

PIANO DI MONITORAGGIO DELLA LAGUNA DI VENEZIA AI SENSI DELLA DIRETTIVA 2000/60/CE

FINALIZZATO ALLA DEFINIZIONE DELLO STATO ECOLOGICO

DECRETO LEGISLATIVO N. 152/2006 s.m.i.

**II Ciclo di Monitoraggio
Periodo 2013-2015**

Luglio 2013

ISPRA

Responsabile Scientifico

Dott. Massimo Gabellini

Ricercatore Incaricato

Dott.ssa Rossella Boscolo Brusà

Referenti Tecnici

Dott.ssa Federica Cacciatore

Ing. Andrea Bonometto

Dott.ssa Daniela Berto

Dott. Emanuele Ponis

ARPAV

Area Tecnico Scientifica

Dott. Paolo Rocca

Servizio Osservatorio Acque Marine e Lagunari

Dott. Paolo Parati

Referenti Tecnici

Ing. Marta Novello

Dott. Daniele Bon

Dott.ssa Alessandra Girolimetto

Dott.ssa Manuela Benzoni

In collaborazione con:

Dipartimento Regionale Laboratori

Servizio Laboratori di Venezia e sede
operativa di Treviso

Dipartimento provinciale di Rovigo

Servizio Stato dell'Ambiente

PREMESSA	1
RIFERIMENTI NORMATIVI	2
PROTOCOLLI E LINEE GUIDA DI RIFERIMENTO	3
DOCUMENTI DI RIFERIMENTO	3
1 PROGETTAZIONE DEL MONITORAGGIO	5
1.1 Selezione degli elementi di qualità biologica	6
1.2 Revisione della numerosità delle stazioni di monitoraggio: approccio metodologico	7
2 MONITORAGGIO OPERATIVO	10
2.1 Sforzo di campionamento	10
2.2 Campionamento Invertebrati bentonici	14
2.2.1 Tecniche di campionamento e misura in campo	14
2.2.2 Metodiche di trattamento del campione	14
2.2.3 Parametri da determinare	14
2.2.4 Metodi di analisi	14
2.3 Campionamento delle macrofite	14
2.3.1 Tecniche di campionamento e misura in campo	15
2.3.2 Metodiche di trattamento del campione in campo	16
2.3.3 Parametri da determinare	16
2.3.4 Metodi di analisi	17
2.4 Elementi di qualità fisico-chimica, chimica e idromorfologica	18
2.4.1 Definizione dello sforzo di campionamento	18
2.4.2 Parametri da determinare	22
2.4.3 Metodiche di campionamento e trattamento del campione	23
2.4.4 Metodi di analisi	23
3 MONITORAGGIO PER LA VERIFICA DELLE CONDIZIONI DI OSSIGENAZIONE	26
MONITORAGGIO ADDIZIONALE	27
3.1 Campionamento del fitoplancton	31
3.1.1 Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni	31
3.1.2 Parametri da determinare	32
3.1.3 Metodi di analisi	32
3.2 Campionamento della Fauna Ittica	32
3.2.1 Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni	32

3.2.2	Conservazione dei campioni ed etichettatura.....	33
3.2.3	Parametri da determinare.....	33
BIBLIOGRAFIA		35
ALLEGATO 1 – Approccio utilizzato per la revisione della numerosità della stazioni		- 1 -
Approccio metodologico: il Teorema del Limite Centrale.....		- 1 -
Relazione tra affidabilità della classificazione e numerosità del campione		- 2 -
Relazione tra ampiezza dell’intervallo di confidenza (L) e sistema di classificazione ecologica (D.lgs 152/2006 e s.m.i.).....		- 3 -
Analisi dell’affidabilità della classificazione ottenuta con il monitoraggio del 2011		- 5 -
Ottimizzazione del numero di stazioni per il monitoraggio del secondo triennio		- 7 -

PREMESSA

In data 31/01/2013 è stato sottoscritto l'Accordo di Collaborazione tra ISPRA e ARPAV, nell'ambito del Protocollo d'Intesa del 27/04/2012. Il presente documento, redatto dall'ISPRA e dal Servizio Osservatorio Acque Marine e Lagunari (ARPAV – Direzione Area Tecnico Scientifica), risponde a quanto richiesto all'Art. 2.2 punto c) e all'Art. 2.3 punto b) del suddetto Accordo, di elaborare una proposta progettuale per il secondo ciclo di monitoraggio finalizzato alla definizione dello stato ecologico della Laguna di Venezia.

I corpi idrici della laguna di Venezia sono stati classificati come tutti "a rischio" di non raggiungere gli obiettivi previsti dalla Direttiva 2000/60/CE, come riportato dal "Piano di Gestione Subunità idrografica bacino scolante, laguna di Venezia e mare antistante" (Febbraio 2010), e pertanto è stato applicato il monitoraggio operativo.

Il primo triennio di monitoraggio ecologico 2010-2012, svoltosi secondo il "Piano di Monitoraggio della Laguna di Venezia ai sensi della Direttiva 2000/60/CE finalizzato alla definizione dello stato ecologico" redatto da ISPRA-ARPAV a Novembre 2010 (di seguito Piano di Monitoraggio, 2010), si è concluso ed i risultati sono stati rielaborati nel documento "Monitoraggio della laguna di Venezia ai sensi della Direttiva 2000/60/CE finalizzato alla definizione dello stato ecologico (D.Lgs. 152/2006 e s.m.i.) - Valutazione dei dati acquisiti nel monitoraggio ecologico 2011-2012 ai fini della classificazione ecologica dei corpi idrici lagunari (elementi di qualità fisico-chimica e chimici, ad esclusione delle sostanze non prioritarie della colonna d'acqua a supporto dello stato ecologico, elementi di qualità biologica)" di giugno 2013.

L'obiettivo del monitoraggio, coerentemente con quanto previsto dalla Direttiva 2000/60/CE e dal D.Lgs. 152/06 e s.m.i., è quello di stabilire un quadro generale coerente ed esauriente dello stato ecologico delle acque all'interno della Laguna di Venezia, di classificare tutti i corpi idrici superficiali "individuati" e fornire una descrizione accurata dello stato delle acque superficiali come base per la gestione dell'ambiente acquatico. Si sottolinea pertanto che le attività di monitoraggio previste, pur mantenendo un rigore prettamente scientifico, hanno uno scopo operativo/gestionale come parte integrante del Piano di Gestione.

Secondo la Direttiva 2000/60/CE, recepita dal D.Lgs. 152/2006 e s.m.i., lo stato ecologico dei corpi idrici viene definito sulla base del monitoraggio dei cosiddetti elementi di qualità biologica (EQB), che per le acque di transizione sono: macroalghe, fanerogame, macroinvertebrati bentonici, fitoplancton e pesci. Concorrono alla classificazione dello stato ecologico anche i parametri fisico-chimici, chimici e idromorfologici, a supporto degli elementi di qualità biologica (EQB), utilizzati anche per una migliore interpretazione dei dati derivanti dal monitoraggio degli EQB.

La classificazione dello stato chimico degli ambienti di transizione viene effettuata sulla base del monitoraggio delle sostanze prioritarie e pericolose-prioritarie, nella matrice acqua e nella matrice sedimento come definito dal D.M. 260/2010. Per il monitoraggio per la classificazione dello stato chimico della laguna di Venezia si rimanda al documento, del Magistrato alle Acque di Venezia "Piano di monitoraggio chimico dei corpi idrici della laguna di Venezia (2013-2015)" di Marzo 2013, in fase di perfezionamento.

RIFERIMENTI NORMATIVI

- Direttiva n. 76/464/CEE del Consiglio, 4 maggio 1976, concernente l'inquinamento provocato da certe sostanze pericolose scaricate nell'ambiente idrico della Comunità;
- Decisione n. 2455/2001/CE del Parlamento e del Consiglio del 20 novembre 2001, relativa all'istituzione di un elenco di sostanze prioritarie in materia di acque e che modifica la direttiva 2000/60/CE;
- Direttiva n. 2000/60/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio, 23 ottobre 2000. Quadro per l'azione comunitaria in materia di acque;
- Direttiva 2008/105/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 dicembre 2008 , relativa a standard di qualità ambientale nel settore della politica delle acque, recante modifica e successiva abrogazione delle direttive del Consiglio 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE, nonché modifica della direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio;
- Decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio 18 settembre 2002. Modalità di informazione sullo stato di qualità delle acque, ai sensi dell'art.3, comma 7, del decreto legislativo 11 maggio 1999, n. 152. (Sup. Ord. n. 198 G.U. n. 245 del 18.10.2002; in via di modifica);
- Decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio 19 agosto 2003. Modalità di trasmissione delle informazioni sullo stato di qualità dei corpi idrici e sulla classificazione delle acque. (Sup.Ord. n. 152 G.U. n. 218 del 19.09.2003; in via di modifica);
- Decreto Legislativo 03 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. (Sup. Ord. n. 96/L G.U. n. 88 del 14.04.2006);
- 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, recante "Norme in materia ambientale", predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 4, dello stesso decreto. (Supplemento Ordinario n. 189 alla Gazzetta Ufficiale n. 187 del 11 agosto 2008)
- Decreto Ministeriale 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. (Supplemento Ordinario n. 83 alla Gazzetta Ufficiale 30 maggio 2009 n. 124)
- Decreto Ministeriale 8 novembre 2010, n. 260. Regolamento del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e della Mare recante i "Criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali, 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 medesimo decreto legislativo.
- Decreto legislativo 10 dicembre 2010, n. 219. Attuazione della Direttiva 2008/105/CE relativa a standard di qualità ambientale nel settore della politica delle

acque, recante modifica e successiva abrogazione delle direttive 82/176/CE, 85/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE, nonché modifica della Direttiva 2000/60/CE e recepimento della direttiva 2000/90/CE che stabilisce, conformemente alla Direttiva 2000/60/CE, specifiche tecniche per l'analisi chimica e il monitoraggio dello stato delle acque.

PROTOCOLLI E LINEE GUIDA DI RIFERIMENTO

- European Commission, 2003. Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance document number 7. Monitoring under the Water Framework Directive. Office for Official Publications of the European Communities; Luxembourg, ISBN 92-894-5127-0
- "Protocolli per il campionamento e la determinazione degli elementi di qualità biologica e fisico-chimica nell'ambito dei programmi di monitoraggio ex 2000/60/CE delle acque di transizione". El-Pr-TW-Protocolli Monitoraggio-03.06. contenuto nella sezione "Metodiche di Riferimento per la classificazione dello stato ecologico" (Decreto Classificazione 260/2010) del Sistema Informativo Nazionale per la Tutela delle Acque Italiane. LUGLIO 2011.

DOCUMENTI DI RIFERIMENTO

- Deliberazione della Giunta della Regione Veneto n. 4047 del 29/12/2009 avente come oggetto "Posizione della Regione Veneto in merito alla proposta di Piano di Gestione del Distretto Idrografico delle Alpi Orientali – Subunità idrografica bacino scolante, laguna di Venezia e mare antistante."
- Comunicazione della Regione del Veneto, giunta regionale, del 04/10/2010 (Prot. n° 518759/57.08) avente come oggetto "Monitoraggio dei corpi idrici lagunari in attuazione del Piano di Gestione della sub unità idrografica della Laguna di Venezia, del Bacino in essa scolante e del mare antistante (Direttiva 2000/60/CE)."
- Parere ISPRA trasmesso dal Ministero dell'Ambiente e Tutela del Territorio e del Mare il 20/01/2010 (Prot. n° 1081/QDV/DI/II) e redatto su richiesta dello stesso Ministero in relazione alla classificazione dei corpi idrici della laguna di Venezia ai fini del completamento del piano di gestione di cui all'art.13 della Direttiva 2000/60/CE per il sistema Venezia
- "Piano di Gestione della sub unità idrografica Bacino Scolante, Laguna di Venezia e mare antistante" facente parte del "Piano di Gestione del Distretto Idrografico Alpi Orientali" adottato in data 24 febbraio 2010 da parte dei Comitati Istituzionali delle Autorità di Bacino dei fiumi dell'Alto Adriatico e dell'Adige in seduta congiunta
- Parere ISPRA del 21/05/2010 su richiesta del Ministero dell'Ambiente e Tutela del Territorio e del Mare avente come oggetto "Progetto preliminare del monitoraggio dei corpi idrici lagunari a supporto della loro classificazione e gestione (Direttiva 2000/60/CE e D.M. 56/09) predisposto dal Magistrato alle Acque"
- "MONITORAGGIO DEI CORPI IDRICI LAGUNARI a supporto della loro classificazione e gestione (Direttiva 2000/60/CE e D.M. 56/09) – MODUS – Attività del primo triennio - Progetto preliminare e Stima economica" del Magistrato alle Acque di Venezia (Luglio 2010)

- "MONITORAGGIO DEI CORPI IDRICI LAGUNARI a supporto della loro classificazione e gestione (Direttiva 2000/60/CE e D.M. 56/09) – MODUS – 1° Stralcio (2010-2011) – PROGETTO ESECUTIVO – Disciplinare Tecnico" del Magistrato alle Acque di Venezia (Luglio 2010)
- "Piano di monitoraggio chimico dei corpi idrici della laguna di Venezia (2013-2015)" del Magistrato alle Acque di Venezia (Marzo 2013)
- "MONITORAGGIO DELLA LAGUNA DI VENEZIA AI SENSI DELLA DIRETTIVA 2000/60/CE FINALIZZATO ALLA DEFINIZIONE DELLO STATO ECOLOGICO DECRETO LEGISLATIVO N. 152/2006 e s.m.i. - Valutazione dei dati acquisiti nel monitoraggio ecologico 2011-2012 ai fini della classificazione ecologica dei corpi idrici lagunari (elementi di qualità fisico-chimica e chimici, ad esclusione delle sostanze non prioritarie della colonna d'acqua a supporto dello stato ecologico, elementi di qualità biologica)" di ARPAV e ISPRA (Giugno 2013)

1 PROGETTAZIONE DEL MONITORAGGIO

In base a quanto riportato nel Piano di Gestione, i corpi idrici della laguna di Venezia sono tutti "a rischio" di non raggiungere gli obiettivi previsti dalla Direttiva 2000/60/CE e pertanto si applica il monitoraggio operativo. Tale monitoraggio è da effettuare come minimo per 1 anno ogni 3 anni (fatta eccezione per il fitoplancton, i parametri fisico-chimico e chimici nell'acqua e le sostanze non appartenenti all'elenco di priorità in acqua e sedimento che vanno monitorati ogni anno) e prevede la limitazione e l'indirizzo dell'indagine agli EQB più sensibili alle specifiche pressioni a cui il corpo idrico è soggetto.

Il primo triennio del monitoraggio operativo per la classificazione dello stato ecologico della Laguna di Venezia è stato effettuato sulla base di quanto definito nel Piano di Monitoraggio, 2010, progettato seguendo puntualmente il D.Lgs. 152/2006 e s.m.i. e i Protocolli di monitoraggio ISPRA (2010, successivamente aggiornati nel 2011).

Con particolare riferimento allo sforzo di campionamento, i Protocolli ISPRA (2011) definiscono per ciascun EQB, sulla base dell'estensione degli habitat prevalenti presenti nei corpi idrici, la numerosità delle stazioni di monitoraggio necessaria a garantire *"dal punto di vista scientifico e per un'applicazione generale, un'adeguata conoscenza dello stato qualitativo del corpo idrico medesimo, ai fini di produrre una corretta ed affidabile classificazione di stato ecologico"*. Negli stessi protocolli ISPRA è previsto che *"in considerazione dei dati già disponibili e delle caratteristiche specifiche dei singoli corpi idrici da monitorare, le singole Regioni potranno valutare l'opportunità di modificare e/o semplificare lo sforzo di campionamento"* definito nei protocolli stessi.

