

1



2



3



# L'indice MPI (Multimetric Phytoplankton Index) per la classificazione del fitoplancton delle acque di transizione

**Emanuele Ponis<sup>1</sup>**, **Chiara Facca<sup>2</sup>**, **Fabrizio Bernardi Aubry<sup>3</sup>**,  
**Giorgi Socal<sup>3</sup>**, **Franco Giovanardi<sup>1</sup>**

[emanuele.ponis@isprambiente.it](mailto:emanuele.ponis@isprambiente.it)



**CReIAMO PA**

Per un cambiamento sostenibile



# La WFD ed il fitoplancton delle acque di transizione

## DIR. 2000/60/CE ALLEGATO V

Parametri da considerare: **Composizione, Abbondanza, Biomassa**

### Definizione dello stato di qualità

Elemento	Stato elevato	Stato buono	Stato sufficiente
Fitoplancton	Composizione e abbondanza dei taxa di fitoplancton conformi alle condizioni inalterate. Biomassa media del fitoplancton conforme alle condizioni fisico-chimiche tipiche specifiche e non tale da alterare significativamente le condizioni di trasparenza tipiche specifiche. Fioriture di fitoplancton con frequenza e intensità conformi alle condizioni fisico-chimiche tipiche specifiche.	Lievi variazioni nella composizione e abbondanza dei taxa di fitoplancton. Lievi variazioni della biomassa rispetto alle condizioni tipiche specifiche. Tali variazioni non indicano nessuna crescita accelerata di alghe tale da provocare un'alterazione indesiderata della composizione equilibrata degli organismi presenti nel corpo idrico o della qualità fisico-chimica dell'acqua. Possibile un lieve aumento della frequenza e intensità delle fioriture di fitoplancton tipiche specifiche.	Composizione e abbondanza dei taxa di fitoplancton che si discostano moderatamente dalle condizioni tipiche specifiche. Biomassa moderatamente alterata, che potrebbe determinare una significativa alterazione indesiderata della condizione di altri elementi di qualità biologica. Possibile un moderato aumento nella frequenza e intensità delle fioriture di fitoplancton. Possibili fioriture persistenti nei mesi estivi.

## DECRETO CLASSIFICAZIONE 60/2010

Frequenza campionamento: **Stagionale (sorveglianza, operativo)**



# Il protocollo di campionamento ISPRA

## EI-Pr-TW-Protocolli Monitoraggio-03.06.



**ISPRA**  
Istituto Superiore per la Protezione  
e la Ricerca Ambientale

Protocolli per il campionamento e la determinazione di  
elementi di qualità biologica e fisico-chimica nell'ambito  
programmi di monitoraggio ex 2000/60/CE delle acque  
transizione

Luglio 2011

EI-Pr-TW-Protocolli Monitoraggio-03.06

### 3.1.7. Parametri da determinare

#### Parametri obbligatori

Per stazione su almeno 400 cellule:

- Composizione e abbondanza specifica del fitoplancton;
- Biomassa totale, come Chl *a*;

#### Parametri opzionali

- Biomassa frazionata: pico (<2µm) nano (2 µm -20 µm) micro (>20 µm) come Chl*a*;
- Dimensioni cellulari (biovolume) mediante analisi d'immagine.

### 3.1.4. Identificazione della strategia di monitoraggio e della griglia spaziale di campionamento

Le stazioni di campionamento devono essere posizionate in maniera da poter evidenziare l'intrinseca variabilità interna all'habitat, sia in relazione al grado di confinamento e alla prossimità al mare aperto, che in relazione agli elementi di pressione antropica eventualmente presenti.

Il campionamento va eseguito sul livello d'acqua superficiale (0.2 - 0.5 m di profondità).

### 3.1.5. Identificazione della griglia temporale di campionamento

Per i corpi idrici di transizione non tidali il campionamento deve essere effettuato in fase di marea uscente, procedendo dalla foce verso il centro laguna o verso il monte fluviale; per i corpi idrici di transizione microtidali il campionamento va effettuato in marea di quadratura.

