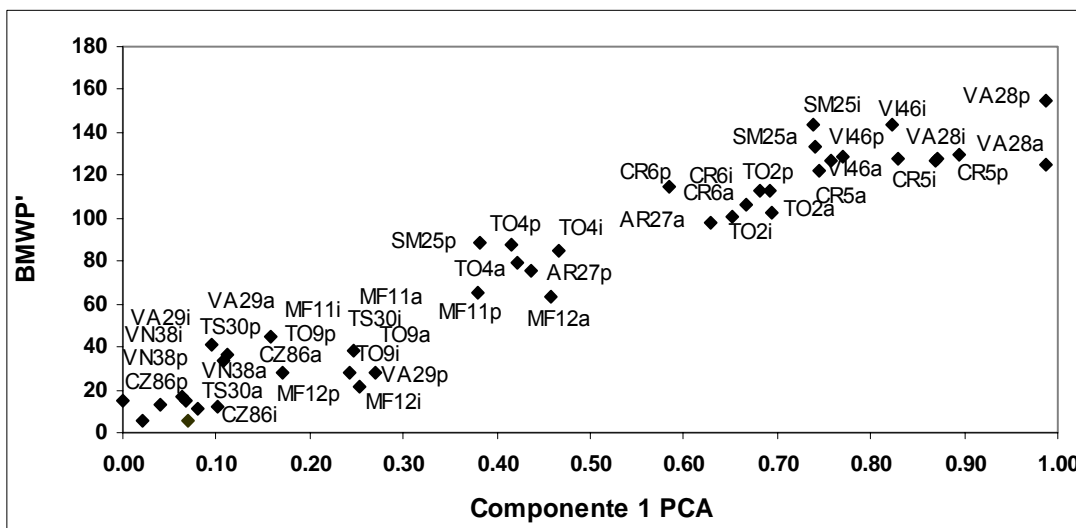
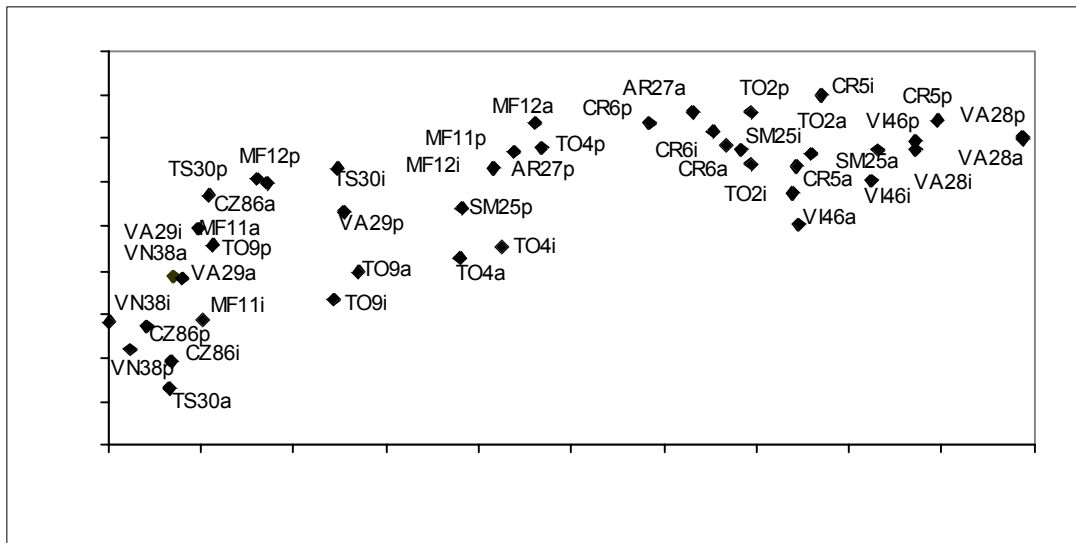