Per la progettazione del Piano di monitoraggio ecologico del secondo triennio (2013-2015) del primo ciclo del Piano di Gestione (2010-2015), oggetto di questo documento, è stata fatta un'accurata analisi della variabilità spaziale interna ai corpi idrici sulla base dei risultati del monitoraggio condotto nel 2011, al fine di ottimizzare lo sforzo di campionamento e garantire al tempo stesso un'adeguata affidabilità della classificazione dei corpi idrici. Tali valutazioni sono state fatte esclusivamente per gli EQB selezionati per il monitoraggio operativo (cfr. Paragrafo 1.1 e Piano di Monitoraggio, 2010) e utilizzati quindi per la classificazione. In Allegato 1 è riportato in dettaglio l'approccio utilizzato per la revisione della numerosità delle stazioni di monitoraggio. Al paragrafo 1.2 se ne riporta una sintesi.

1.1 Selezione degli elementi di qualità biologica

Sulla base dell'analisi delle pressioni individuate per ciascun corpo idrico della Laguna di Venezia, nel Piano di Monitoraggio 2010 sono stati individuati gli EQB più significativi. In Tabella 1 si riportano, per ciascun corpo idrico, il risultato della suddetta selezione.

Tabella 1. Elenco delle pressioni e relativi elementi di qualità biologica sensibili da monitorare in ciascun corpo idrico della laguna di Venezia.

TIPO	CODICE Corpo idrico	PRESSIONI	ELEMENTI DI QUALITÀ BIOLOGICA SENSIBILI
polialino confinato	PC1	arricchimento di nutrienti, carico organico	macroalghe, invertebrati bentonici
	PC2	arricchimento di nutrienti, carico organico, sostanze prioritarie e inquinanti specifici, ridotto idrodinamismo	macroalghe, invertebrati bentonici
	PC3	arricchimento di nutrienti, carico organico, alterazione dei flussi	macroalghe, invertebrati bentonici
	PC4	sostanze prioritarie e inquinanti specifici arricchimento di nutrienti, carico organico	macroalghe, invertebrati bentonici
eualino confinato	EC	arricchimento di nutrienti, carico organico, erosione del substrato	macroalghe, invertebrati bentonici
eualino non confinato	ENC1	erosione del substrato, venericoltura, sostanze prioritarie e inquinanti specifici	invertebrati bentonici, fanerogame marine
	ENC2	sostanze prioritarie e inquinanti specifici, arricchimento di nutrienti e carico organico, erosione del substrato	macroalghe, fanerogame marine, invertebrati bentonici
	ENC3	arricchimento di nutrienti e carico organico, sostanze prioritarie e inquinanti specifici	macroalghe, invertebrati bentonici
	ENC4	arricchimento di nutrienti e carico organico, sostanze prioritarie e inquinanti specifici	macroalghe, invertebrati bentonici
polialino non confinato	PNC1	sostanze prioritarie e inquinanti specifici, erosione del substrato, arricchimento in nutrienti	macroalghe, invertebrati bentonici
	PNC2	sostanze prioritarie e inquinanti specifici, arricchimento nutrienti	macroalghe, invertebrati bentonici
Corpi idrici fortemente modificati	VLN	Ridotto idrodinamismo, eutrofizzazione, arricchimento di nutrienti e carico organico	macroalghe, invertebrati bentonici
	VLCS	Ridotto idrodinamismo, eutrofizzazione arricchimento di nutrienti e carico organico	macroalghe, invertebrati bentonici

1.2 Revisione della numerosità delle stazioni di monitoraggio: approccio metodologico

L'obiettivo della revisione della numerosità delle stazioni di monitoraggio è stato quello di ottimizzare lo sforzo di campionamento in relazione alla correttezza/affidabilità della classificazione. Per ogni EQB, la classificazione a scala di corpo idrico viene ottenuta dalla media aritmetica dei Rapporti di Qualità Ecologica (RQE) delle stazioni ad esso appartenenti. Di conseguenza, stimare l'affidabilità della classificazione significa stimare l'affidabilità della media degli RQE calcolata per ciascun corpo idrico e la sua variabilità in funzione della numerosità delle stazioni di monitoraggio. Le stazioni di monitoraggio rappresentano quindi il "campione" utilizzato per stimare l'RQE medio di ciascun corpo idrico ("media campionaria").

Si sottolinea che le elaborazioni statistiche di seguito descritte vanno considerate come un'analisi esplorativa dei dati a supporto di valutazioni sito-specifiche. I risultati non hanno quindi carattere generale e la loro interpretazione non può prescindere dall'approfondita conoscenza dello specifico contesto ambientale.

L'approccio metodologico utilizzato per stimare l'affidabilità della classificazione si basa sul *teorema del limite centrale* (TLC), secondo cui "la distribuzione della media campionaria può essere approssimata dalla distribuzione normale $N(\mu; \sigma)$, con $\mu = \mu_x$ e $\sigma = \sigma_x/n^{1/2}$, indipendentemente dalla forma della distribuzione dei singoli valori della popolazione". L'approssimazione della media campionaria alla distribuzione normale (TLC) permette di valutare l'affidabilità della classificazione in termini di *livello di fiducia* ($1-\alpha$) e *intervallo di confidenza* (L), sulla base della numerosità del campione (n stazioni nel C.I.) e della sua variabilità spaziale (deviazione standard degli RQE delle stazioni di ogni C.I.). L'affidabilità della classificazione può quindi essere espressa come la probabilità che la media "reale", stimata tramite la media campionaria, ricada in un determinato intervallo. A parità di livello di fiducia, più piccolo è l'intervallo $[-L; +L]$ maggiore è l'affidabilità della stima, e viceversa. Nota la deviazione standard degli RQE all'interno del corpo idrico e la numerosità delle stazioni campionate, l'ampiezza dell'intervallo di confidenza può essere determinato tramite la seguente relazione:

$$L = z_{\alpha/2} \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

con σ , dev.st. degli RQE all'interno del corpo idrico; n , numero di stazioni di campionamento nel C.I..

L'affidabilità della classificazione aumenta quindi con il numero di stazioni di monitoraggio e diminuisce con la variabilità interna del C.I..

Dalla (1), si può quindi stimare il numero di stazioni di monitoraggio necessarie per ottenere un determinata affidabilità della classificazione (α , L) come segue:

$$n = z_{\alpha/2}^2 \frac{\sigma^2}{L^2} \quad (2)$$

Nelle elaborazioni eseguite è stato assunto un livello di fiducia pari a 0.95, valore comunemente utilizzato per analisi statistiche in ecologia.

In Allegato 1 è discussa in dettaglio la relazione tra l'ampiezza dell'intervallo di confidenza (L) e le soglie che delimitano le 5 classi di qualità (da pessimo ad elevato) per gli EQB macrofite e macroinvertebrati bentonici nel sistema di classificazione nazionale. Queste valutazioni sono state utilizzate come riferimento per ottimizzare la numerosità delle stazioni di monitoraggio in modo da garantire un'adeguata affidabilità della classificazione in funzione di uno sforzo di campionamento possibile. A tal proposito si evidenzia come il numero di stazioni di monitoraggio necessarie cresce con il quadrato dell'intervallo di confidenza scelto.

L'ottimizzazione del numero di stazioni, finalizzata a garantire un buon compromesso tra sforzo di campionamento e affidabilità della classificazione, è stata fatta principalmente sulla base dei seguenti criteri:

1. rendere più omogenea l'affidabilità della classificazione tra i diversi corpi idrici (allegato 1);
2. garantire per tutti i corpi idrici un'affidabilità minima sufficiente. Sulla base delle valutazioni riportate in allegato 1, è stato scelto un intervallo di confidenza (L), con livello di fiducia al 95%, al massimo di 0.2 per il MaQI e di 0.11 per il M-AMBI, a cui corrispondono un errore "massimo" di una sola classe in entrambe le direzioni ($L_{\text{max-accettabile}}$) per entrambi gli indici;
3. garantire un'elevata affidabilità nella classificazione rispetto alla soglia critica sufficiente/buono, sulla base quindi della probabilità che il C.I. abbia un RQE medio maggiore o minore di 0.6 e 0.71 rispettivamente per l'indice MaQI e l'indice M-AMBI;
4. ulteriori valutazioni, a supporto dell'analisi statistica, per tenere conto delle dimensioni del corpo idrico e delle sue caratteristiche idromorfologiche.

In Tabella 2 viene riportato, per ciascun corpo idrico, il numero di stazioni di monitoraggio di macrofite e macroinvertebrati bentonici previsto per il secondo triennio di monitoraggio operativo. Nella tabella viene inoltre presentata una stima sintetica dell'affidabilità della classificazione del primo triennio e la probabilità che la media ottenuta da un diverso numero di stazioni (pari a quello previsto per il II triennio di monitoraggio) possa risultare maggiore/minore della soglia critica buono/sufficiente.

Una volta calcolato il numero di stazioni ritenuto opportuno, sulla base dell'approccio metodologico e delle considerazioni sopra descritte, la scelta di quali stazioni eliminare o aggiungere, per ciascun EQB nel prossimo ciclo di monitoraggio, è stata eseguita in stretta collaborazione con i ricercatori del CORILA.

Tabella 2. Numero di stazioni di monitoraggio campionate nel I triennio e previste per il II triennio di monitoraggio operativo, con stima dell'affidabilità della classificazione del primo triennio e la probabilità di ottenere lo stesso risultato nel secondo monitoraggio rispetto alla soglia critica buono/sufficiente.

C.I.	Macrofite (MaQI)						Macroinvertebrati bentonici (M-AMBI)					
	N stazioni		I triennio stima affidabilità classificazione		probabilità classificazione con N stazioni II triennio		N stazioni		I triennio stima affidabilità classificazione		probabilità classificazione con N stazioni II triennio	
	I triennio	II triennio	<B (%)	>B (%)	<B (%)	>B (%)	I triennio	II triennio	<B (%)	>B (%)	<B (%)	>B (%)
EC	13	13	99	1	99	1	9	7	100	0	100	0
ENC1	26	22	2	98	3	97	24	16	13	87	18	82
ENC2	7	8	84	16	86	14	4	4	86	14	86	14
ENC3	3	3	87	13	87	13	3	3	89	11	89	11
ENC4	10	10	83	17	83	17	6	6	91	9	91	9
PC1	9	5	100	0	100	0	5	6	81	19	83	17
PC2	12	4	100	0	100	0	8	10	32	68	30	70
PC3	6	3	100	0	100	0	5	5	66	34	66	34
PC4	7	3	100	0	100	0	4	4	63	37	63	37
PNC1	11	5	100	0	100	0	7	5	99	1	99	1
PNC2	10	9	100	0	100	0	8	9	74	26	75	25

2 MONITORAGGIO OPERATIVO

2.1 Sforzo di campionamento

In Tabella 3 è riportato lo sforzo di campionamento previsto per ciascun EQB nei diversi Corpi Idrici, risultato dall'applicazione dell'approccio descritto al paragrafo §1.2, e quanto previsto per i corpi idrici fortemente modificati "Valli laguna Nord" e "Valli laguna Sud". In Figura 1 e Figura 2 si riporta invece la localizzazione spaziale delle stazioni di campionamento rispettivamente per gli EQB "invertebrati bentonici" e "macrofite" (macroalghe + fanerogame). Anche per il secondo triennio di monitoraggio operativo¹, pur nella necessità di soddisfare le esigenze specifiche stabilite dai protocolli per ciascun EQB, si è cercato il più possibile di mantenere la sovrapposizione delle griglie di campionamento, sia per ottenere una valutazione integrata dello stato dell'ecosistema, sia per minimizzare lo sforzo operativo (Figura 3).

Tabella 3. Sforzo di campionamento per gli EQB Invertebrati bentonici e Macrofite

TIPO	Codice CORPO IDRICO	Invertebrati bentonici N° stazioni	Macrofite N° stazioni
<i>Poliano Confinato</i>	PC1	6	5
	PC2	10	4
	PC3	5	3
	PC4	4	3
<i>Eualino Confinato</i>	EC	7	13
<i>Eualino Non Confinato</i>	ENC1	16	22
	ENC2	4	8
	ENC3	3	3
	ENC4	6	10
<i>Polialino Non Confinato</i>	PNC1	5	5
	PNC2	9	9
<i>Fortemente Modificati</i>	VLN	1	2
	VLS	1	1
Totale numero stazioni		77	88
Frequenza annuale di campionamento		1	2
N° stazioni x frequenza annuale di campionamento		77	176

¹ il monitoraggio operativo è previsto una volta ogni 3 anni (cfr. tab 3.7 D.M. 260/2010)

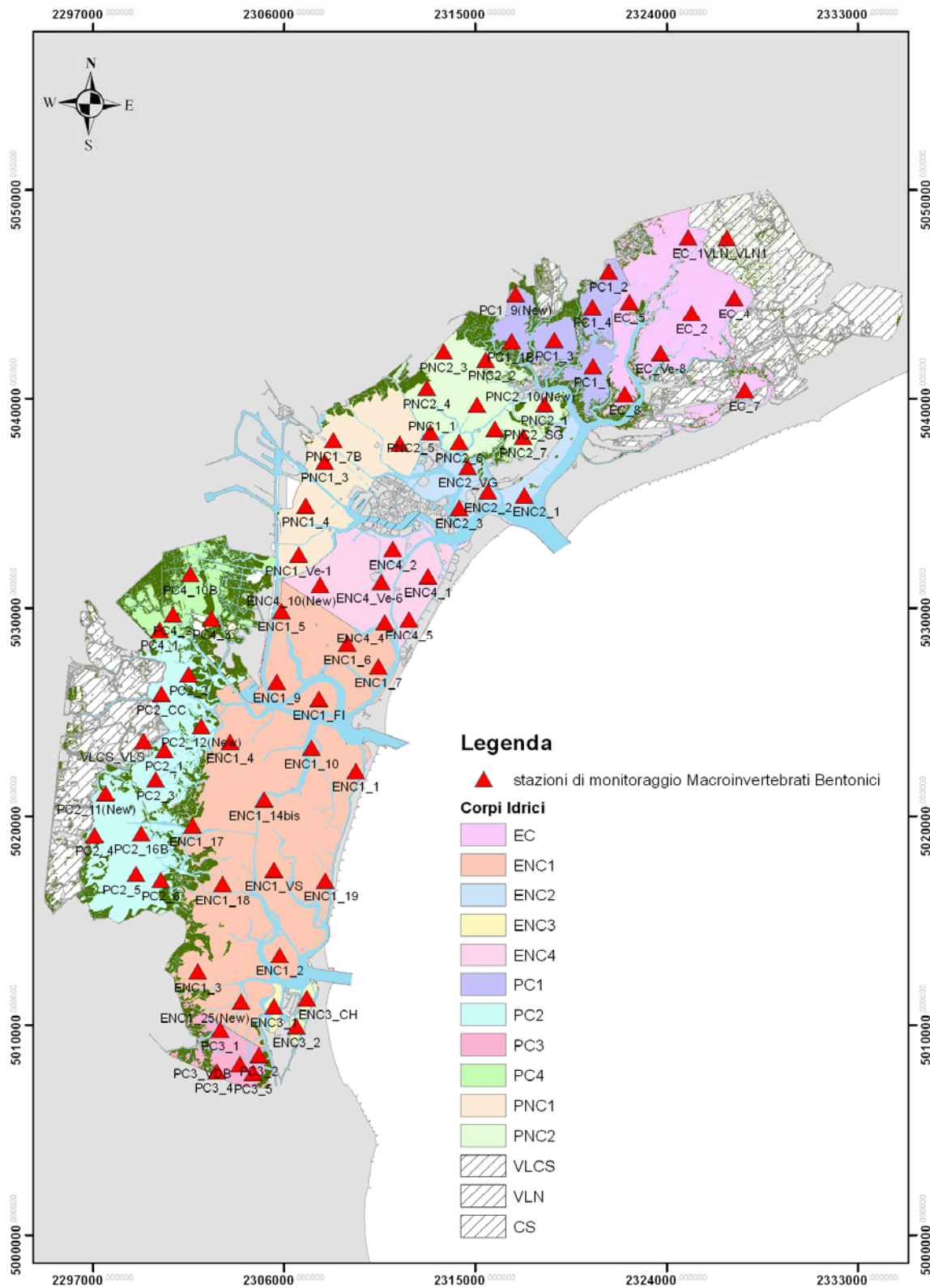


Figura 1. Localizzazione spaziale delle 77 stazioni di campionamento dell'EQB "invertebrati bentonici".