Sia per il **monitoraggio di sorveglianza** che per il **monitoraggio operativo** è da prevedersi un campionamento stagionale nei mesi di febbraio, maggio, agosto e novembre. La scelta del periodo è subordinata alle condizioni climatiche locali. Qualora il corpo idrico presenti uno stato trofico elevato, si potrà valutare di attuare nei mesi estivi un monitoraggio con frequenza mensile e di utilizzare sistemi di monitoraggio automatici.



# Abbondanza cellulare e Composizione tassonomica

## Metodo Utermöhl (EN 15204:2006)

- ✓ consente il conteggio delle cellule di dimensioni superiori a 2  $\mu\text{m}$
- ✓ presenta importanti limiti per l'identificazione tassonomica delle forme flagellate e/o di dimensione inferiore a 10  $\mu\text{m}$

Microscopio ad inversione 40x, camere di sedimentazione

Nomenclatura aggiornata su Algabase ([www.alagabase.org](http://www.alagabase.org)) e Worms ([www.marinespecies.org](http://www.marinespecies.org))

**N.B. per l'applicazione dell'Indice MPI il conteggio dovrà essere effettuato per transetto o su campi casuali**

**Il conteggio per le specie rare sull'intera camera non consente il corretto calcolo dell'indice**

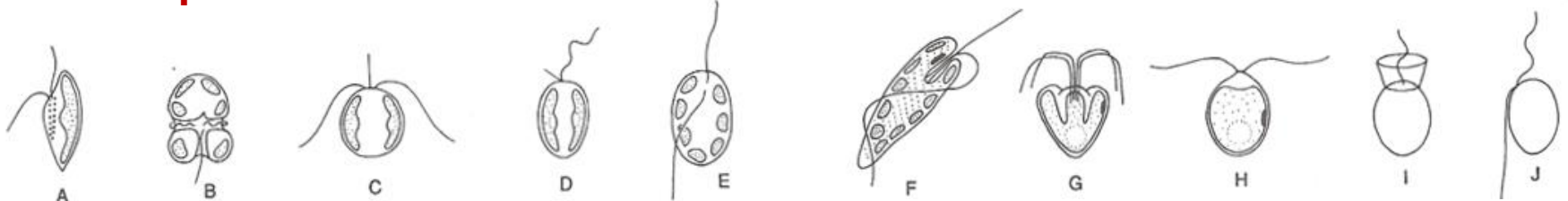


# Composizione tassonomica

Nella compilazione delle liste tassonomiche le forme sferiche di dimensioni attorno ai 5  $\mu\text{m}$  vengono, generalmente indicate come “nanoflagellate” “fitoflagellate” o “altro fitoplancton”. Si propone dicitura comune a tutti **nanoflagellate**.

Tale gruppo non ha alcuna valenza tassonomica perché può includere diverse classi e, quindi numerose specie, tuttavia, rappresenta, spesso, una frazione dominante della comunità fitoplanctonica e gli individui devono comunque essere contati al momento dell'analisi del campione

**Gli individui nanoflagellati vanno inizialmente considerati nel dataset utile al calcolo dell'Indice MPI ma non rientrano nella lista degli organismi identificati a livello specifico utilizzata in fase di calcolo**



# Composizione tassonomica

Nel calcolo delle metriche 1, 2 e 3 è necessario ripulire le liste tassonomiche mantenendo solo i taxa che siano riconducibili alla specie

Voci che non indichino una singola specie vanno eliminate

Sono accettate anche le indicazioni “Cryptophyceae sp. 1” o “Diatomee centriche sp. 1” se l'operatore sa di includere un'unica specie

<i>Achnantes brevipes</i>	YES
<i>Achnanthes longipes</i>	YES
<i>Achnantes microcephala</i>	YES
<i>Achnantes sp.</i>	YES
<i>Und. Euglenophyceae</i>	X
<i>Dictyocha fibula</i>	YES
<i>Dictyocha speculum</i>	YES
<i>Octactis octonaria</i>	YES
<i>Nanoflagellates</i>	X
<i>Und. Cyanophyceae</i>	X