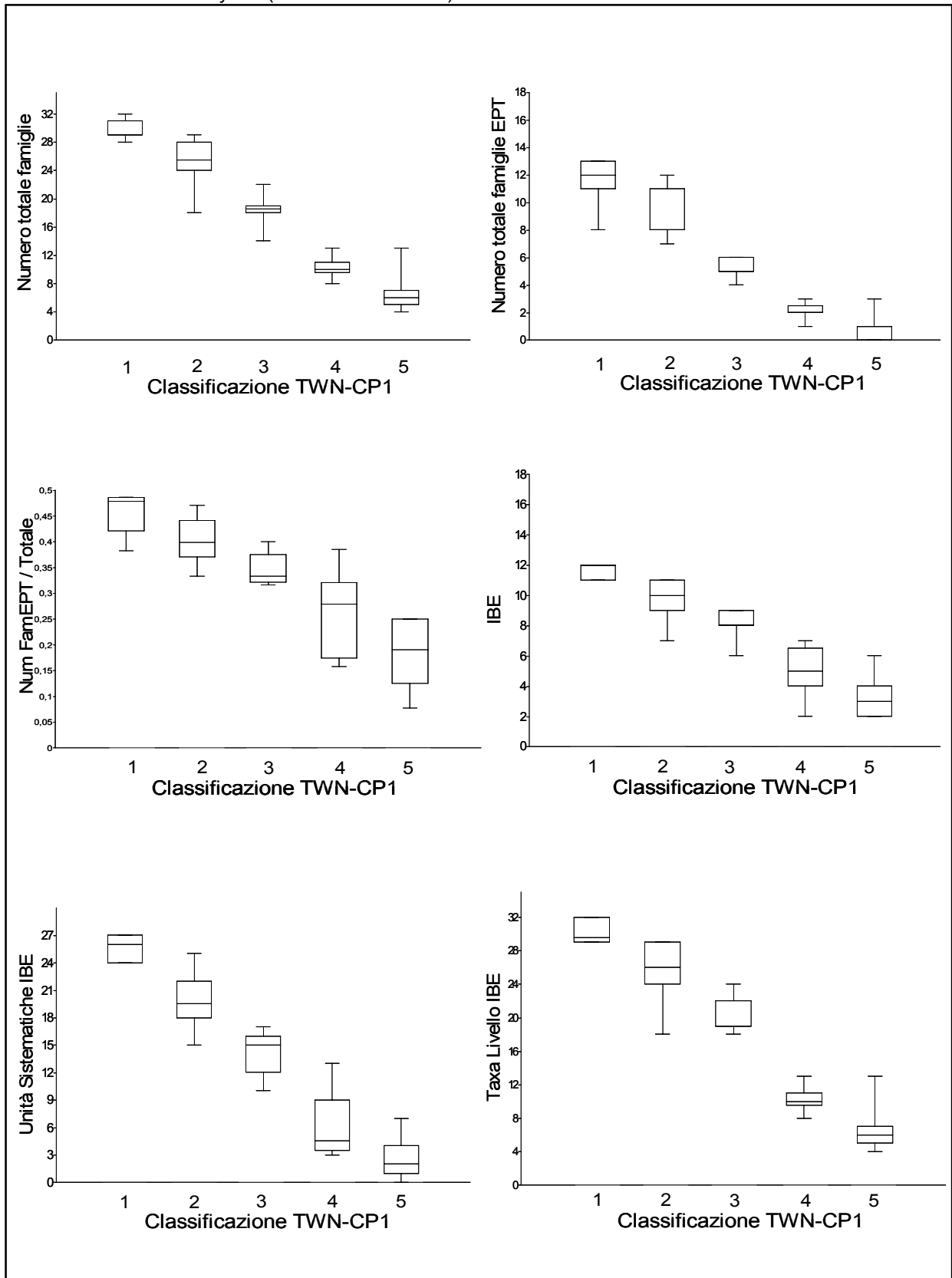






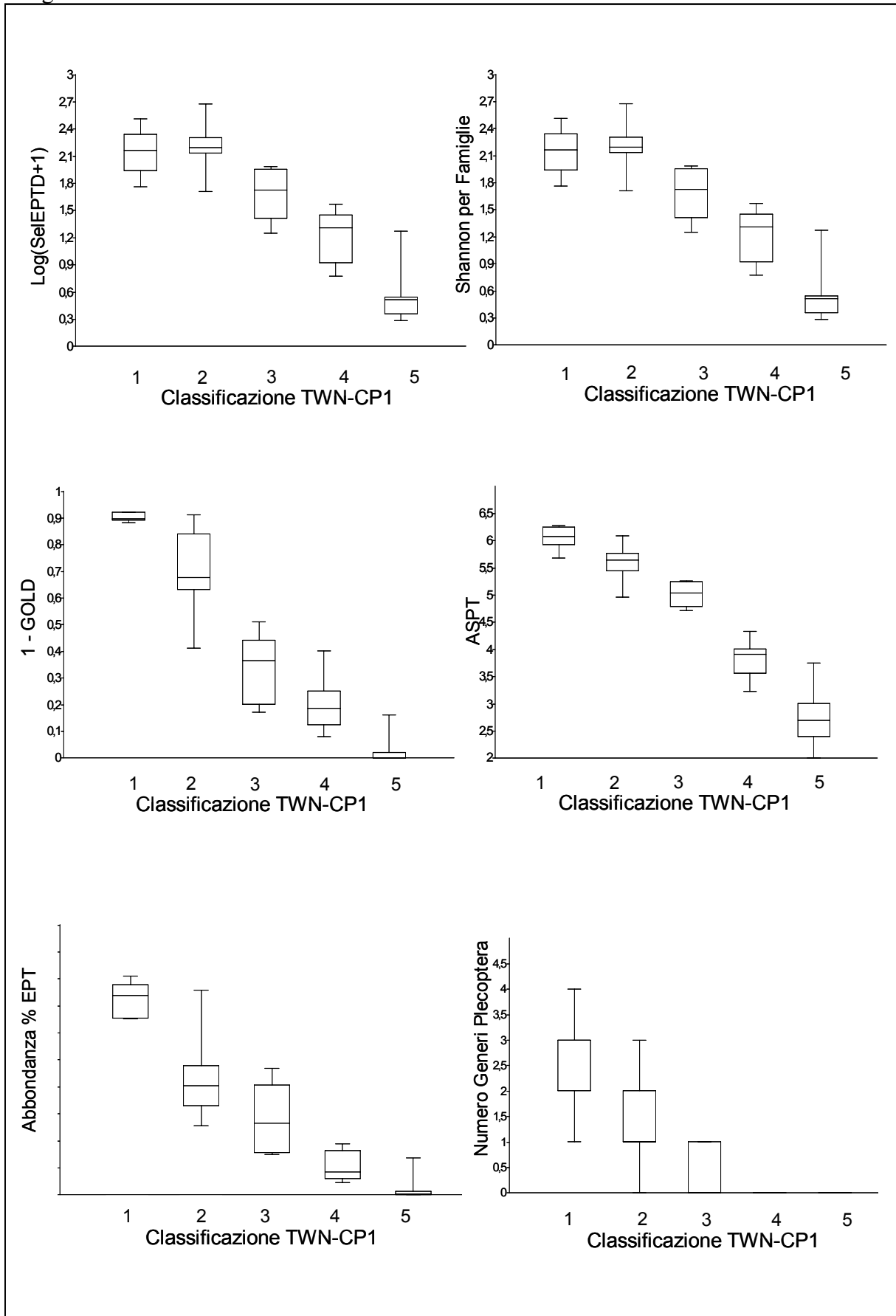


B) Grafici *Box-plot* (massimo, minimo, 75° percentile, 25° percentile, mediana) dei risultati dell'applicazione delle metriche (con correlazione $\rho > 0,6$) ai cinque gruppi di campioni individuati con l'analisi multivariata (TWINSPAN + PCA)
Box-plot of the results of the application of metrics ($\rho > 0.6$) to the 5 groups selected from multivariate analyses (TWINSPAN + PCA)