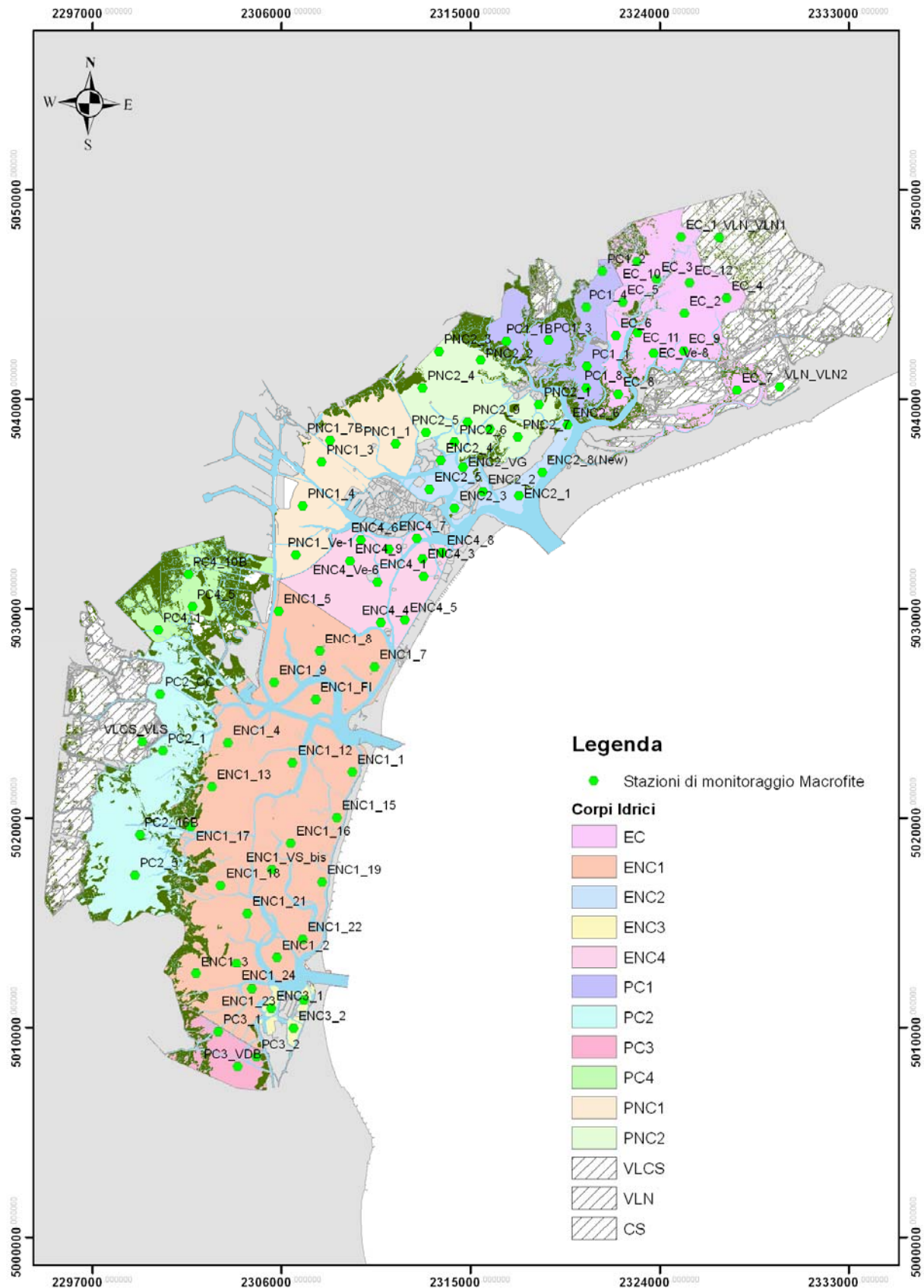


Figura 2. Localizzazione spaziale delle 88 stazioni di campionamento dell'EQB "macrofite".

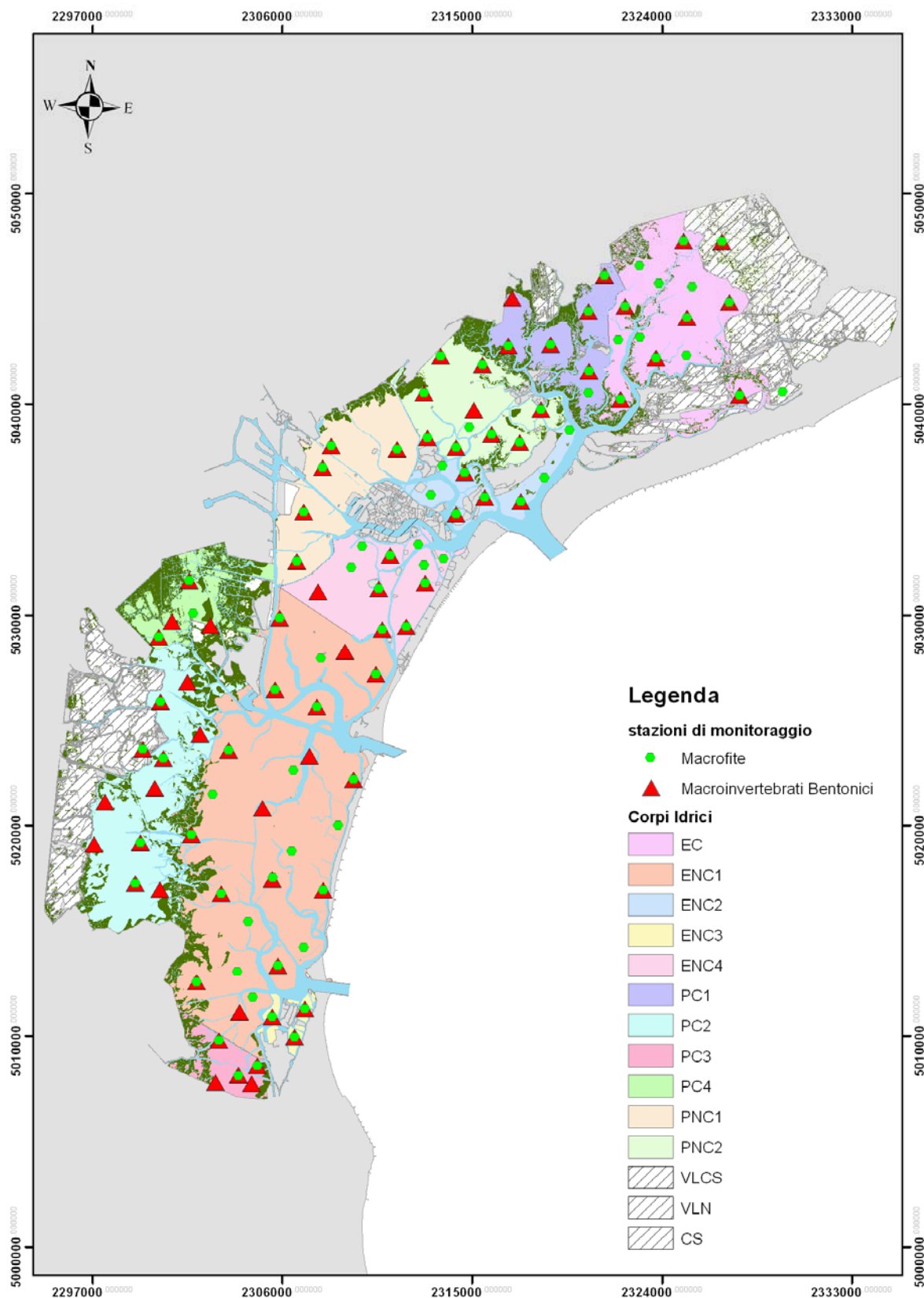


Figura 3. Localizzazione complessiva delle stazioni di monitoraggio degli EQB per il monitoraggio operativo.

2.2 Campionamento Invertebrati bentonici

Come effettuato per il primo ciclo di monitoraggio il campionamento sarà annuale e verrà effettuato nel periodo primaverile (maggio). Per il campionamento degli invertebrati bentonici sono previste 3 repliche per stazione.

2.2.1 Tecniche di campionamento e misura in campo

La raccolta del sedimento avverrà, in coerenza con quanto eseguito per il ciclo precedente, tramite benna tipo Ekman Birge e dovrà essere campionata una superficie minima di 200 cm² per replica.

2.2.2 Metodiche di trattamento del campione

Al fine di garantire la comparabilità dei dati con il triennio precedente e con le diverse unità operative, e quindi fornire una classificazione coerente a livello nazionale applicando gli indici previsti dal D.M. 260/2010, il sedimento va vagliato su di un setaccio con vuoto di maglia di 1 mm. Qualora si ritenga opportuno utilizzare un setaccio con vuoto di maglia di 0,5 mm verrà prevista una doppia setacciatura in modo tale da fornire i risultati relativi alla maglia di 1mm. Il campione va fissato utilizzando una sostanza conservante non nociva per la salute umana.

2.2.3 Parametri da determinare

Parametri obbligatori

1. Riconoscimento tassonomico fino al raggiungimento del livello di specie per crostacei, molluschi, policheti ed echinodermi;
2. Abbondanza e ricchezza specifica.

Parametri opzionali

3. Biomassa.

2.2.4 Metodi di analisi

In un intervallo di tempo tra 7 e 14 giorni dalla fissazione i campioni saranno estratti dal fissativo, sciacquati e conservati in alcol etilico al 70% o in soluzione equivalente a bassa tossicità. Tutte le operazioni vanno eseguite sotto cappa. Si procederà quindi all'identificazione delle specie mediante microscopio binoculare (1-7 X)/microscopio ottico e chiavi dicotomiche disponibili in letteratura.

Per la metodologia dello studio dei macroinvertebrati bentonici saranno consultati il manuale APAT/SIBM/ICRAM (2003) e il manuale ICRAM - MATT (Cicero, Di Girolamo, 2001) e Quaderno ICRAM Y/2008 (acque marino costiere).

2.3 Campionamento delle macrofite

All'interno della voce "macrofite" sono raggruppati gli elementi di qualità biologica "macroalghe" e "angiosperme" previsti dall'allegato V della Direttiva 2000/60/CE per la definizione dello stato ecologico dei corpi idrici di transizione. A seguito dell'individuazione dell'indice MaQI (Macrophyte Quality Index) per la valutazione integrata dello stato delle

macroalghe e delle fanerogame (D.M. 260/2010) nei corpi idrici di transizione italiani, il monitoraggio dei due EQB viene svolto contestualmente.

In continuità e coerenza rispetto a quanto eseguito per il triennio precedente, per l'impossibilità pratica di operare in condizioni di quadratura di marea a causa del numero elevato delle stazioni e poiché non ci sono differenze significative nell'operare in presenza di maree particolari, se non per motivi di fondale, i campionamenti potranno essere eseguiti con qualsiasi condizione di marea. Invece è assolutamente determinante operare in condizioni di tempo buono per poter meglio valutare anche visivamente dalla barca la struttura e la qualità delle associazioni vegetali.

Per il monitoraggio operativo, il campionamento sarà svolto 2 volte l'anno nei periodi di massima crescita (maggio-giugno) e di senescenza della vegetazione (settembre-ottobre).

2.3.1 Tecniche di campionamento e misura in campo

Copertura totale percentuale

Macroalghe

Al primo livello va stimata la copertura totale percentuale nell'area della stazione (15-30m di diametro) tramite numero di saggi puntuali per valutare la presenza/assenza della biomassa e riportarla percentualmente all'area esaminata (Sfriso, 2008a; ISPRA e UNIVESA, 2010). Il saggio deve essere il più possibile puntuale; a tal fine va utilizzato un rampone o l'estremità di un rastrello, che non deve essere fatto strisciare sul fondale. È richiesto per ciascuna stazione un minimo di 10 saggi di presenza/assenza. Nelle stazioni caratterizzate da una copertura molto rada la corretta applicazione dell'indice richiede un numero minimo di 20 saggi presenza/assenza.

In caso di visibilità sufficiente del fondale, la stima fatta tramite i saggi puntuali può essere verificata applicando la *Visual Census Technique*.

Anche se per l'applicazione dell'indice MaQI è importante definire se la copertura totale percentuale delle macroalghe è maggiore o minore del 5%, ai fini dell'ulteriore interpretazione dei risultati è opportuno riportare la copertura stimata in intervalli del 5-10%.

Nel calcolo dell'indice MaQI la *Vaucheria* non va considerata nella copertura totale.

Fanerogame

La copertura specifica delle fanerogame eventualmente presenti viene determinata tramite *Visual Census Technique* da barca. Anche se per l'applicazione del MaQI è sufficiente l'assegnazione della copertura specifica a intervalli del 25%, ai fini dell'ulteriore interpretazione dei risultati è opportuno riportare la copertura stimata in intervalli del 5% circa.

Abbondanza relativa

Al secondo livello va considerata l'abbondanza relativa dei taxa macroalgali dominanti.

Per la definizione dell'abbondanza relativa in funzione dell'applicazione del MaQI è richiesta la raccolta, con un rastrello, di 3-6 campioni di macroalghe, a seconda della

variabilità spaziale del sito. Tale campionamento va condotto in modo da raccogliere il maggior numero di specie presenti.

Queste poi vengono suddivise nei taxa principali, avendo cura di separare soprattutto le specie di alto valore ecologico (ref. ISPRA e UNIVE-DSA, aprile 2010. Linea guida epr l'applicazione del Macrophyte Quality Index, Allegato 1); tra le specie con punteggio 0 o 1 è necessario separare le Chlorophyta e le Rhodophyta.

Per la stima dell'abbondanza relativa, le macroalghe così raccolte e suddivise devono essere pesate con una bilancia elettronica (precisione: $\pm 1g$) dopo sgocciolamento tramite una centrifuga da campo.

In tal modo si ottiene l'abbondanza (in percentuale):

- delle Chlorophyta (soprattutto Ulvaceae e Cladophoraceae) con score 0 e 1;
- delle Rhodophyta (soprattutto Gracilariaceae e Solieriaceae) con score 0 e 1;
- di tutti i taxa con score 0 e 1 raggruppati;
- di eventuali taxa con score 2.

L'abbondanza relativa può essere successivamente trasformata in copertura specifica percentuale in relazione alla copertura totale percentuale stimata con i saggi di presenza/assenza.

Il peso delle macroalghe è funzionale esclusivamente alla stima dell'abbondanza relativa (non alla biomassa). La biomassa è facoltativa.

In caso di profondità > di 2-3 metri verranno presi manualmente tre campioni in modo casuale.

Prelievo di campioni per il riconoscimento tassonomico in laboratorio

Dalla biomassa algale raccolta per la stima dell'abbondanza relativa vanno prelevati campioni del maggior numero di specie presenti per il successivo riconoscimento tassonomico in laboratorio. Se nel sito di monitoraggio sono presenti anche fanerogame marine, vanno prelevate alcune foglie per il riconoscimento tassonomico degli eventuali epifiti.

2.3.2 Metodiche di trattamento del campione in campo

La fissazione dei campioni prelevati va effettuata in acqua di mare aggiungendo una quantità di formalina tamponata in modo da ottenere una soluzione al 4% rispetto all'originale o soluzione alternativa non tossica (ca. 40 ml per litro). Poiché tale sostanza è nociva per la salute umana è meglio usare il minor volume d'acqua (e quindi di formalina) possibile. Basta che le alghe siano appena un po' più che umide. I campioni vanno conservati in contenitori di adeguate dimensioni e con chiusura ermetica.