**Attenzione all'uso di sp. e spp.**  
**Includere specie «complex» nel gruppo determinate**



# Composizione tassonomica

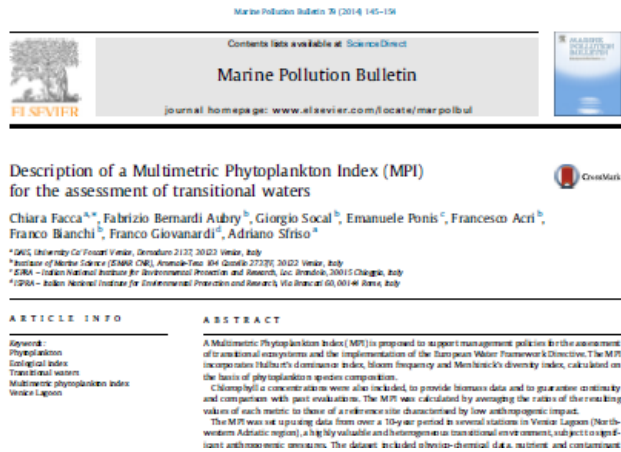
Sebbene possa risultare contraddittorio contare delle cellule per poi eliminarle dalla liste per il calcolo dell'indice, è importante che l'analisi sia fatta su tutta la comunità  $> 2 \mu\text{m}$  per avere una procedura omogenea per tutti gli operatori

Una volta sistemate le liste, sarà necessario ricalcolare il totale, che verrà usato nella formulazione delle prime 3 metriche, escludendo le entità indeterminate descritte in precedenza

Le liste di ciascun campionamento andranno poi ordinate secondo l'abbondanza in modo da individuare le specie dominanti



# Indice multimetrico per il fitoplancton (MPI)



Rispetto alla formulazione originaria dell'indice (Facca et al., 2014), l'indice ha subito modificazioni in fase di intercalibrazione ed a seguito dell'allargamento del dataset utilizzato

L'indice si basa sul calcolo delle seguenti metriche:

1. Prima metrica: indice di dominanza di Hulburt (1963)
2. Seconda metrica: frequenza dei bloom
3. Terza metrica: indice di ricchezza di Menhinick
4. Quarta metrica: clorofilla *a* (media geometrica)





# Prima metrica: indice di dominanza di Hulburt (1963)

**Teoria:** la dominanza di una o due specie sulla comunità fitoplanctonica è un segnale di bassa biodiversità e quindi più facilmente riscontrabile in aree impattate

Si usa l'indice di dominanza di Hulburt secondo la formulazione:

$$\text{Metrica 1} = 100(n_1+n_2)/N$$

$n_1$ : abbondanza della specie dominante

$n_2$ : abbondanza della seconda specie più abbondante

$N$ : abbondanza totale delle specie determinate

Le condizioni ambientali migliori sono individuate dal valore  $100 - \delta$ , che viene usato come score della prima metrica



## Seconda metrica: frequenza dei bloom

La seconda metrica si basa sulla frequenza dei bloom: bisogna contare in un set di dati quante volte in un anno la specie dominante supera il 50% dell'abbondanza totale

### **Metrica 2= 100-Frequenza di bloom**

Esempio in tabella:

STAZIONE Y ANNO X	primavera		estate		autunno		inverno	
	cell/L	%	cell/L	%	cell/L	%	cell/L	%
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	25000	29			5000	12	25000	9
<i>Chaetoceros minimus</i>			50000	29	8000	19	20000	7
<i>Guinardia</i> sp.	15000	18	40000	24	25000	58	30000	11
<i>Pseudonitzschia galaxiae</i>			50000	29	5000	12		
<i>Skeletonema marinoi</i>	45000	53	30000	18			200000	73
TOT	85000		170000		43000		275000	

3 campioni su 4 supera il 50% del totale perciò la frequenza del bloom per la stazione A é pari al 25%