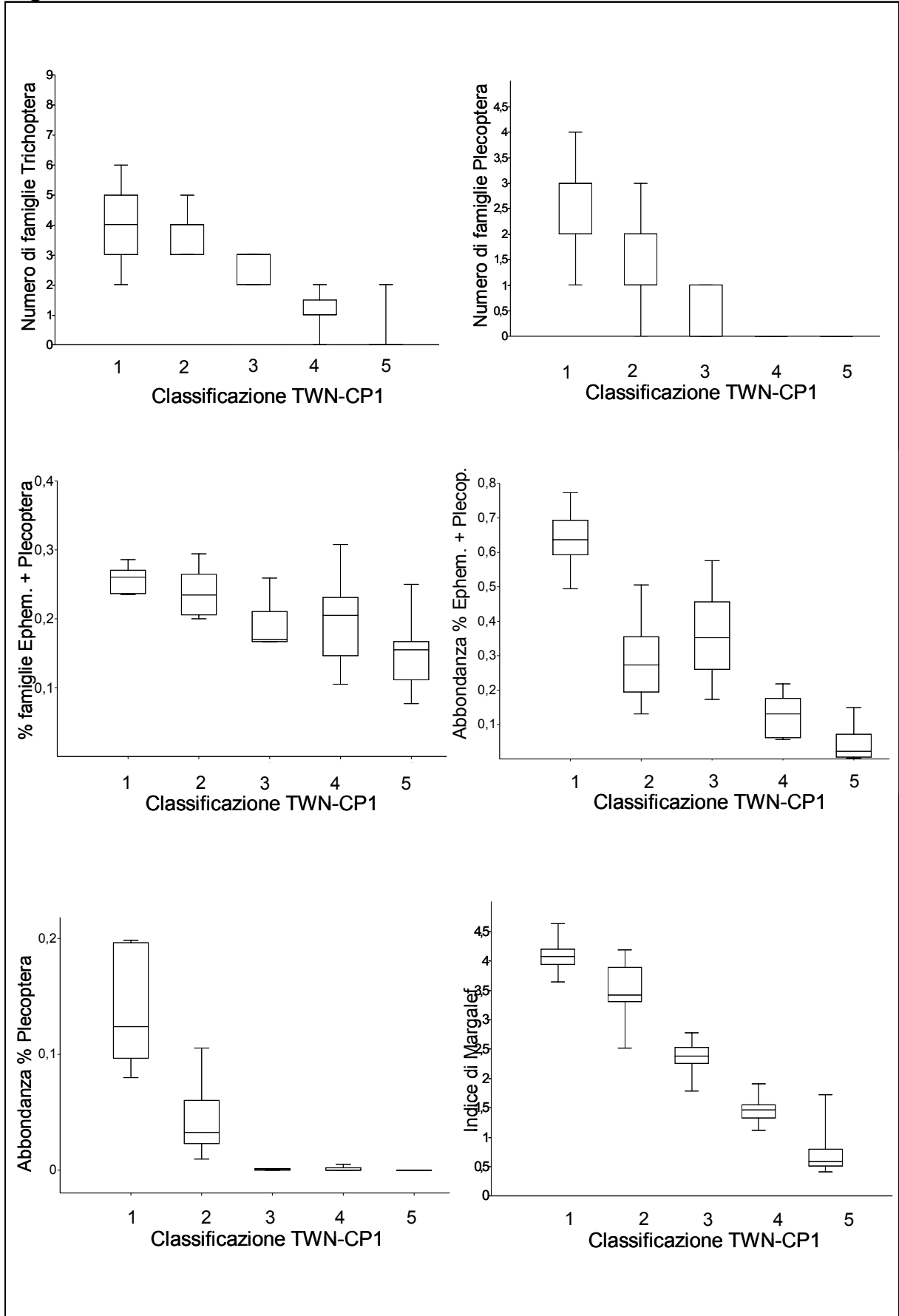
continua

segue



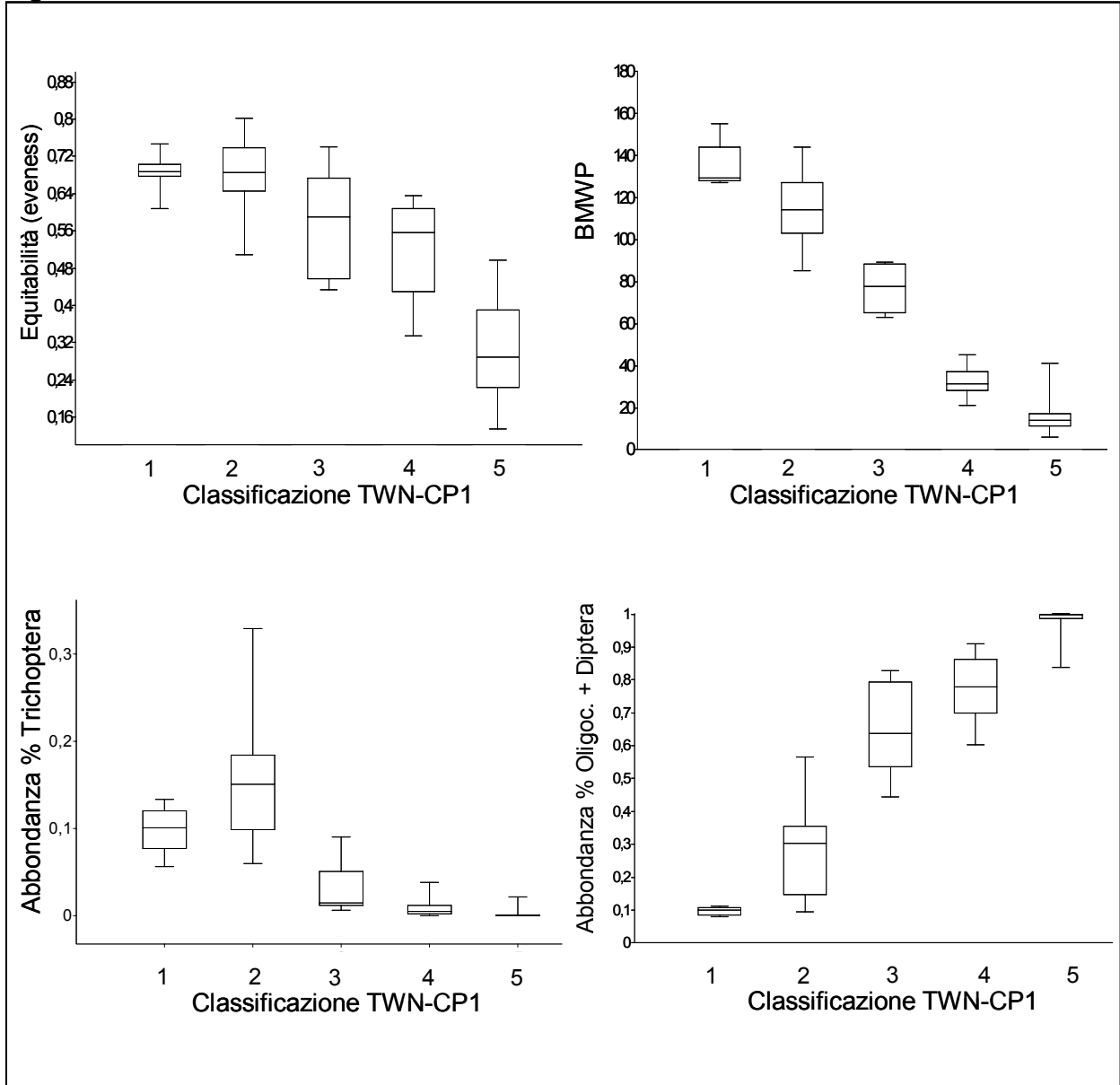
continua

segue



continua

segue



APPENDICE 3. MODALITA' DI CALCOLO DELLE METRICHE SELEZIONATE

Calculation methods of selected metrics

1) Numero totale di taxa a livello IBE

Il numero totale di taxa a livello IBE si calcola contando il numero di unità sistematiche ritrovate in un sito, riconoscendo gli organismi ad un livello tassonomico diverso in base al gruppo zoologico, come indicato nella seguente tabella (modificata da Ghetti et al., 1997).

Gruppi Zoologici	Livelli di determinazione tassonomica per definire le "Unità Sistematiche"
PLECOPTERA	Genere
TRICHOPTERA	Famiglia
EPHEMEROPTERA	Genere
COLEOPTERA	Famiglia
ODONATA	Genere
DIPTERA	Famiglia
HETEROPTERA	Famiglia
NEUROPTERA	Famiglia
CRUSTACEA	Famiglia
MOLLUSCA	Genere
TRICLADA	Genere
HIRUDINEA	Genere
OLIGOCHAETA	Famiglia
NEMATOMORPHA	Phylum
NEMERTEA	Phylum

2) Indice di Margalef (a livello di famiglia)

L'indice di Margalef è un indice di ricchezza calcolato secondo la seguente formula:

$$I_M = (S-1)/\ln N$$

dove S è il numero di taxa (in questo caso famiglie) ed N il numero di organismi ritrovati nel campione

3) Equitabilità-eveness (a livello di famiglia)

L'equitabilità è una misura dell'uniformità di distribuzione degli organismi tra i diversi taxa. Si calcola con la formula.

$$E = H'/H_{\max}$$

Dove H' è l'indice di diversità di Shannon-Weaver applicato e livello di famiglia ($H' = -\sum p_i * \ln p_i$) e $H_{\max} = \ln S$.