In laboratorio, prima della determinazione allo stereoscopio o al microscopio, i campioni vanno accuratamente lavati con acqua di mare in modo da eliminare il più possibile la formalina.

2.3.3 Parametri da determinare

Parametri obbligatori

- Taxa macroalgali presenti, definiti a livello di specie;

- Copertura totale percentuale delle macroalghe;
- Abbondanza relativa percentuale delle macroalghe dominanti (divise almeno in Taxa di alto valore ecologico –score 2 –Rhodophyta e Chlorophyta di score 0 o 1);
- Taxa di fanerogame marine presenti, definiti al livello di specie e copertura percentuale delle singole specie.

Parametri facoltativi

- Determinazione della biomassa delle macroalghe (peso fresco e peso secco) determinata secondo i metodi convenzionali di campionamento entro superficie nota (quadrato).
- Natura del substrato su cui è insediata la prateria di fanerogame;
- Distribuzione delle piante sul fondo (omogenea/disomogenea);
- Densità espressa in numero dei fasci fogliari nella superficie di riferimento;
- Monitoraggio dei limiti della prateria (progressione/regressione);
- Fenologia su 10 fasci fogliari.

Per la determinazione della biomassa delle macroalghe sarà consultato Sfriso et al. (1991). Per la metodologia dello studio delle fanerogame saranno consultati il manuale APAT/SIBM/ICRAM (2003) e Sfriso Ghetti (1998). Ulteriori indicazioni per il campionamento e le misure di accrescimento di *Cymodocea nodosa* e *Nanozostera noltii* potranno essere desunte da Sfriso et al. (2008a).

2.3.4 Metodi di analisi

Prima della determinazione in laboratorio, ciascun campione va estratto dal fissativo e lavato con acqua di mare. Tutte le operazioni vanno eseguite sotto cappa. Si procede all'identificazione delle specie mediante stereoscopio e microscopio ottico, chiavi dicotomiche e *check list* disponibili in letteratura e/o su supporti elettronici e siti web.

2.4 Elementi di qualità fisico-chimica, chimica e idromorfologica

Ai sensi della Direttiva Quadro sulle Acque (2000/60/CE) le misure dei parametri fisico-chimici e chimici della colonna d'acqua rientrano propriamente fra gli elementi a supporto dei parametri biologici, mentre le misure sui sedimenti ricadono tra gli elementi idromorfologici a sostegno degli elementi biologici.

Il monitoraggio, dei parametri fisico-chimici relativi alle acque va eseguito negli habitat monitorati per gli elementi di qualità biologica "Macroalghe", "Angiosperme", "Fitoplancton" e "Fauna Ittica".

Il monitoraggio degli elementi idromorfologici relativi ai sedimenti va eseguito negli habitat monitorati per gli elementi di qualità biologica "Angiosperme" e "Macroinvertebrati bentonici".

2.4.1 Definizione dello sforzo di campionamento

Acqua

In ottemperanza al D.M. 260/2010, tab. 3.7, ed in continuità con quanto eseguito nel primo ciclo, la frequenza di campionamento dei parametri fisico-chimici in colonna d'acqua (Condizioni termiche, Ossigenazione, Salinità e Stato dei nutrienti) per il triennio 2013-2015 sarà trimestrale e dovrà avvenire preferibilmente nei mesi di febbraio (stagione invernale), maggio (stagione primaverile), agosto (stagione estiva) e novembre (stagione autunnale) di ogni anno e in coincidenza con i campionamenti degli EQB fitoplancton, macrofite e fauna ittica quando in corso.

Le stazioni di campionamento dei parametri fisico-chimici a supporto rimarranno le 30 (Figura 4) definite nel precedente Piano di monitoraggio 2010 che comprendono le 16 stazioni individuate dal Magistrato alle Acque di Venezia per il monitoraggio delle sostanze non prioritarie a supporto della classificazione ecologica.

Per il monitoraggio delle sostanze non appartenenti all'elenco di priorità da ricercare nell'acqua, si fa riferimento a quanto attualmente in fase di definizione da parte del Magistrato alle Acque di Venezia.

Sedimento

In ottemperanza al D.M. 260/2010, tab. 3.7, ed in continuità con quanto eseguito nel primo ciclo, i parametri idromorfologici quali "Natura e composizione del substrato" verranno effettuati in coincidenza del campionamento degli elementi biologici Macroinvertebrati bentonici e Fanerogame.

Il "protocollo di monitoraggio" specifica per i parametri idromorfologici (caratteristiche dei sedimenti) a supporto dei parametri biologici, che le stazioni di monitoraggio vengano definite dalla somma delle stazioni monitorate per gli elementi di qualità biologica "Angiosperme" e "Macroinvertebrati bentonici" (per quanto attiene la "Fauna Ittica" deve essere misurata solo la granulometria del sedimento). Inoltre viene richiesto che il campionamento dei sedimenti sia sincrono rispetto alle misure dei parametri relativi agli elementi di qualità biologica succitati per stazione.

Alla luce del posizionamento delle 77 stazioni di Invertebrati bentonici e degli areali a copertura di fanerogame presenti in laguna di Venezia, è stato scelto di far coincidere le stazioni di campionamento dei parametri idromorfologici a supporto con le suddette 77 stazioni (Figura 5). Tale monitoraggio avverrà in coincidenza del campionamento degli invertebrati bentonici previsto per il monitoraggio operativo.

Per il monitoraggio delle sostanze non appartenenti all'elenco di priorità da ricercare nel sedimento, si fa riferimento a quanto attualmente in fase di definizione da parte del Magistrato alle Acque di Venezia.

Per quanto riguarda i parametri "Profondità e morfologia del fondale", "Struttura della zona intertidale" e "Regime di marea" si rimanda a quanto definito nel documento del MAV "Monitoraggio dei corpi idrici lagunari a supporto della loro classificazione e gestione (Direttiva 2000/60/CE e D.M. 56/09) – MODUS – Attività del primo triennio - Progetto preliminare e Stima economica" (Luglio 2010).

In Tabella 4 è riportato lo sforzo di campionamento annuale previsto per l'analisi dei parametri da ricercare nell'acqua e nel sedimento. Poiché il campionamento dell'acqua è previsto con ciclo annuale, complessivamente lo sforzo di campionamento per gli elementi di qualità chimico fisica dell'acqua per l'intero triennio è di 360 (120 x 3).

Tabella 4. Sforzo di campionamento per il monitoraggio dei parametri analizzati nell'acqua e nel sedimento.

matrice	n° stazioni	frequenza di monitoraggio annuale (n° campionamenti all'anno)	sforzo di campionamento addizionale (n°stazioni x frequenza di campionamento all'anno)
acqua	30	4	120
sedimento	77	1	77
TOTALE			197

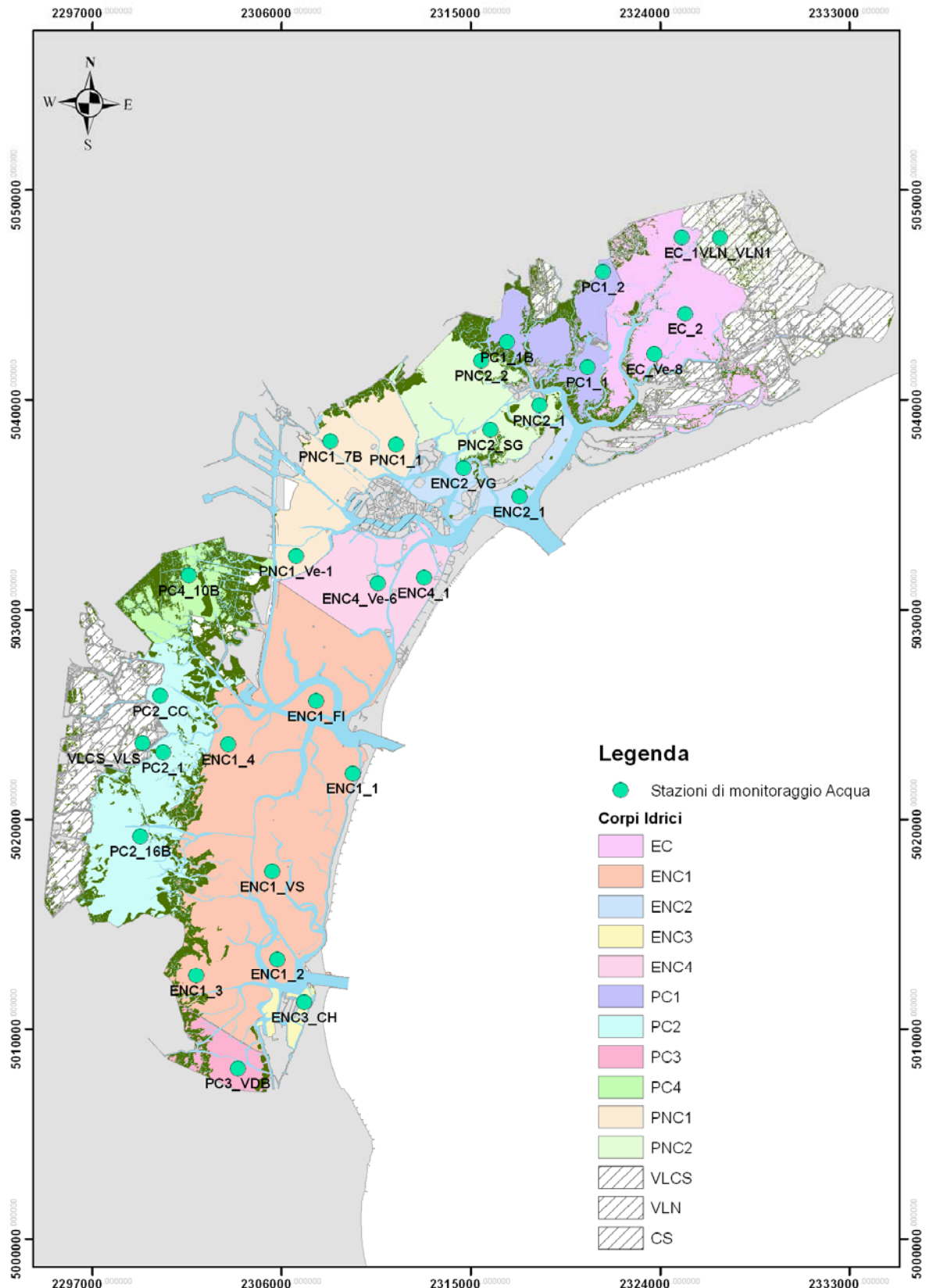


Figura 4. Localizzazione delle 30 stazioni di monitoraggio dell'acqua per l'analisi degli elementi di qualità chimico-fisica a supporto della classificazione ecologica.

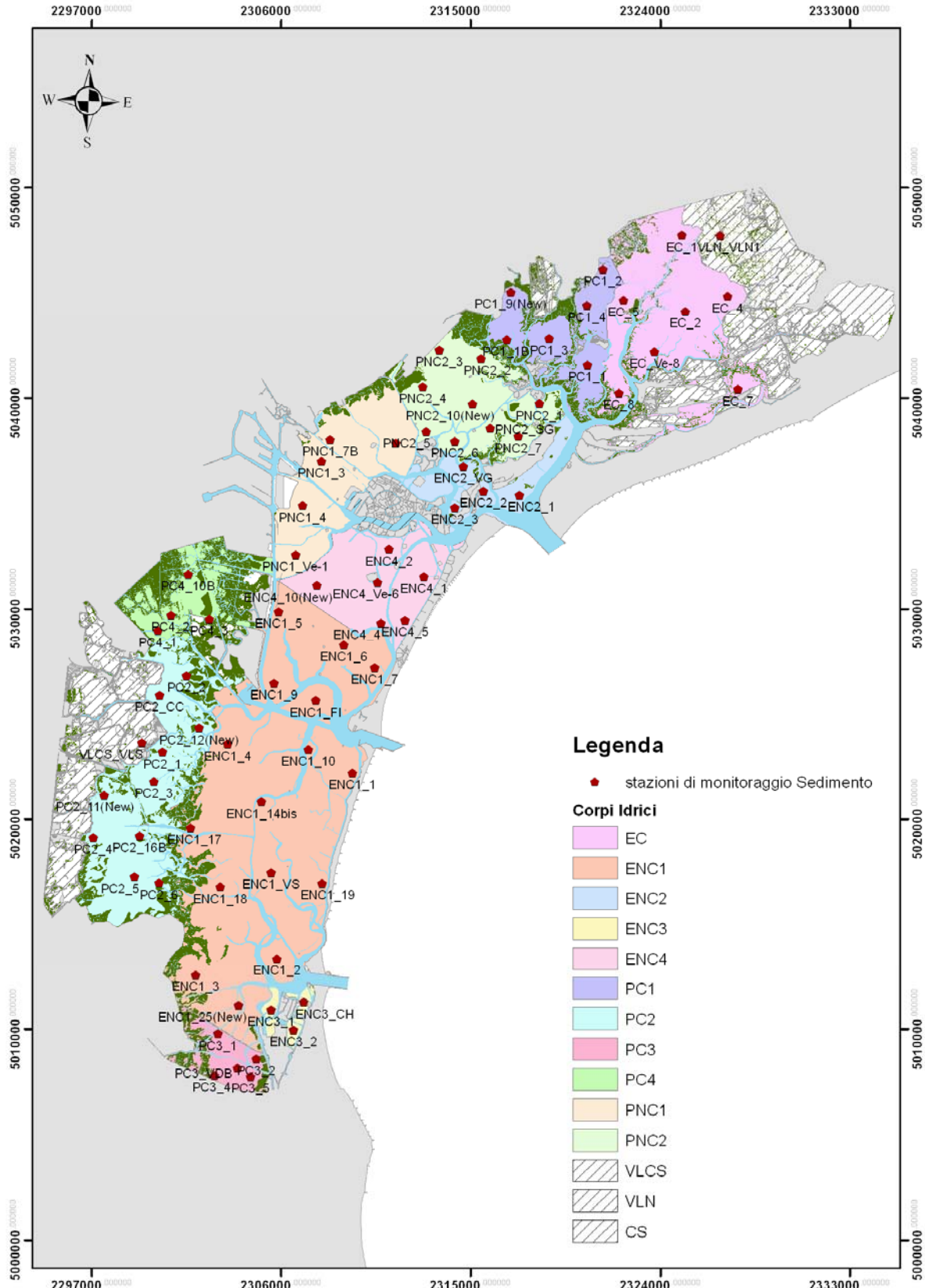


Figura 5. Localizzazione delle 77 stazioni di monitoraggio del sedimento per l'analisi dei parametri idromorfologici (natura e composizione del substrato) a supporto della classificazione ecologica.

2.4.2 Parametri da determinare

In continuità con il monitoraggio del triennio precedente (Piano di monitoraggio, 2010) verranno monitorati i seguenti parametri:

Parametri obbligatori per le acque:

- ammonio totale ($N-NH_3 + N-NH_4^+$; TAN);
- azoto ossidato ($N-NO_x$);
- fosforo inorganico disciolto (SRP);
- particellato sospeso (TSS);
- trasparenza (Tr);
- temperatura (t);
- ossigeno disciolto (DO);
- pH;
- salinità (S);
- profondità (D).

Parametri facoltativi per le acque:

- azoto nitroso ($N-NO_2^-$);
- azoto nitrico ($N-NO_3^-$);
- azoto totale disciolto (TDN);
- azoto totale particellato (TPN);
- fosforo totale disciolto (TDP);
- carbonio organico particellato (POC);
- carbonio organico disciolto (DOC);
- carbonio organico totale (TOC);
- silicati disciolti (SiO_4^{--});
- solfuri liberi (FS);
- clorofilla *a* e feopigmenti;
- Conducibilità.

Parametri obbligatori per i sedimenti:

- carbonio organico totale (TOC);
- azoto totale (TN);
- densità (Dsed);
- granulometria (GS);

Parametri facoltativi per i sedimenti:

- fosforo totale (TP).