## Terza metrica: indice di ricchezza di Menhinick

La terza metrica é la seguente:

$$\text{Metrica 3} = S/\sqrt{N}$$

S : numero di specie e N: abbondanza totale delle specie determinate

A fronte dell'eliminazione delle forme indeterminate è introdotto un fattore di correzione:

$$\text{Determinate} / (\text{determinate} + \text{indeterminate})$$

per cui l'indice di ricchezza va moltiplicato



## Quarta metrica: clorofilla *a*

### **Metrica 4= media geometrica chla (ISO 10260)**

Il dataset va ripulito dalla presenza di eventuali outliers:

- I dati di clorofilla *a* in  $\mu\text{g l}^{-1}$  per ciascuna stazione devono essere trasformati secondo la seguente formula:

$$\log_{10}(\mu\text{g chla l}^{-1})$$

- Si calcolano la media e la deviazione standard dei dati logaritmici per ciascuna stazione; quindi si eliminano gli outliers che risultino essere:

maggiori del valore  $\text{media} + 2.5 \cdot \text{dev.std}$

minori del valore  $\text{media} - 2.5 \cdot \text{dev.std}$

- Si ricalcola la media ( $m$ ) sul nuovo dataset (senza gli outliers) e la si trasforma nell'antilogaritmo secondo la formula:

$$10^m$$



# Indice multimettrico per il fitoplancton (MPI): score

Ecological Quality Ratio:

valore osservato vs. condizioni di riferimento

Per 100-Hulburt (1), 100-Frequenza (2) e Indice di Menhnick (3)

**EQR: valore osservato/valore di riferimento**

Per clorofilla *a*

**EQR: valore di riferimento/valore osservato**

**MPI = media dei 4 EQRs**



# Indice multimetrico per il fitoplancton (MPI)

## NOTA BENE:

- ✓ l'indice MPI può essere adottato per classificare corpi idrici per i quali siano disponibili 1 campionamento per stagione (in accordo con il Decreto 260/10) in almeno un anno di monitoraggio
- ✓ Poiché i valori di riferimento sono una media delle migliori condizioni osservate, può capitare che aree di particolare pregio abbiano valori maggiori. In questo caso gli EQR vanno riportati al valore max di 1



# Tipizzazione e condizioni di riferimento

Lagune poli-eualine confinate (tipologia **Choked\***)

Laguna poli-eualine non confinate (tipologia **Restricted\***)

In linea di massima:

lagune confinate → lagune non tidali e lagune microtidali mesoaline

lagune non confinate → lagune microtidali poli-eualine

Alcune eccezioni per lagune microtidali di grandi dimensioni

No cond. rif. per le tipologie C.I. oligoalini e iperalini per le quali sia al livello nazionale che a livello di Macroregione Geografica di Intercalibrazione (MedGIG) non esistono dataset consistenti

**\*Kjerfve and Magill, 1989. GEOGRAPHIC AND HYDRODYNAMIC CHARACTERISTICS OF SHALLOW COASTAL LAGOONS. Mar. Geol. 88:187-199**



# Condizioni di riferimento: Dataset utilizzato

Periodo:

2008 – 2012

Regioni:

Veneto, Emilia Romagna,  
Puglia (dati SINTAI-ARPA),  
Sardegna (dati Università  
Sassari)