Nell'indice di Shannon, p_i è la proporzione di organismi del taxon i sul totale, mentre S è il numero di taxa ritrovati.

4) I-GOLD

Questa metrica equivale al complemento a 1 della somma delle abbondanze relative di organismi appartenenti ai gruppi sistematici Gastropoda, Oligochaeta e Diptera.

5) Abbondanza relativa dei Plecoptera

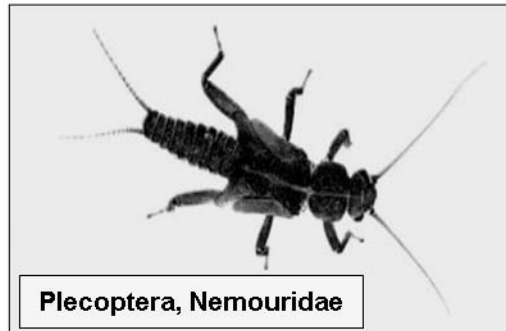
Questa metrica corrisponde all'abbondanza relativa dei Plecotteri sul totale degli organismi che compongono il campione.

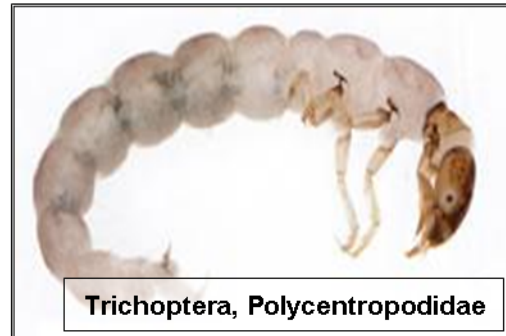
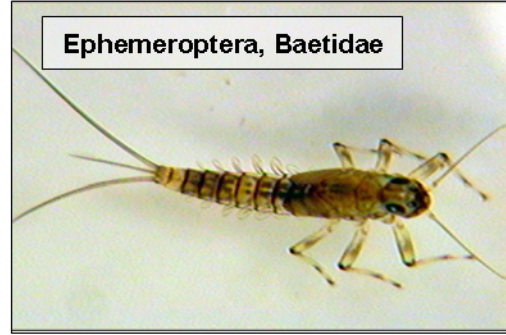
6) Indice BMWP'

Si tratta di un indice basato sul principio che diversi taxa di organismi presentano diverse tolleranze all'inquinamento. L'indice equivale alla somma dei punteggi attribuiti a ciascun taxon rilevato nel campione. Più alto il punteggio totale, migliore la qualità dell'ambiente. I punteggi sono riportati nella seguente tabella:

Taxa	Punteggio
Siphonuridae, Heptageniidae, Leptophlebiidae, Ephemerellidae, Potamanthidae, Ephemeridae, Taeniopterygidae, Leuctridae, Capniidae, Perlodidae, Perlidae, Chloroperlidae, Beraeidae, Odontoceridae, Leptoceridae, Goeridae, Lepidostomatidae, Brachycentridae, Sericostomatidae	10
Astacidae, Lestidae, Gomphidae, Cordulegasteridae, Aeshnidae, Corduliidae, Libelluliidae	8
Caenidae, Nemouridae, Rhyacophilidae, Polycentropidae, Limnephilidae	7
Neritidae, Viviparidae, Ancylidae, Hydroptilidae, Unionidae, Gammaridae, Platycnemididae, Coenagriidae	6
Mesoveliidae, Hydrometridae, Gerridae, Nepidae, Naucoridae, Notonectidae, Pleidae, Corixidae, Haliplidae, Hygrobiidae, Dytiscidae, Gyrinidae, Hydrophilidae, Helodidae, Dryopidae, Elmidae, Hydropsychidae, Tipulidae, Simuliidae, Planariidae, Dendrocoelida	5
Baetidae, Sialidae, Piscicolidae	4
Valvatidae, Hydrobiidae, Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae, Sphaeriidae, Glossiphoniidae, Hirudidae, Erpobdellidae, Asellidae	3
Chironomidae	2
Oligochaeta	1