Per ciò che concerne la valutazione dello stato di ossigenazione dei corpi idrici, in ottemperanza con quanto previsto dal D.M. 260/2010, in continuità con il triennio di monitoraggio precedente, ci si avvarrà dei dati provenienti dalle sonde di rilevamento in continuo dell'ossigeno della rete U.T.A. o delle alternative previste dal D.M. 260/2010, Tab. 4.4.2/b. Per quanto riguarda questa attività si fa riferimento a quanto in programmazione da parte del Magistrato alle Acque di Venezia per il triennio 2013-2015.

2.4.3 Metodiche di campionamento e trattamento del campione

Campionamento dell'acqua

Campionamento d'acqua superficiale 0.2 – 0.5 m di profondità e Campionamento a 0.2 m dal fondo (facoltativo).

Misurazione con strumentazione portatile di profondità, trasparenza, ossigeno disciolto, pH e temperatura, della salinità superficiale e (facoltativo) a 0.2m dal fondo;

Raccolta di un campione di acqua con bottiglia scura e filtrazione in situ, con apparato filtrante portatile, o in laboratorio, con filtri in acetato di cellulosa con porosità 0.45µm, dei campioni di acqua per la determinazione dei nutrienti disciolti (parametri dell'azoto, del fosforo e silice disciolti). L'operatore disporrà di pinzette per la manipolazione dei filtri e avrà cura di procedere di volta in volta ai necessari avvinamenti delle bottiglie di campionamento, delle siringhe e di altro materiale;

Per la determinazione dei nutrienti particolati e dei solidi sospesi viene prelevato un campione di circa 1 l di acqua con bottiglie scure, da filtrare in laboratorio su filtri in fibra di vetro da 0.70µm. I filtri saranno conservati a -20°C fino al momento delle determinazioni analitiche;

Per la determinazione dei solfuri liberi, mettere 2ml di acetato di zinco (20%) in provetta. Il campione d'acqua, prelevato con una siringa collegata ad un tubicino posto nelle vicinanze della superficie del sedimento, dovrà essere immesso nella provetta avendo cura che la punta del tubicino sia immerso nell'acetato di zinco. Portare a volume di 20ml e congelare. Importante: il campione di acqua che fuoriesce dal tubicino non deve entrare a contatto con l'aria.

Campionamento del sedimento

Prelievo dei primi 5 cm di sedimento tramite carotatore o benna. Se si utilizza la benna si raccomanda di omogeneizzare il campione prima di prelevare sub aliquote; sul campo viene misurato il potenziale di ossidoriduzione (Eh).

2.4.4 Metodi di analisi

Acque

Analita / parametro	Parametri chimico-fisici obbligatori	Riferimenti bibliografici
	Metodo	
TAN	determinazione colorimetrica dell'indofenolo formatosi per reazione con fenolo alcalino e acido dicloroisocianurico in presenza di sodionitroprussiato ed EDTA	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
SRP	determinazione colorimetrica del complesso antimONIO fosfomolibdico ottenuto per reazione di molibdato di ammonio e tartrato di antimONIO e potassio	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
TSS	i filtri ottenuti dal filtraggio di volumi noti, sono essiccati a 50-60°C per 4h e pesati;	Strickland and Parsons, 1972

N-NO _x	determinazione colorimetrica del complesso colorato che si forma per diazotazione con sulfanilammide e N-1naftil-etilendiammina previa riduzione a nitriti per passaggio della soluzione campione su colonna contenente cadmio granulare	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
T	misurazione in °C con strumentazione portatile	
Tr	disco Secchi	
pH	misurazione con strumentazione portatile	
DO	misurazione in % saturazione e mg l ⁻¹ . Misurazione con strumentazione portatile o con metodo Winkler	
S	misurazione con strumentazione portatile e calcolo del valore in psu	
D	misurazione con cavo metrico	

Analita	Parametri chimico-fisici facoltativi	Riferimento bibliografico
	Metodo	
N-NO ₂ ⁻	determinazione colorimetrica del complesso colorato che si forma per diazotazione con sulfanilammide e N-1naftil-etilendiammina	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
SiO ₄ ⁴⁻	determinazione colorimetrica del blu di molibdeno ottenuto per riduzione del poliacido silicomolibdico	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
TDN	determinazione colorimetrica dei nitriti previa ossidazione con persolfato in ambiente basico e successiva riduzione dei nitrati formati	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
TDP	determinazione colorimetrica degli ortofosfati previa ossidazione con persolfato in ambiente acido	Cicero e Di Girolamo, 2001 APAT/IRSA-CNR 2003
FS	determinazione come S ²⁻ per via spettrofotometrica	Cline (1969)
POC	determinazione per combustione con analizzatore elementare	Hedges and Stern, 1984
TOC	determinazione per combustione mediante catalizzatore e determinazione analitica con rilevatore a infrarossi previa eliminazione dei carbonati mediante acidificazione con HCl 2N	Sugimura and Suzuki, 1988
DOC	determinazione per combustione mediante catalizzatore e determinazione analitica con rilevatore a infrarossi previa eliminazione dei carbonati mediante acidificazione con HCl 2N	Sugimura and Suzuki, 1988

Chlorofeopigmenti	determinazione spettrofotometrica	Parson et al., 1984
conducibilità	misurazione con strumentazione portatile	
TPN	determinazione per combustione con analizzatore elementare	Hedges and Stern, 1984

Sedimento

Analita	Parametri idromorfologici obbligatori	Riferimento bibliografico
	Metodo	
TN	determinazione per combustione con analizzatore elementare	Hedges, and Stern. 1984
TOC	trattamento con HCL allo scopo di eliminare il carbonio inorganico presente mediante la formazione di CO ₂ volatile e successiva determinazione con analizzatore elementare	Cicero e Di Girolamo, 2001
Dsed (umida)	determinazione da un subcampione (uno per ogni replica) di 1 cm ³ preso da ciascun campione, secondo le seguenti equazioni: $D_{sat} = M_{sp} \cdot V_{ws}^{-1}$; Dove: M_{sp} è la massa del solido e delle acque interstiziali; V_{ws} è il volume del sedimento umido; V_p è il volume dell'acqua interstiziale, determinato come perdita di peso dopo essiccazione a 90°C per 24h	Manual of Physico-Chemical analysis of aquatic sediments.
GS		Cicero e Di Girolamo, 2001

Analita	Parametri idromorfologici facoltativi	Riferimento bibliografico
	Metodo	
TP	Procedura identica al TPP	metodo Aspila et al., 1976

Parametri da calcolare:

- porosità ($\eta = V_p \cdot V_{ws}^{-1}$);
- azoto nitrico ($N-NO_3 = N-NO_x - N-NO_2^-$);
- azoto inorganico disciolto ($DIN = TAN + N-NO_2^- + N-NO_3^-$);
- azoto organico disciolto ($DON = TDN - DIN$);
- azoto totale ($TN = TDN + TPN$);
- fosforo organico disciolto ($DOP = TDP - SRP$);
- fosforo totale ($TP = TDP + TPP$).

3 MONITORAGGIO PER LA VERIFICA DELLE CONDIZIONI DI OSSIGENAZIONE

Come riportato nel documento di sintesi dei risultati del primo ciclo di monitoraggio di ARPAV e ISPRA (Giugno 2013), (MONITORAGGIO DELLA LAGUNA DI VENEZIA AI SENSI DELLA DIRETTIVA 2000/60/CE FINALIZZATO ALLA DEFINIZIONE DELLO STATO ECOLOGICO DECRETO LEGISLATIVO N. 152/2006 e s.m.i. - Valutazione dei dati acquisiti nel monitoraggio ecologico 2011-2012 ai fini della classificazione ecologica dei corpi idrici lagunari (elementi di qualità fisico-chimica e chimici, ad esclusione delle sostanze non prioritarie della colonna d'acqua a supporto dello stato ecologico, elementi di qualità biologica)'), i dati provenienti dalle sonde in continuo della rete UTA del Magistrato alle Acque di Venezia hanno mostrato per il corpo idrico ENC1 (l'unico risultato buono per gli EQB monitorati nel monitoraggio operativo) due eventi di anossia nel 2011 (14-15 luglio e 23-28 agosto, rispettivamente in Ve10 e Ve3) della durata inferiore ad 1 giorno in entrambe le stazioni monitorate in questo CI. Nel 2012 invece non si sono verificati eventi di anossia o ipossia.

Per tale corpo idrico, in riferimento a quanto riportato nel D.M. 260/2010, si provvederà alla verifica dello stato dei macroinvertebrati bentonici quali elementi di qualità biologica indicativi delle condizioni di ossigenazione delle acque di fondo, al fine di verificare un ritardo nella risposta biologica.

MONITORAGGIO ADDIZIONALE

Nel Piano di Monitoraggio 2010-2012 per la Laguna di Venezia era stato individuato un sottoinsieme di stazioni (30) sulle quali monitorare tutti gli elementi di qualità biologica, anche quelli non presi in considerazione dal monitoraggio operativo (Fitoplancton e Fauna Ittica). Nel presente Piano 2013-2015 si è deciso di mantenere il monitoraggio addizionale, ottimizzando ulteriormente gli sforzi di campionamento.

Per quanto riguarda gli elementi Macrofite e Macroinvertebrati bentonici il monitoraggio addizionale coinciderà con quello operativo.

Per l'elemento di qualità biologica Fitoplancton è stato scelto di eseguire un monitoraggio su 30 stazioni, come per il triennio precedente. Le stazioni sono distribuite nell'intera laguna di Venezia come riportato in Tabella 5 e in Figura 6. Per l'elemento di qualità biologica Ittiofauna è stata definita una rete di 20 stazioni, distribuite nell'intera laguna di Venezia come riportato in Tabella 6 e in Figura 7. La riduzione del numero di stazioni di Ittiofauna è motivata dai risultati ottenuti del monitoraggio addizionale del triennio precedente e dalla difficoltà di campionamento di alcune stazioni.

La scelta delle stazioni tiene comunque in considerazione la necessità di rappresentare sia gli habitat dominanti dei corpi d'acqua (praterie, barene) sia lo stato dei corpi idrici.

Tabella 5. Stazioni di campionamento per il monitoraggio addizionale EQB Fitoplancton

TIPO	CODICE Corpo Idrico	Monitoraggio addizionale n° stazioni
<i>polialino confinato</i>	PC1	3
	PC2	3
	PC3	1
	PC4	1
<i>eualino confinato</i>	EC	3
<i>eualino non confinato</i>	ENC1	6
	ENC2	2
	ENC3	1
	ENC4	2
<i>polialino non confinato</i>	PNC1	3
	PNC2	3
<i>fortemente modificati</i>	VLN	1
	VLS	1
TOTALE		30

Tabella 6. Stazioni di campionamento per il monitoraggio addizionale EQB Ittiofauna

TIPO	CODICE Corpo Idrico	Monitoraggio addizionale n° Stazioni
<i>polialino confinato</i>	PC1	2
	PC2	1
	PC3	1
	PC4	1
<i>eualino confinato</i>	EC	2
<i>eualino non confinato</i>	ENC1	3
	ENC2	3
	ENC3	0
	ENC4	1
<i>polialino non confinato</i>	PNC1	2
	PNC2	2
<i>fortemente modificati</i>	VLN	1
	VLS	1
TOTALE		20

In Tabella 7 si riporta lo sforzo di campionamento annuale calcolato sulla base delle frequenze di campionamento di seguito descritte per elemento di qualità biologica Fitoplancton e Ittiofauna.

Tabella 7. Sforzo di campionamento annuale del monitoraggio addizionale

elemento di qualità biologica	n° stazioni	frequenza di monitoraggio annuale (n° campionamenti all'anno)	sforzo di campionamento addizionale (n°stazioni x frequenza di campionamento all'anno)
fitoplancton	30	4	120
fauna ittica	20	2	40
TOTALE			160

Per il fitoplancton sarà applicato il ciclo di frequenza di monitoraggio previsto dal D.Lgs. 152/2006 e s.m.i. per questo EQB (ciclo annuale, cfr. Tab 3.7 D.M. 260/2010). Di conseguenza lo sforzo totale del secondo triennio per il fitoplancton sarà complessivamente di 360 campionamenti (120 x 3). Tale monitoraggio verrà eseguito in concomitanza con il prelievo dei campioni di acqua per l'analisi degli elementi di qualità chimico-fisica dell'acqua a supporto della classificazione ecologica (vedi §2.4.1)

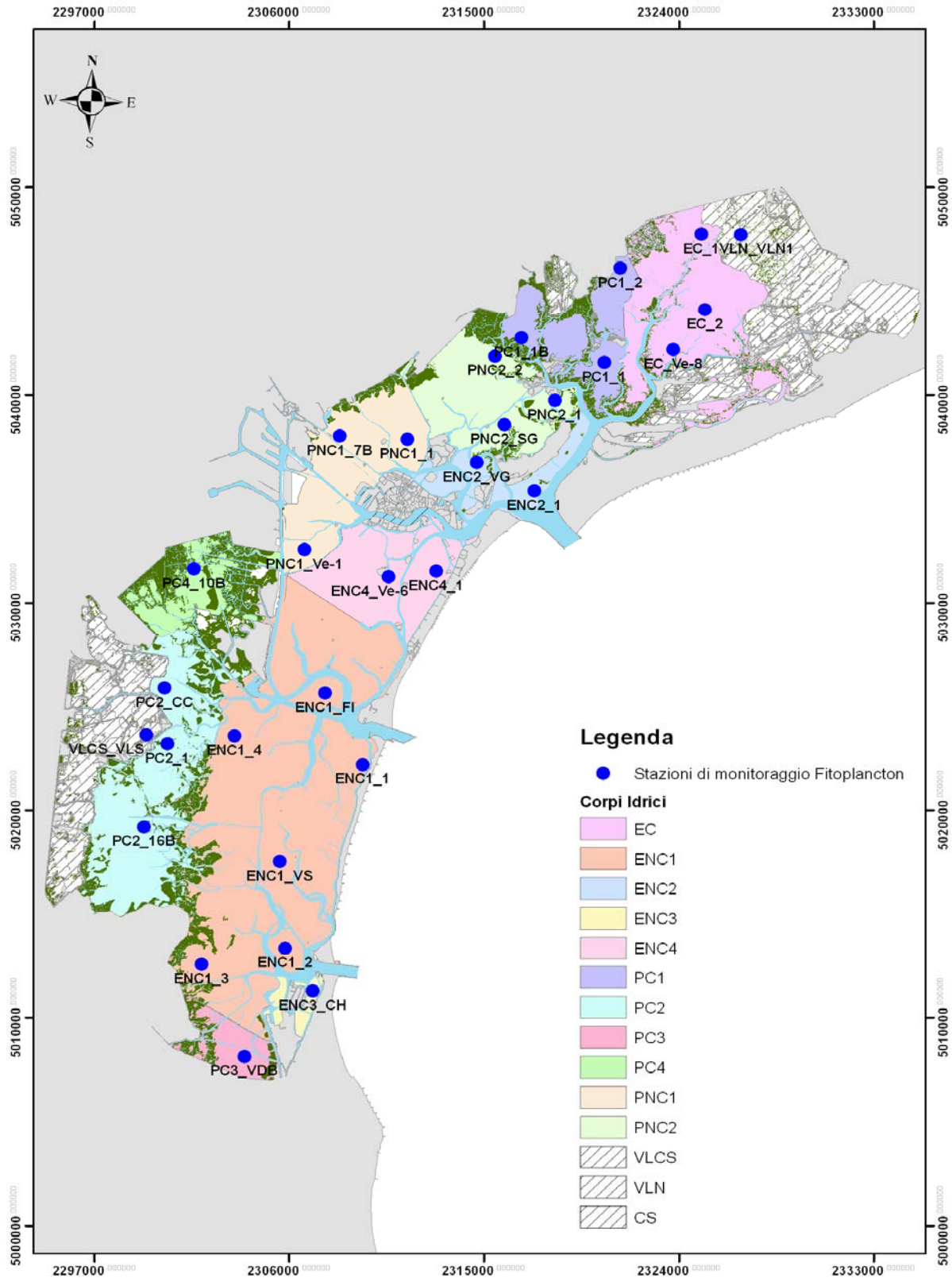


Figura 6. Localizzazione delle 30 stazioni di monitoraggio dell'EQB "Fitoplancton".