Totale record

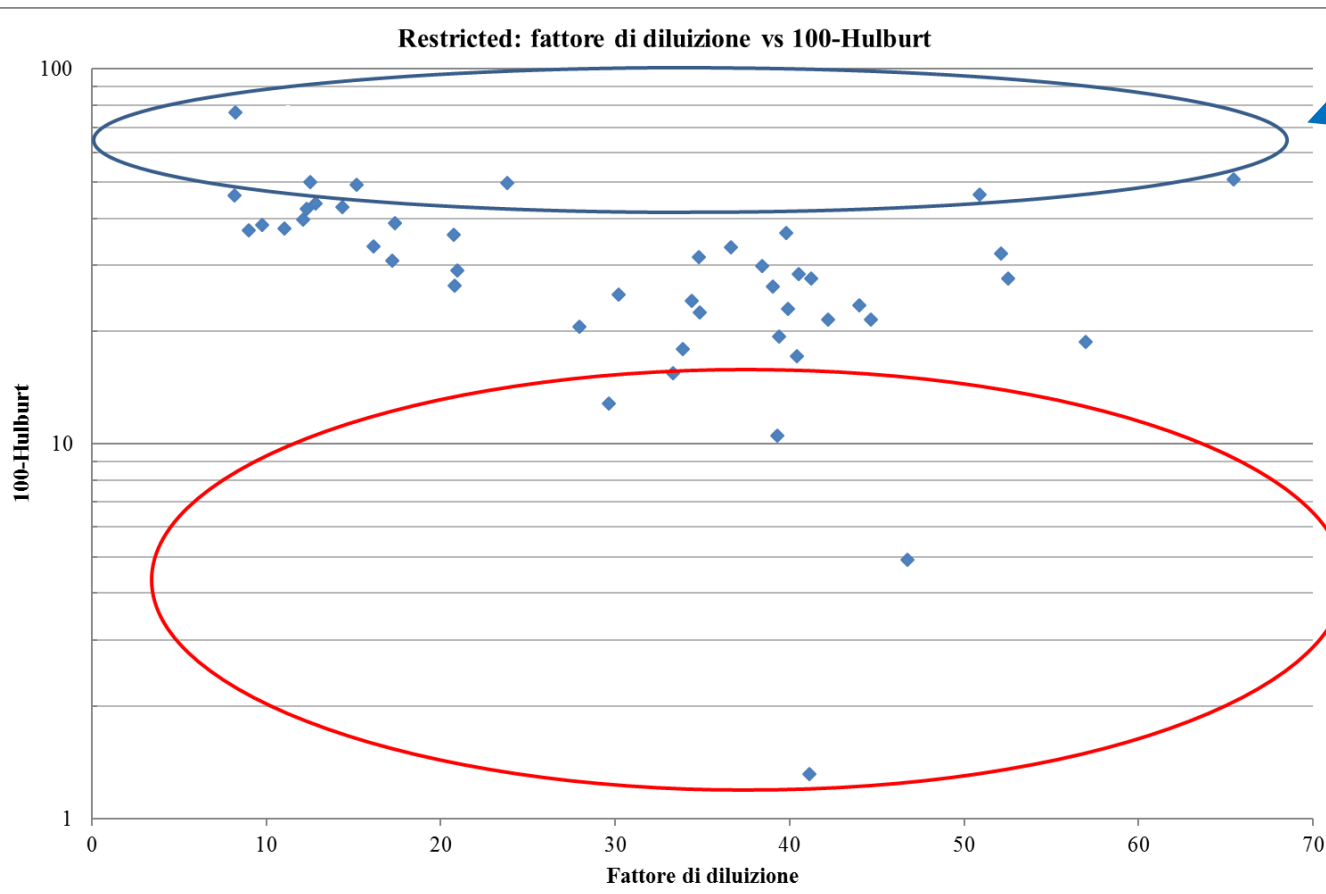
102 (almeno 4 camp. stag.)