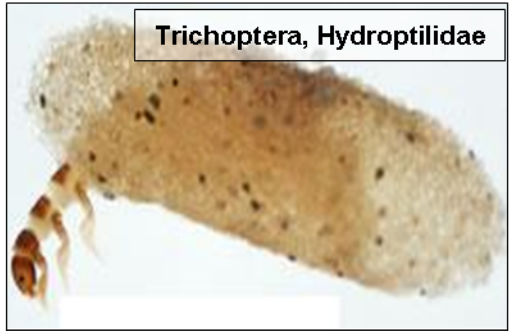
**APPENDICE 4. IMMAGINI DELLE PRINCIPALI FAMIGLIE DI
MACROINVERTEBRATI BENTONICI RACCOLTI
PHOTOGALLERY OF PRINCIPAL COLLECTED MACROINVERTEBRATE FAMILIES**







Trichoptera, Lepidostomatidae



Trichoptera, Hydroptilidae



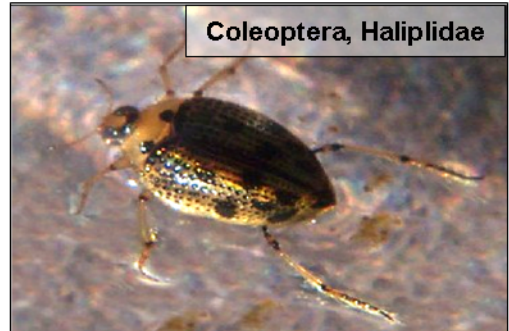
Trichoptera, Glossosomatidae



Coleoptera, Gyrinidae



Coleoptera, Dytiscidae



Coleoptera, Haliplidae



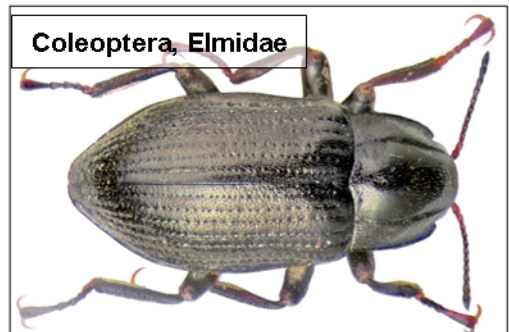
Coleoptera, Hydrophilidae



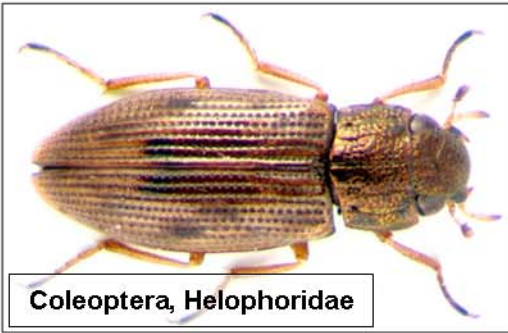
Coleoptera, Dryopidae



Coleoptera, Hydraenidae



Coleoptera, Elmidae



Coleoptera, Helophoridae



Coleoptera, Helodidae



Megaloptera, Sialidae



Odonata, Coenagrionidae



Odonata, Calopterygidae



Odonata, Cordulegastridae



Odonata, Aeshnidae



Odonata, Gomphidae



Odonata, Libellulidae



Diptera, Simuliidae



Diptera, Chironomidae



Diptera, Ceratopogonidae



Diptera, Stratiomyidae



Diptera, Tipulidae



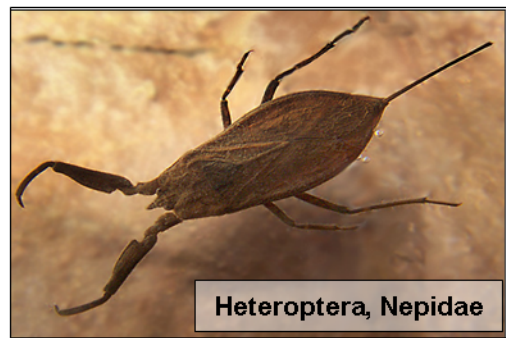
Diptera, Limoniidae



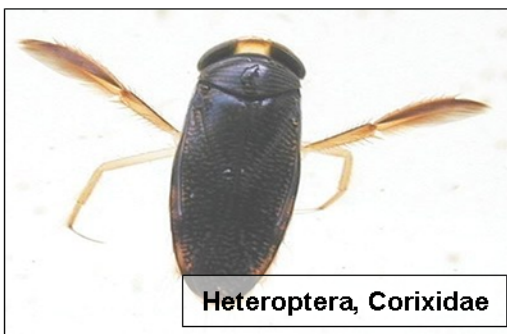
Diptera, Tabanidae



Diptera, Athericidae



Heteroptera, Nepidae



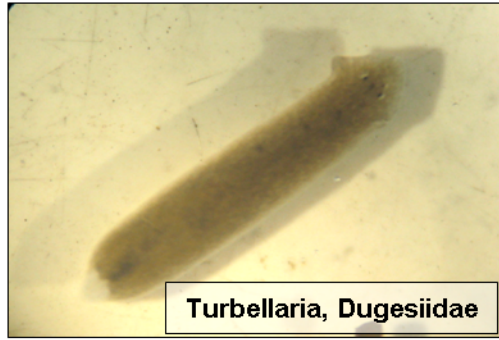
Heteroptera, Corixidae