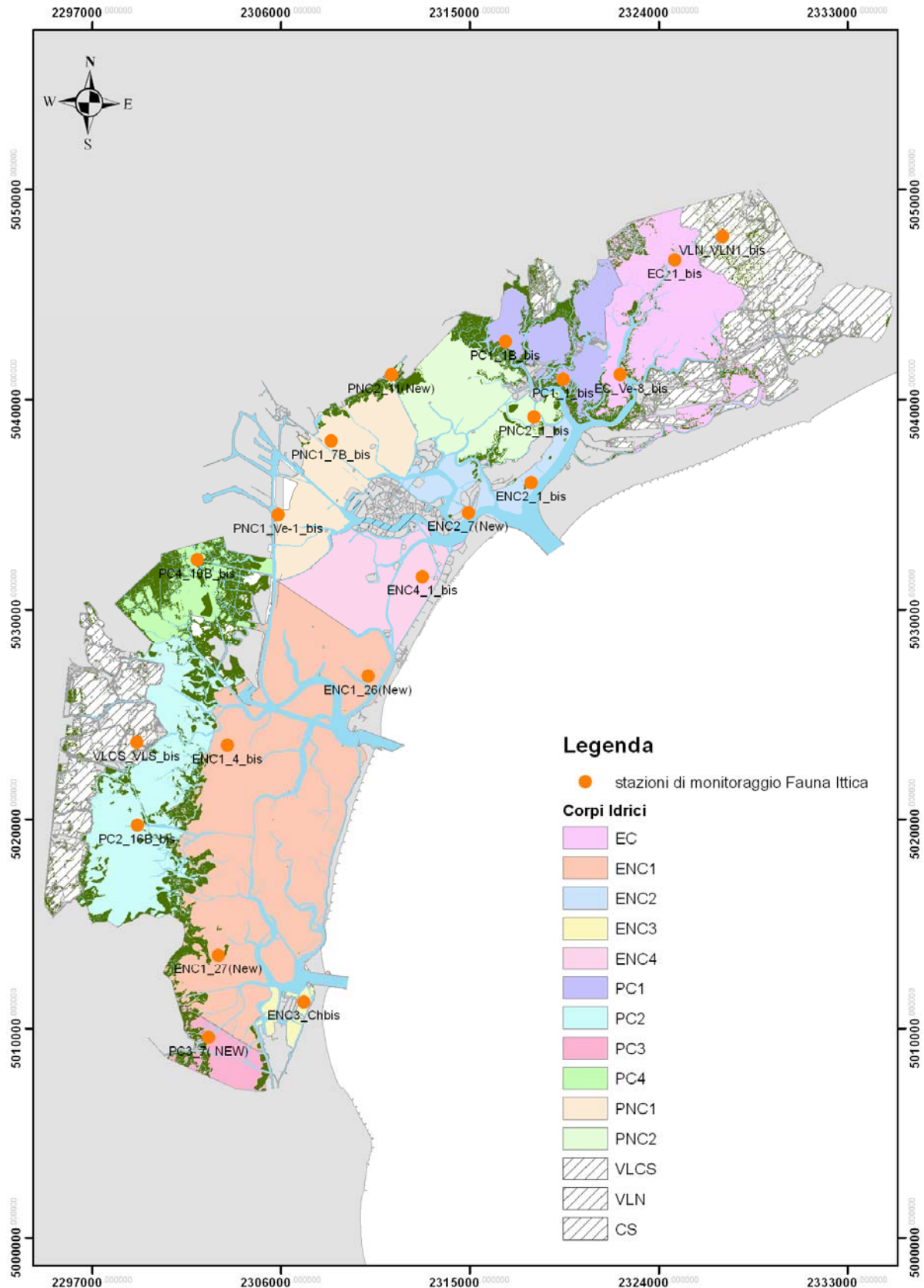


Figura 7. Localizzazione delle 20 stazioni di monitoraggio dell'EQB "Fauna Ittica".

3.1 Campionamento del fitoplancton

In continuità con il monitoraggio del triennio precedente (Piano di monitoraggio, 2010) il campionamento sarà eseguito sul livello d'acqua superficiale (0.2 - 0.5 m di profondità) e in condizioni di marea di quadratura.

Per il monitoraggio addizionale è da prevedersi un campionamento stagionale nei mesi di febbraio, maggio, agosto e novembre. La scelta del periodo è subordinata alle condizioni climatiche locali.

3.1.1 Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni

Strumentazione richiesta in campo:

- borse termiche refrigerate ed oscurate;
- bottiglia Niskin o in alternativa campionamento manuale con bottiglia oscurata raccogliendo un volume minimo di 250 ml;
- bottiglie in plastica scura da 2000 ml (per Chl *a*);
- fissativi (Lugol o altra sostanza non nociva per la salute umana);
- bottiglie in vetro scuro con tappo ermetico da 250 ml per la conservazione dei campioni (per fitoplancton);
- retino da plancton con maglia di 250 µm.

Protocollo di campionamento del fitoplancton su campo:

- prelievo di campioni per l'analisi della componente fitoplanctonica minimo 250 ml;
- conservazione: aggiunta di soluzione Lugol o, ove disponibile, altra sostanza conservante non nociva per la salute umana;
- conservazione dei campioni in borse termiche adeguatamente refrigerate ed oscurate.

Protocollo di campionamento della Chl *a* su campo:

- prelievo fino a un massimo di 2000 ml per l'analisi della clorofilla;
- travaso del campione d'acqua dalle bottiglie di prelievo alle bottiglie di plastica scura interponendo il retino da plancton con vuoto di maglia di 250 µm;
- conservazione delle bottiglie oscurate al fresco e al riparo dai raggi solari.

I campioni di fitoplancton se conservati in Lugol dovranno essere analizzati entro 30 giorni dal prelievo.

Per ulteriori dettagli relativi alle modalità di campionamento e trattamento dei campioni di fitoplancton si farà riferimento al Manuale ICRAM - MATT (Cicero, Di Girolamo, 2001) – Scheda 11 e alla norma UNI EN 15204:2006 (Norma Guida per la conta Fitoplancton utilizzando microscopia inversa).

Per ulteriori dettagli relativi alle modalità di campionamento e trattamento dei campioni di Chl *a* e alla conservazione dei filtri si farà riferimento al metodo descritto in Lazzara et al. (1990).

3.1.2 Parametri da determinare

Parametri obbligatori

Per stazione su 400 cellule:

- composizione e abbondanza specifica del fitoplancton;
- biomassa totale, come Chl *a*.

3.1.3 Metodi di analisi

Per la Chl *a*:

Strumentazione di laboratorio per Chl *a* (la filtrazione deve essere effettuata non oltre 1-2 ore dal prelievo del campione):

- apparato di filtrazione;
- pompa da vuoto;
- trappola per pompa da vuoto;
- filtri in fibra di vetro Whatman GF/F;
- spettrofotometro/fluorimetro.

La determinazione della clorofilla avviene attraverso utilizzo di spettrofotometro come descritto nel manuale APAT IRSA-CNR (2003) e in Lazzara et al. (1990).

Per il Fitoplancton:

Strumentazione di laboratorio per fitoplancton:

- microscopio ad inversione con ingrandimento di circa 400 x con camere di sedimentazione;
- sistema analisi d'immagine

Per la determinazione del Fitoplancton si farà riferimento al metodo descritto nel Manuale ICRAM - MATT (Cicero, Di Girolamo, 2001) – Scheda 11.

3.2 Campionamento della Fauna Ittica

Per il monitoraggio addizionale la frequenza è semestrale: primaverile ed autunnale. I campionamenti saranno effettuati nelle ore diurne mediante l'utilizzo di sciabica possibilmente nella stessa fase di marea per tutte le stazioni.

3.2.1 Metodiche di campionamento e trattamento dei campioni

Tecniche ed attrezzi di campionamento

I campionamenti saranno eseguiti mediante l'uso di rete a tratta manuale, tipo sciabica, entro i 1,5 metri di profondità

La sciabica avrà le seguenti caratteristiche: distanza internodo 2 mm (almeno nel segmento mediano corrispondente al "sacco"); lunghezza 20 m; altezza 2 m. Il traino della rete avverrà, ove possibile, da terra ed in modo da esplorare un'area di circa 150 m² per replica. si rende necessario l'ausilio di una imbarcazione.

Durante ciascun campionamento saranno registrate le informazioni contenute nella seguente tabella:

Variabili per descrivere il metodo di campionamento	
Tipo di rete	Sciabica
Dimensioni rete (m)	Lunghezza x altezza
Tipo di maglia	Distanza internodo
Apertura della rete (m)	si ottiene misurando la distanza (m) tra le estremità della rete in pesca
Lunghezza della tirata (m)	si ottiene misurando la distanza (m) tra la lima dei piombi e la riva all'inizio della tirata
Superficie o volume d'acqua campionato (m ² , m ³)	si ottiene combinando le due misure precedenti

3.2.2 Conservazione dei campioni ed etichettatura

I pesci durante le operazione di cattura saranno manipolati con cautela, in modo tale da minimizzare i danni e le lesioni causate dalle operazioni di pesca. Nei casi di difficile riconoscimento sul campo (es. specie molto simili, individui giovanili), gli esemplari potranno essere sacrificati e trasportati in laboratorio per un'analisi più accurata. A tal fine, essi saranno anestetizzati in una soluzione acquosa di anestetico (tricaina metasulfonata, 2-fenossietanolo) in dosi letali, per essere riposti in sacchetti di polietilene marcati (separatamente per ogni replica) o conservati con ghiaccio a 0°C durante il trasporto in laboratorio e quindi congelati a -20°C o trasferiti in fissativi (vedi oltre) fino al momento dell'analisi.

Le specie di interesse conservazionistico, tutti gli esemplari catturati con i bertovelli e gli esemplari adulti (es. gobidi, signatidi,...) catturati con la sciabica dovranno essere anestetizzati in una soluzione acquosa di anestetico (tricaina metasulfonata, 2-fenossietanolo) prima di effettuare le misurazioni, per poi essere liberati una volta riacquisite le funzioni vitali, onde minimizzare l'impatto del monitoraggio sulle popolazioni. Per la conservazione di esemplari o di parti anatomiche possono essere utilizzati i seguenti fissativi:

- Alcool etilico al 70%, utilizzabile per la conservazione di esemplari di piccola taglia ma non per i tessuti molli;
- altra sostanza conservante non nociva per la salute umana, ove disponibile, per la conservazione di esemplari di piccola taglia e di contenuti stomacali/intestinali.

3.2.3 Parametri da determinare

L'analisi dei campioni comprenderà:

- identificazione tassonomica degli individui a livello di specie;
- conteggio di tutti gli individui pescati;
- per ciascuna specie, misurazione della taglia (lunghezza totale, in mm) e del peso corporeo (umido, in g) di tutti gli esemplari nei campioni che contengono meno di 100 individui, su un campione di 100 individui, scelti in maniera casuale, nei campioni che contengono più di 100 individui.

Parametri ed elementi opzionali da includere eventualmente nell'analisi dei campioni sono: il sesso, la maturità, i contenuti stomacali/intestinali, i parassiti, lo stato di salute. La valutazione dello stato di salute complessivo dei pesci riveste grande importanza, in quanto la compromissione dello stato di salute di un popolamento ittico può essere un attendibile e diretto indicatore di disturbi antropici nell'area oggetto d'esame. Diversi sono i metodi e gli indici (qualitativi o semi quantitativi) utilizzati per la valutazione dello stato di salute di specie ittiche naturali, e tutti considerano lesioni tissutali, le anomalie morfologiche e la presenza di tumori in particolare a carico degli organi e tessuti esterni (pinne, cute, occhi). Gli individui con lesioni saranno conservati per essere eventualmente sottoposti a ulteriori analisi di laboratorio.

Per il riconoscimento tassonomico verranno consultati i manuali Fao (Fisher et al., 1987) e "I pesci delle acque interne italiane" (Gandolfi et al., 1991).

BIBLIOGRAFIA

- APAT IRSA-CNR, 2003. Metodi analitici per le acque. Manuali e Linee guida, 29/2003, 3. Metodo 9020:1137-1142.
- APAT-SIBM-ICRAM, 2003. Manuale di metodologie di campionamento e studio del bentos marino mediterraneo. M.C. Gambi & M. Dappiano (Eds).
- Aspila, K.I., Agemiam, H., Chau, A.S.Y., 1976. A semiautomatic method for the determination of inorganic, organic and total phosphate in sediments. *Analyst* 101:187-197.
- Basset A., Sangiorgio F., Sabetta L. 2006. "Handbook for the application of body size descriptors to monitoring safety of transitional ecosystems"– TWReferenceNet - EU INTERREG III B Project 3B073 Management and sustainable Development of protected transitional waters pp 74.
- Cicero A.M., Di Girolamo I., 2001. "Metodologie Analitiche di Riferimento. Programma di Monitoraggio per il controllo dell'Ambiente marino costiero (Triennio 2001-2003)". Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, ICRAM©ICRAM, Roma 2001 (disponibile on line: www.icram.org)
- Cline J. D. 1969. Spectrophotometric determination of hydrogen sulphide in natural waters. *Lymnology and Oceanography* 14: 454-459.
- Cormaci M., Furnari G., Giaccone G., 2003. Macrofitobenthos. In: Gambi M.C., Dappiano M. (eds) Manuale di metodologie di campionamento e studio del bentos marino mediterraneo. *Biol. Mar. Medit.*, 10 (Suppl.): 233-262.
- Gandolfi G., Zerunian S., Torricelli P., Marconato A. 1991. I pesci delle acque interne italiane. Istituto Poligrafico Zecca dello Stato, Roma: pp 616
- Hedges, J.I. and J.H. Stern. 1984. Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnol. Oceanogr.*, 29: 657-663.
- ICRAM, 2007 "Guida alla tipizzazione dei corpi idrici di Transizione ed alla definizione delle condizioni di riferimento ai Sensi della direttiva 2000/60/CE - EI-Pr-TW-Tipizzazione_Condizioni di Riferimento-01.01"
- Lazzara, L. Bianchi, F. Falcucci, M. Hull, V. Modigh, M. Ribera d'Alcalà, M. 1990 Pigmenti clorofilliani. *Nova Thalassia* 11: 207-223.
- Manual of Physico-Chemical analysis of aquatic sediments. 1997. Edited by Alena Mudroch, Jose Azcue, Paul Mudroch. ISBN 1-56670-155-4.
- Orfanidis S., Panayotidis P., Stamatis N 2003. An insight to the ecological evaluation index (EEI). *Ecological Indicators* 3: 27-33.
- Parsons T. R., Maita Y., Lalli C.M., 1984. A Manual of Chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford, 173 pp.
- Sfriso A., Ghetti P.F., 1998. Seasonal variation in the biomass, morphometric parameters and production of rhizophytes in the lagoon of Venice. *Aquatic Botany*, 61: 207-223.
- Sfriso A., Racanelli S., Pavoni B., Marcomini A., 1991. Sampling strategies for measuring macroalgal biomass in the shallow water of the Venice Lagoon. *Environmental Technology*, 12: 263-269.
- Sfriso A. 2008a. Principi ecologici del biomonitoraggio. Lezione 8: Scale spaziali applicate a comunità di macroalghe e fanerogame marine: Parte I Macroalghe. Ecogovernance, Ferrara. 8 pp. + Power Point + Audio.
- Sfriso A. 2008b. Principi ecologici del biomonitoraggio. Lezione 8: Scale spaziali applicate a comunità di macroalghe e fanerogame marine: Parte II Fanerogame marine.