# Condizioni di riferimento: calcolo dei boundary

Fattore di diluizione adottato come proxy di pressione



**Condizioni di riferimento:**  
media degli estremi  
migliori pari a 50

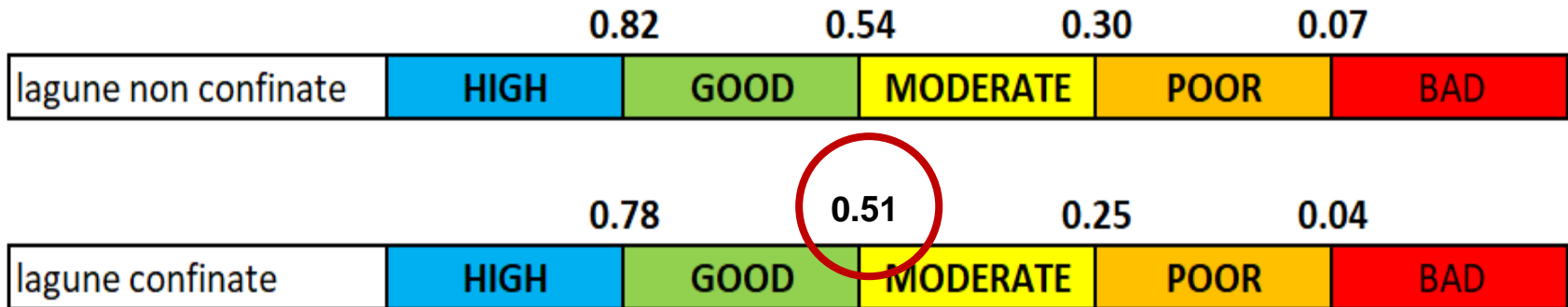
**Limite della classe POOR/BAD:**  
media degli estremi  
peggiori pari a 2.4



# Condizioni di riferimento: calcolo dei boundary

	Lagune non-confinatate	Lagune confinate
Hulburt	50	50
Frequenza	80	80
Diversità	0.007	0.012
Clorofilla	0.80	1.00

**MPI = Media degli EQR delle 4 metriche**



**In corso di intercalibrazione questo valore è stato modificato in 0.51**



# Condizioni di riferimento: calcolo dei boundary

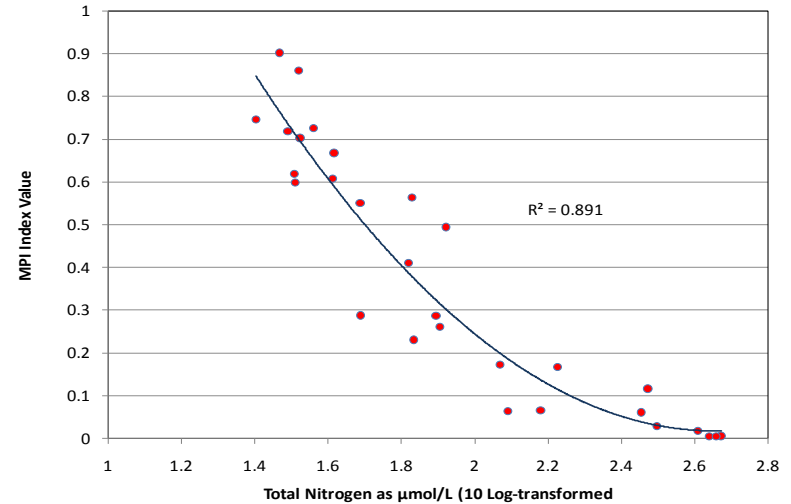
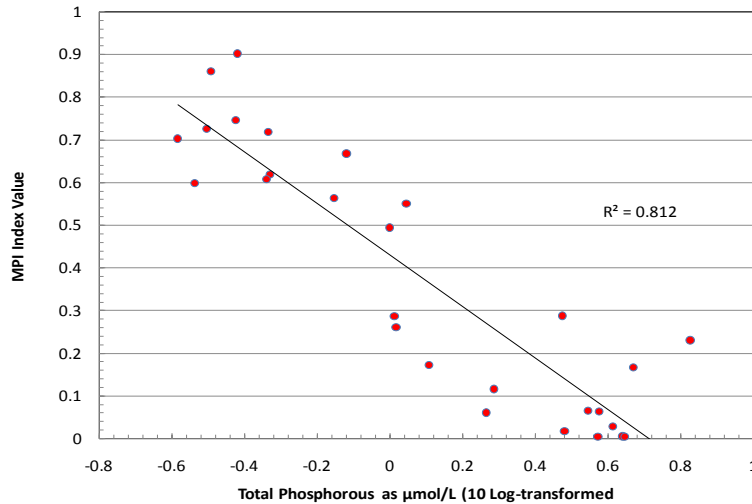
Dato che ciascuna metrica dispone di soglie specifiche per tipologia i C.I. è possibile utilizzare tali valori per una interpretazione degli score complessivi del MPI, per valutare come un dato valore complessivo dell'indice sia influenzato dalle diverse metriche