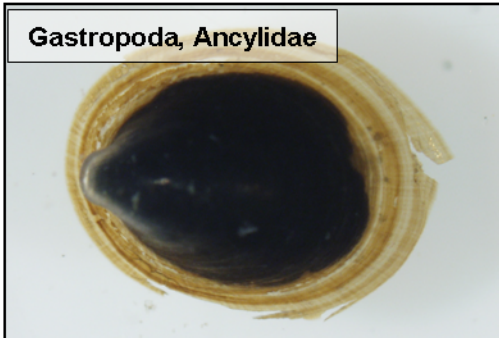
Isopoda, Asellidae



Amphipoda, Gammaridae



Turbellaria, Dugesiidae



Gastropoda, Ancyliidae



Gastropoda, Lymnaeidae



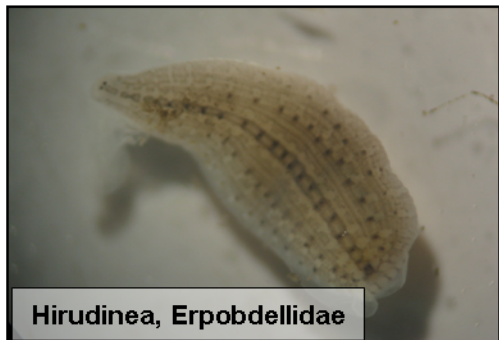
Gastropoda, Physidae



Gastropoda, Bithyniidae



Bivalvia, Pisidiidae



Hirudinea, Erpobdellidae



Oligochaeta, Tubificidae



Oligochaeta, Lumbricidae

RINGRAZIAMENTI

a chi ha reso possibile la realizzazione di questo lavoro:

- Dott.ssa **Laura Mancini** (Istituto Superiore di Sanità)
- Prof. **Roberto Argano** (“Sapienza” Università di Roma)
- Prof. **Leo Rivosecchi**

e anche a chi mi ha aiutato nel realizzarlo, migliorarlo e presentarlo:

- Dr.ssa Valentina Della Bella (Istituto Superiore di Sanità)
- Dr. Giorgio Pace (“Università della Tuscia” di Viterbo)
- Prof. Marcello Bazzanti (“Sapienza” Università di Roma)
- Prof. Carlo Belfiore (“Università della Tuscia” di Viterbo)
- Dr.ssa Francesca Candilio e Dr.ssa Laura Pavesi (“Sapienza” Università di Roma)
- Dr.ssa Stefania Marcheggiani, Dott.ssa Camilla Puccinelli, Dott. Andrea Zedde, Dott.ssa Roberta Tenchini e gli altri colleghi del Reparto “Qualità Ambientale e Ittiocoltura” dell’Istituto Superiore di Sanità.