- Ecogovernance, Ferrara. 8 pp. + Power Point + Audio. Shepard F.P. 1954. Nomenclature based on sand, silt, clay ratio. *J. Sed. Petro.* 25: 151-158.
- Sfriso A., Facca C. and Ghetti P.F. (in press). Validation of the Macrophyte Quality Index (MaQI) set up to assess the ecological status of Italian marine transitional environments. *Hydrobiologia*, in press.
- Sfriso A., Facca C., Ghetti P.F. 2007. Rapid Quality Index, based mainly on Macrophyte associations (R-MAQI), to assess the ecological status of the transitional environments. *Chemistry and Ecology*, 23 (6): 1-11.
- Sfriso A., Ghetti, P.F. 1998. Seasonal variation in the biomass, morphometric parameters and production of rhizophytes in the lagoon of Venice. *Aquatic Botany*, 61: 207-223.
- Sfriso A., Raccanelli S., Pavoni B. e Marcomini A. 1991. Sampling strategies for measuring macroalgal biomass in the shallow water of the Venice Lagoon. *Environmental Technology*, 12: 263-269.
- Strickland, J.D.H., Parsons, T. R., 1972, A practical handbook of seawater analysis, *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, 167, pp. 311.
- Sugimura Y., Suzuki Y., 1988. A high temperature catalytic oxidation method of non-volatile dissolved organic carbon in seawater by direct injection of liquid samples. *Mar. Chem.*, 24:105-131.
- US EPA, 1997. In Vitro Determination of Chlorophyll a and Pheophytin a in Marine and Freshwater Algae by Fluorescence. Method 445.0.
- UNI EN 15204:2006. Qualità dell'acqua - Norma guida per la conta di fitoplancton utilizzando la microscopia inversa (Tecnica di Utermöhl).



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale



Agenzia Regionale per la Prevenzione e
Protezione Ambientale del Veneto

ALLEGATO 1 – Approccio utilizzato per la revisione della numerosità delle stazioni

La pianificazione del monitoraggio ecologico della Laguna di Venezia ai sensi della Direttiva 2000/60/CE per il triennio 2013-2015 (di cui fa parte questo allegato tecnico) ha previsto una revisione del Piano di Monitoraggio (2010), effettuata sulla base dei risultati ottenuti nel primo ciclo di monitoraggio. Nei protocolli ISPRA (2011) è previsto infatti che *“in considerazione dei dati già disponibili e delle caratteristiche specifiche dei singoli corpi idrici da monitorare, le singole Regioni potranno valutare l’opportunità di modificare e/o semplificare lo sforzo di campionamento”*. L’obiettivo della revisione del Piano è stato quindi quello di individuare un buon compromesso tra la numerosità delle stazioni di monitoraggio e la correttezza/affidabilità della classificazione degli Elementi di Qualità Biologica (EQB).

Per ogni EQB, la classificazione a scala di corpo idrico viene ottenuta dalla media aritmetica dei Rapporti di Qualità Ecologica (RQE) delle stazioni ad esso appartenenti. Pertanto, stimare l’affidabilità della classificazione significa stimare l’affidabilità della media degli RQE calcolata per ciascun corpo idrico, che dipende dalla numerosità delle stazioni e dalla loro variabilità spaziale.

Le stazioni di monitoraggio rappresentano quindi il *“campione”* utilizzato per stimare (*“media campionaria”*) l’RQE medio di ciascun corpo idrico.

Approccio metodologico: il Teorema del Limite Centrale

L’approccio metodologico utilizzato per stimare l’affidabilità della classificazione si basa sul *teorema del limite centrale* (TLC), secondo cui la distribuzione della media campionaria può essere approssimata dalla distribuzione normale $N(\mu; \sigma)$, con $\mu = \mu_x$ e $\sigma = \sigma_x/n^{1/2}$. Per campioni sufficientemente grandi ($n > 30$) il TLC è valido indipendentemente dalla forma della distribuzione dei singoli valori della popolazione. Per campioni di dimensioni ridotte il TLC mantiene la sua validità se la popolazione ha distribuzione normale.

La normalità dei dati derivanti dal campionamento condotto nel 2011 è stata verificata a scala lagunare tramite il test di Kolmogorov-Smirnov, che è risultato non significativo (distribuzione normale) per il M-AMBI ($d=0.04$, $p > 0.05$), per il quale si è ritenuto applicabile il TLC anche a livello di singoli corpi idrici, considerato che si tratta di dati estrapolati da un set reale con distribuzione teorica normale. Per il MaQI invece l’assunzione di normalità non è rispettata (test di Kolmogorov-Smirnov significativo, con $d=0.24$, $p < 0.01$). Tuttavia, nella pratica, il TLC può essere applicato con campioni con ampiezza $n < 30$ se la distribuzione ha alcune caratteristiche che la avvicinano alla normale (ad esempio la simmetria). Analizzando la distribuzione del MaQI per ciascun corpo idrico, è risultata generalmente simmetrica e sono assenti distribuzioni particolarmente critiche (es. bimodali).

Per applicare il TLC a dati spaziali, è stata verificata anche l’assenza di autocorrelazione dei dati, presupposto necessario per poter considerare le osservazioni indipendenti. Tale verifica è stata eseguita mediante l’analisi dei variogrammi e l’applicazione del test di autocorrelazione spaziale di Moran. I risultati della verifica indicano un’assenza di

clusterizzazione² e autocorrelazione spaziale. Ai fini dell'applicazione del TLC a livello di corpo idrico si è ritenuta quindi rispettata l'assunzione di indipendenza delle osservazioni. Le considerazioni riportate sul rispetto delle assunzioni implicano una dovuta cautela nell'interpretazione dei risultati derivanti dall'applicazione del TLC. Si sottolinea che le elaborazioni statistiche di seguito descritte vanno considerate come un'analisi esplorativa dei dati a supporto di valutazioni sito-specifiche. I risultati non hanno quindi carattere generale e la loro interpretazione non può prescindere dall'approfondita conoscenza dello specifico contesto ambientale.

Relazione tra affidabilità della classificazione e numerosità del campione

L'approssimazione della media campionaria alla distribuzione normale (TLC) permette di valutare l'affidabilità della classificazione in termini di *livello di fiducia* ($1-\alpha$) e *intervallo di confidenza* (L), sulla base della numerosità del campione (n stazioni nel C.I.) e della sua variabilità spaziale (deviazione standard degli EQR delle stazioni di ogni C.I.), come rappresentato in Figura 8.

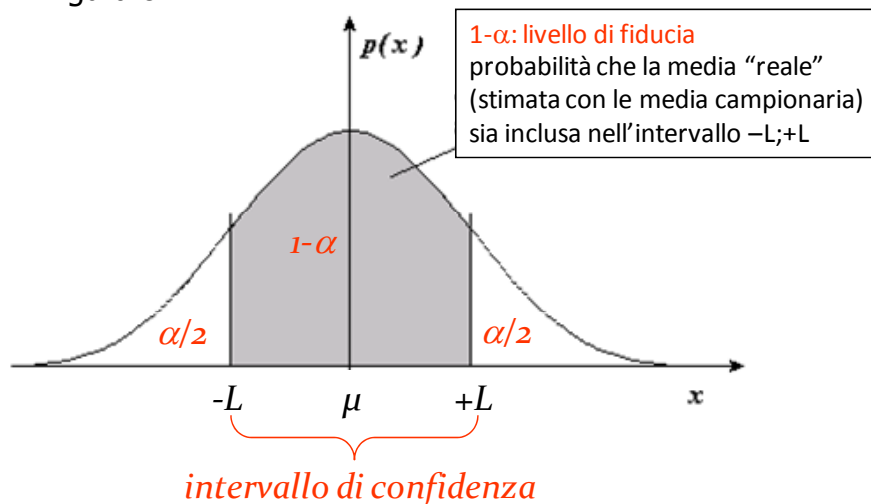


Figura 8. Rappresentazione grafica della stima per intervallo della media campionaria, la cui affidabilità è espressa in termini di livello di fiducia e intervallo di confidenza.

L'affidabilità della classificazione può quindi essere espressa come la probabilità che la media "reale", stimata tramite la media campionaria, ricada in un determinato intervallo. A parità di livello di fiducia, più piccolo è l'intervallo $[-L; +L]$ maggiore è l'affidabilità della stima, e viceversa.

Nota la deviazione standard degli RQE all'interno del corpo idrico e la numerosità delle stazioni campionate, l'ampiezza dell'intervallo di confidenza può essere determinato tramite la seguente relazione:

$$L = z_{\alpha/2} \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

² Il test di Moran è stato applicato a gruppi di corpi idrici limitrofi, al fine di disporre di campioni con numerosità >30. Per entrambi gli indici, il test di autocorrelazione di Moran è risultato non significativo (valori di z compresi tra -1.65 e 1.65 con $p > 0.10$).

con σ , dev.st. degli EQR all'interno del corpo idrico; n , numero di stazioni di campionamento nel C.I. L'affidabilità della classificazione aumenta quindi con il numero di stazioni di monitoraggio e diminuisce con la variabilità interna del C.I.

Dalla (1), si può quindi stimare il numero di stazioni di monitoraggio necessarie per ottenere un determinata affidabilità della classificazione (α , L) come segue:

$$n = z_{\alpha/2}^2 \frac{\sigma^2}{L^2} \quad (2)$$

Nelle elaborazioni eseguite è stato assunto un livello di fiducia pari a 0.95, valore comunemente utilizzato per analisi statistiche in ecologia. Di seguito viene discussa la relazione tra l'ampiezza dell'intervallo di confidenza (L) e le soglie che delimitano le 5 classi di qualità (da pessimo ad elevato) per gli EQB macrofite e macroinvertebrati bentonici nel sistema di classificazione nazionale.

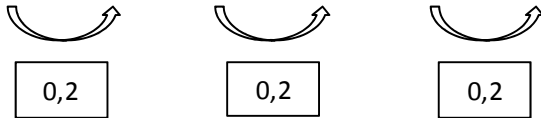
Relazione tra ampiezza dell'intervallo di confidenza (L) e sistema di classificazione ecologica (D.lgs 152/2006 e s.m.i.)

Il sistema di classificazione per l'EQB "Macrofite" prevede soglie equidistanti con ampiezza di ciascuna classe pari a 0.2 (Tabella 8).

Tabella 8 Limiti di classe relativi all'indice MaQI per l'EQB "Macrofite" tratta dal D.lgs 152/2006, Allegato 1, A.4.4.1, tab 4.4.1/a.

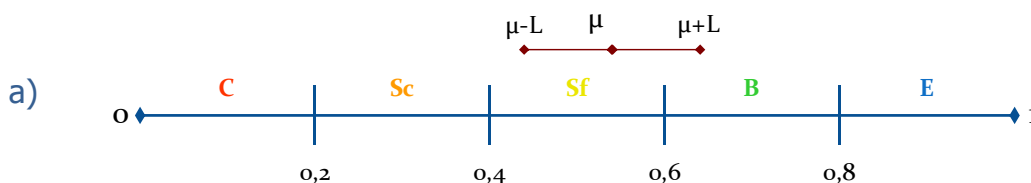
Tab. 4.4.1/a - Limiti di classe per l'E-MaQI e per l'R-MaQI modificato.

Rapporto di Qualità Ecologica			
Elevato/Buono	Buono/Sufficiente	Sufficiente/Scarso	Scarso/Cattivo
0,8	0,6	0,4	0,2



Premesso che non è possibile individuare un intervallo di confidenza (L) che garantisca a priori di non "sbagliare" la classificazione, ovvero di non porsi a cavallo tra due classi, dipendendo dalla vicinanza del valore assunto dalla media stimata alla soglia, si può osservare che:

- a un valore di $L=0.1$ corrisponde un errore "massimo" (con livello di fiducia ad es. del 95%) di una sola classe e in una sola direzione (Figura 9a)
- a un valore di $L=0.2$ corrisponde un errore "massimo" di una sola classe in entrambe le direzioni (Figura 9b);
- a un valore di $L>0.2$ corrisponde un errore "massimo" di più di una classe.



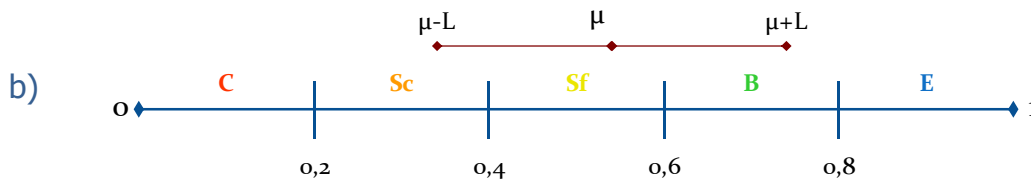



Figura 9. Relazione tra ampiezza dell'intervallo di confidenza (L) e soglie del sistema di classificazione dell'indice MaQI per l'EQB "Macrofite". a) Il valore di $L=0.1$ garantisce un errore di massimo una classe in una sola direzione. b) Un valore di $L=0.2$ garantisce un errore massimo di una sola classe in entrambe le direzioni.

Analoghe valutazioni sono state fatte per l'EQB "Macroinvertebrati bentonici" sulla base dei limiti di classe dell'indice M-AMBI (Tabella 9).

Tabella 9 Limiti di classe relativi all'indice M-AMBI per l'EQB "Macroinvertebrati bentonici" tratta dal D.lgs 152/2006 Allegato 1, A.4.4.1 tab 4.4.1/c.

Tab. 4.4.1/c – Limiti di classe in termini di RQE per l'M-AMBI

Rapporto di Qualità Ecologica			
Elevato/Buono	Buono/Sufficiente	Sufficiente/Scarso	Scarso/Cattivo
0,96	0,71	0,57	0,46



0,25

0,24

0,11

I limiti di classe dell'indice M-AMBI non sono equidistanti, pertanto la stima dell'errore "massimo" che si può commettere in termini di classificazione dipende dal valore assunto dalla media campionaria. Per ottenere risultati validi a prescindere dal valore della media stimata, per le seguenti considerazioni si prende come riferimento la classe con minore ampiezza (stato ecologico scarso).

- a un valore di $L=0.055$ corrisponde un errore "massimo" (con livello di fiducia ad es. del 95%) di una sola classe e in una sola direzione (Figura 10a)
- a un valore di $L=0.11$ corrisponde un errore "massimo" di una sola classe in entrambe le direzioni (Figura 10b);
- a un valore di $L>0.11$ corrisponde un errore "massimo" di più di una classe.

Si evidenzia che nel caso dell'indice M-AMBI, quando la stima della media ricade in una classe con intervallo più ampio (es. stato ecologico buono) a parità di L, è maggiore l'affidabilità in termini di appartenenza ad una determinata classe (Figura 10).

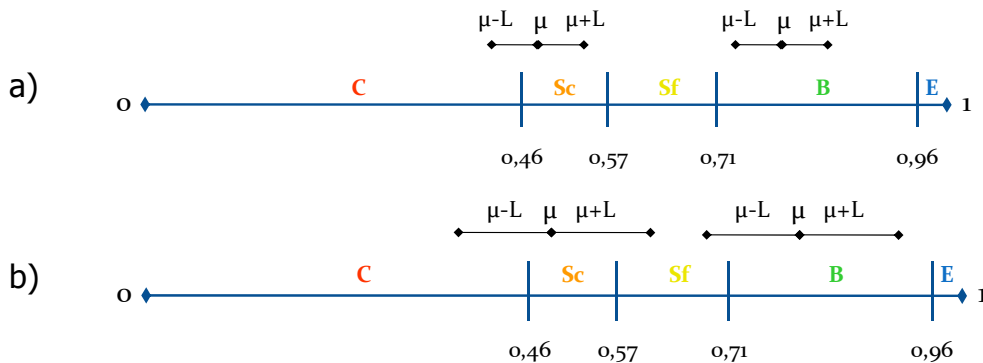


Figura 10. Relazione tra ampiezza dell'intervallo di confidenza (L) e soglie del sistema di classificazione dell'indice M-AMBI per l'EQB "Macroinvertebrati bentonici". a) Il valore di $L=0.05$ garantisce un errore di massimo una classe in una sola direzione. b) Un valore di $L=0.11$ garantisce un errore massimo di una sola classe in entrambe le direzioni. In entrambi i casi (a,b) si nota come se la stima della media rientra in una classe più ampia (es. stato ecologico buono), a parità di ' L ' l'affidabilità in termini di classe di appartenenza è maggiore.