	lagune non confinate				lagune confinate			
	metrica 1	metrica 2	metrica 3	metrica 4	metrica 1	metrica 2	metrica 3	metrica 4
<b>H/G</b>	0.88	0.83	0.86	0.73	0.80	0.80	0.83	0.67
<b>G/M</b>	0.60	0.57	0.59	0.40	0.55	0.55	0.56	0.29
<b>M/P</b>	0.32	0.31	0.33	0.22	0.30	0.30	0.28	0.13
<b>P/B</b>	0.05	0.04	0.06	0.12	0.04	0.04	0.04	0.05

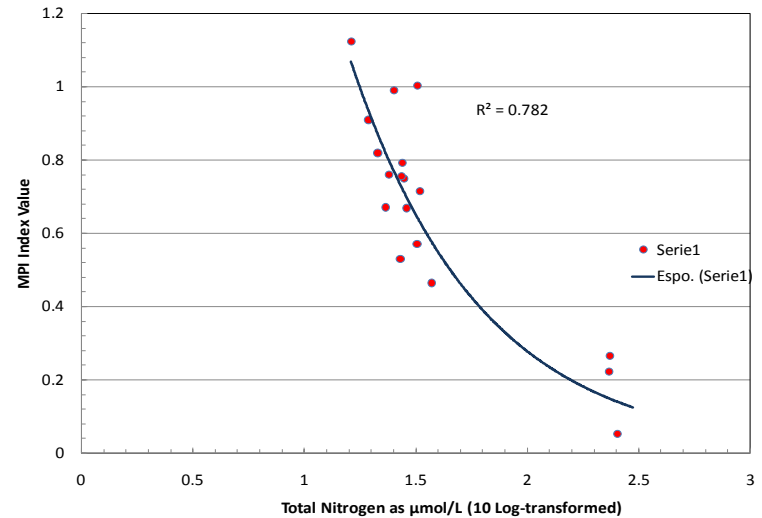
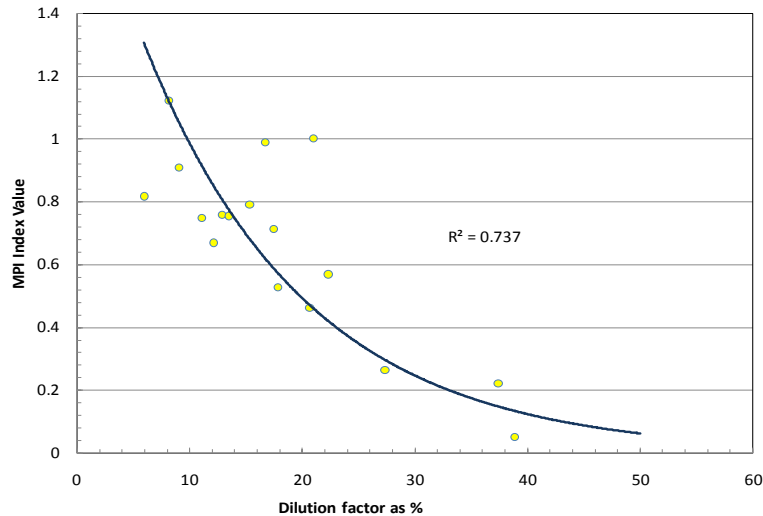


# MPI: sensibilità nei confronti delle pressioni

CHOKED



RESTRICTED



# Intercalibrazione MPI: fase 2

I FASE 2003-2008 II FASE 2009-2012 III FASE 2013-2016

Solo IT e FR hanno partecipato all'esercizio (metodo finalizzato, disponibilità dei dati)

Tipologie intercalibrate: C.I. Poli-Eu confinati (Chocked) e non confinati (Restricted). Dati estivi. **Chl. a** come metrica comune

Dai risultati del processo di verifica è risultato che le differenze tra boundaries delle classi G/M tra gli indici IT e FR risultano maggiori del valore tollerato ( $\pm 0.25$  classe equivalente) e pertanto si rendeva necessaria un'armonizzazione

Table 3. Timetable of the intercalibration - Phase 2.