Queste valutazioni sono state utilizzate come riferimento per ottimizzare la numerosità delle stazioni di monitoraggio in modo da garantire un'adeguata affidabilità della classificazione in funzione di uno sforzo di campionamento sostenibile. A tal proposito si evidenzia come il numero di stazioni di monitoraggio necessarie cresce con il quadrato dell'intervallo di confidenza scelto, come indicato dalla relazione (2).

Analisi dell'affidabilità della classificazione ottenuta con il monitoraggio del 2011

Ponendosi come obiettivo la rimodulazione dello sforzo del monitoraggio sulla base dell'affidabilità della relazione tra numerosità delle stazioni e affidabilità della classificazione, si è proceduto inizialmente con la stima dell'affidabilità derivante dai risultati del monitoraggio condotto nel 2011, nel quale la numerosità delle stazioni ha seguito puntualmente quanto previsto dai Protocolli ISPRA (2010 e suo aggiornamento del 2011). In Tabella 10 si riportano per ciascun corpo idrico il numero di stazioni campionate e l'intervallo di confidenza (con livello di fiducia al 95%), per gli EQB "Macrofite" e "Macroinvertebrati bentonici". Come si può osservare, l'affidabilità della classificazione non è omogenea tra i diversi corpi idrici. L'intervallo di confidenza calcolato per il MaQI varia da 0.04 a 0.236, con un valore medio di 0.106. Per l'M-AMBI varia da 0.050 a 0.193, con una media di 0.107. In generale per il MaQI i valori più bassi di L (maggiore affidabilità della classificazione) si ottengono nei corpi idrici polialini, caratterizzati da una minore variabilità interna. Per l'M-AMBI non si riscontra lo stesso tipo di andamento del MaQI: il valore più basso di L si registra nel C.I. ENC1, che corrisponde al corpo idrico di maggiore estensione e l'unico risultato in buono stato ecologico per entrambi gli EQB.

Tabella 10. Numero di stazioni campionate per Macrofite e Macroinvertebrati bentonici nel 2011 (primo triennio) in ciascun corpo idrico. Sono riportati gli intervalli di confidenza ottenuti con livello di fiducia al 95%.

C.I.	EQB/Indice			
	Macrofite MaQI		Macroinvertebrati Bentonici M-AMBI	
	n (2011)	L (2011)	n (2011)	L (2011)
EC	13	0.128	9	0.082
ENC1	26	0.107	24	0.050
ENC2	7	0.217	4	0.109
ENC3	3	0.236	3	0.126
ENC4	10	0.155	6	0.106
PC1	9	0.046	5	0.193
PC2	12	0.059	8	0.122
PC3	6	0.044	5	0.105
PC4	7	0.040	4	0.080
PNC1	11	0.040	7	0.071
PNC2	10	0.099	8	0.136
	somma totale	media	somma totale	media
	114	0.106	83	0.107

In Figura 11 viene fornita, a titolo esemplificativo, una rappresentazione grafica della classificazione tramite l'indice MaQI dei corpi idrici, espressa in termini di probabilità, calcolata sulla base della variabilità spaziale interna al corpo idrico e del numero delle stazioni di monitoraggio del 2011. Per la costruzione di queste curve di probabilità è stata utilizzata la distribuzione *t-student*, formalmente più corretta rispetto alla distribuzione normale qualora la deviazione standard non sia nota *a priori*, ma stimata sulla base di un campione di ridotte dimensioni. I risultati delle due distribuzioni non presentano comunque differenze sostanziali. La distribuzione della probabilità rappresentata in Figura 11 evidenzia come l'affidabilità della classificazione del corpo idrico PNC1 sia molto elevata. Una maggiore incertezza è legata invece alla classificazione del corpo idrico ENC4, con una probabilità di errore non trascurabile rispetto alla soglia critica moderato/buono (0.6)

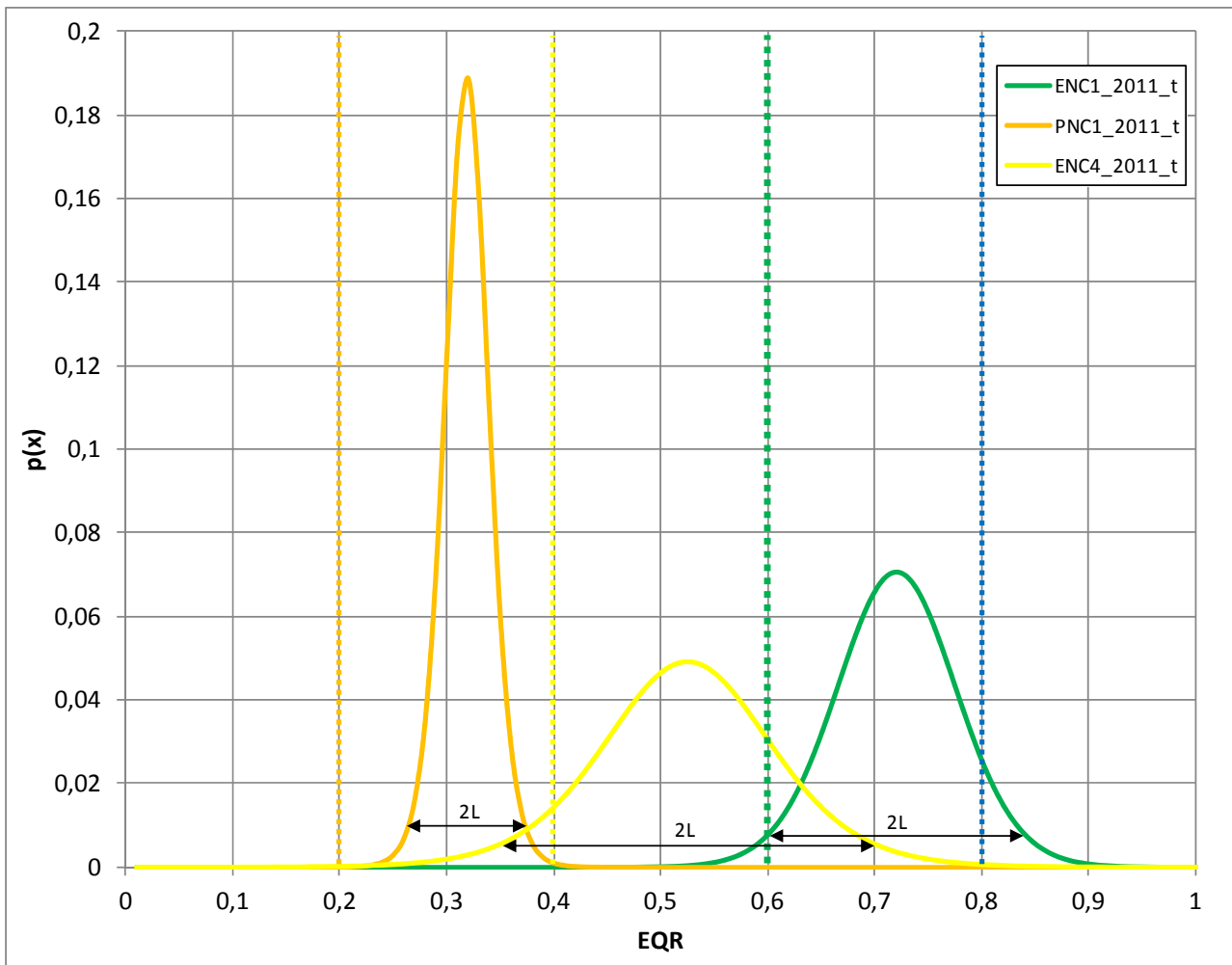


Figura 11. Rappresentazione grafica della classificazione dei corpi idrici, in termini di probabilità, calcolata sulla base della variabilità spaziale interna al corpo idrico e della numerosità delle stazioni di monitoraggio. Esempio dei risultati relativi all'indice MaQI nei C.I. ENC1, PNC1 e ENC4. Per la costruzione di queste curve di probabilità è stata utilizzata la distribuzione *t-student*, formalmente più corretta rispetto alla distribuzione normale qualora la deviazione standard non sia nota a priori, ma stimata sulla base di un campione di ridotte dimensioni.

Ottimizzazione del numero di stazioni per il monitoraggio del secondo triennio

L'ottimizzazione del numero di stazioni, finalizzata a garantire un buon compromesso tra sforzo di campionamento e affidabilità della classificazione, è stata fatta principalmente sulla base dei seguenti criteri:

1. rendere più omogenea l'affidabilità della classificazione tra i diversi corpi idrici (v.Tabella 10);
2. garantire per tutti i corpi idrici un'affidabilità minima sufficiente. Sulla base delle valutazioni sopra riportate (par.0), è stato scelto un intervallo di confidenza, con livello di fiducia al 95%, al massimo di 0.2 per il MaQI e di 0.11 per il M-AMBI, a cui corrispondono un errore "massimo" di una sola classe in entrambe le direzioni ($L_{\text{max-accettabile}}$) per entrambi gli indici;

3. garantire un'elevata affidabilità nella classificazione rispetto alla soglia critica sufficiente/buono, sulla base quindi della probabilità che il C.I. abbia un EQR medio maggiore o minore di 0.6 e 0.71 rispettivamente per l'indice MaQI e l'indice M-AMBI;
4. ulteriori valutazioni, a supporto dell'analisi statistica, per tenere conto delle dimensioni del corpo idrico e delle sue caratteristiche idromorfologiche.

Dalla Tabella 10 si nota come per il MaQI il valore di L mediato tra tutti i corpi idrici (0.106) sia molto inferiore al livello massimo considerato accettabile (MaQI; $L_{\text{medio}} \ll L_{\text{max-accettabile}}=0.2$), mentre per l'M-AMBI il valore medio (0.107) sia prossimo a tale limite (M-AMBI; $L_{\text{medio}} \sim L_{\text{max-accettabile}}=0.11$). Di conseguenza nell'ottimizzazione dello sforzo di campionamento, per l'EQB "macrofite" c'è mediamente un margine di riduzione del numero di stazioni maggiore rispetto all'EQB "macroinvertebrati bentonici".

In linea con i criteri 1 e 2, il numero di stazioni per ciascun corpo idrico è stato definito sulla base della relazione (2), imponendo:

- $\alpha=0.05 \rightarrow z_{\alpha/2} = 1.96$, quindi un livello di fiducia dell'95%;
- $L=L_{\text{medio-2011}}$ ai corpi idrici in cui $L_{2011} < L_{\text{medio-2011}}$
- $L=L_{\text{max-accettabile}}$ ai corpi idrici in cui $L_{2011} > L_{\text{max-accettabile}}$;
- $L=L_{2011}$ ai corpi idrici in cui $L_{\text{medio-2011}} < L_{2011} < L_{\text{max-accettabile}}$ (quindi numero di stazioni invariato rispetto al 2011).

Di seguito si riporta una rappresentazione grafica dell'approccio utilizzato:

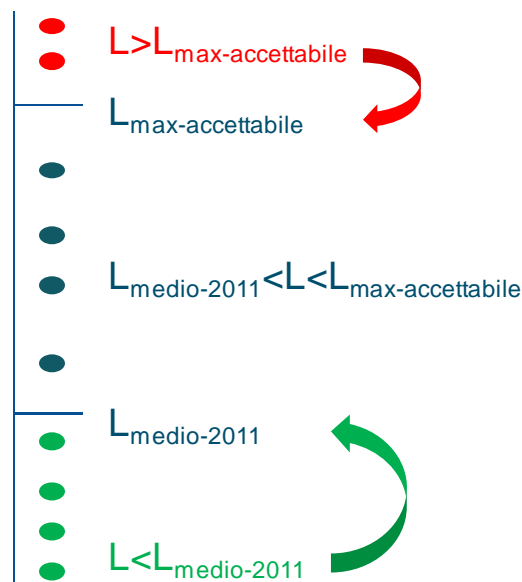


Figura 12. Rappresentazione grafica dell'approccio utilizzato per garantire una sufficiente e omogenea affidabilità della classificazione nei diversi corpi idrici (criteri 1 e 2).

In Tabella 11 viene riportato, per ciascun corpo idrico, il numero di stazioni di monitoraggio di macrofite e macroinvertebrati bentonici previsto per il secondo triennio di monitoraggio operativo. Nella tabella viene inoltre presentata una stima sintetica dell'affidabilità della classificazione del primo triennio e la probabilità che la media ottenuta

da un diverso numero di stazioni (quello previsto per il II triennio di monitoraggio) possa risultare maggiore/minore della soglia critica buono/sufficiente.

Rispetto alla numerosità delle stazioni di monitoraggio derivante dai criteri 1 e 2, sono stati fatti alcuni aggiustamenti tenendo conto della probabilità di errore rispetto alla soglia critica buono/sufficiente (criterio 3, vedi Tabella 2) e alle caratteristiche fisiche dei corpi idrici (criterio 4). Ad esempio, nel corpo idrico PC1 imponendo $L=L_{\text{max-accettabile}}$ risulterebbe necessario monitorare 15 stazioni di macroinvertebrati (nel 2011 erano state monitorate 5 stazioni). Tenendo conto delle ridotte dimensioni del C.I. e della buona affidabilità rispetto alla soglia critica (80%), è stato scelto di limitare il campionamento a 6 stazioni (una in più rispetto al 2011). Viceversa, nel C.I. ENC1 il numero di stazioni di macroinvertebrati ottenuto imponendo $L=L_{\text{medio-2011}}$ risulterebbe pari a 5, ma l'affidabilità rispetto alla soglia critica scenderebbe sotto al 70%. Sulla base del criterio 3 e dell'elevata estensione del C.I. (criterio 4), per il corpo idrico ENC1 il numero di stazioni previste nel secondo triennio di monitoraggio è pari a 16 (ridotto comunque rispetto alle 24 del 2011).

Tabella 11. Numero di stazioni di monitoraggio campionate nel I triennio e previste per il II triennio di monitoraggio operativo, con stima dell'affidabilità della classificazione del primo triennio e la probabilità di ottenere lo stesso risultato nel secondo monitoraggio rispetto alla soglia critica buono/sufficiente.

C.I.	Macrofite (MaQI)						Macroinvertebrati bentonici (M-AMBI)					
	N stazioni		I triennio stima affidabilità classificazione		probabilità classificazione con N stazioni II triennio		N stazioni		I triennio stima affidabilità classificazione		probabilità classificazione con N stazioni II triennio	
	I triennio	II triennio	<B (%)	>B (%)	<B (%)	>B (%)	I triennio	II triennio	<B (%)	>B (%)	<B (%)	>B (%)
EC	13	13	99	1	99	1	9	7	100	0	100	0
ENC1	26	22	2	98	3	97	24	16	13	87	18	82
ENC2	7	8	84	16	86	14	4	4	86	14	86	14
ENC3	3	3	87	13	87	13	3	3	89	11	89	11
ENC4	10	10	83	17	83	17	6	6	91	9	91	9
PC1	9	5	100	0	100	0	5	6	81	19	83	17
PC2	12	4	100	0	100	0	8	10	32	68	30	70
PC3	6	3	100	0	100	0	5	5	66	34	66	34
PC4	7	3	100	0	100	0	4	4	63	37	63	37
PNC1	11	5	100	0	100	0	7	5	99	1	99	1
PNC2	10	9	100	0	100	0	8	9	74	26	75	25