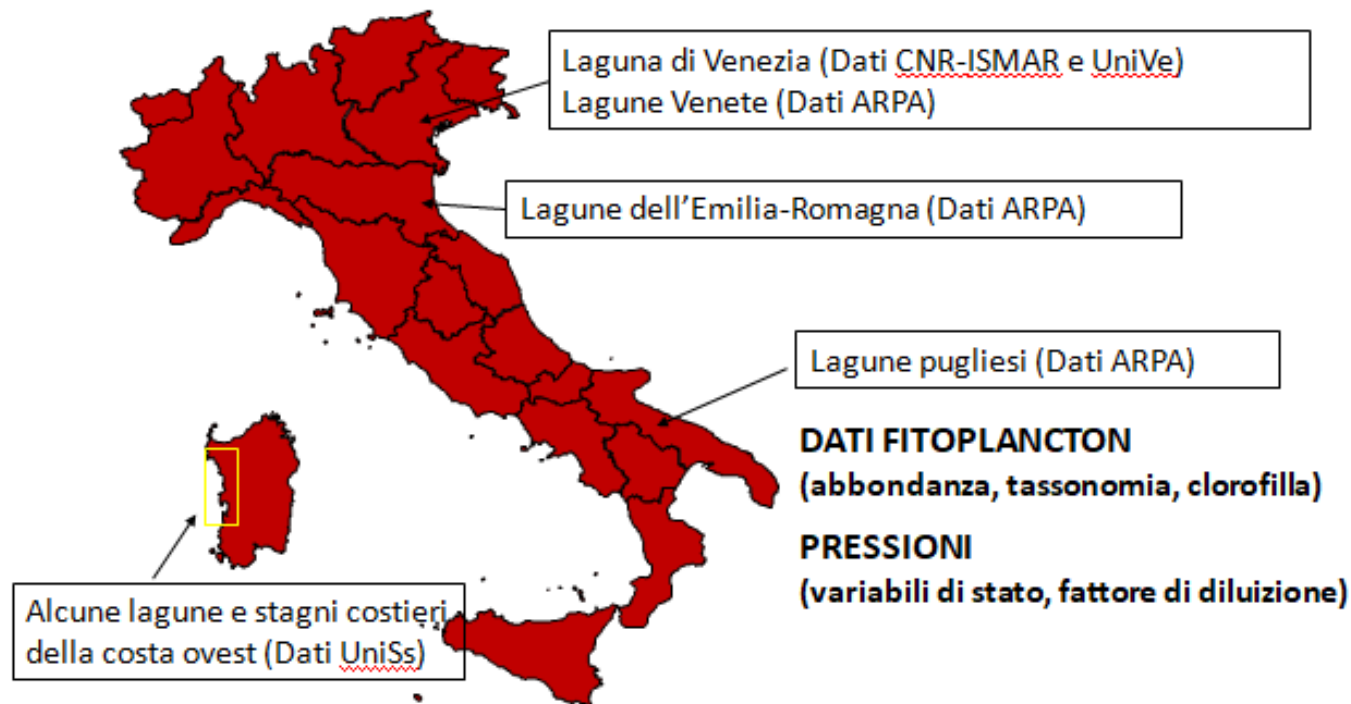
Steps of the Intercalibration	2009	2010 Jan-Jun	2010 Jul-Dec	2011 Jan-Jun	2011 Jul-Dec	2012 Jan-Jun
Test preconditions						
- Apply criteria for WFD compliance						
- Apply criteria for IC feasibility						
Report to WG ECOSTAT Oct 2009	Milestone 1					
Collect IC dataset						
Design IC working procedure						
Select IC option, develop common metric						
Report to WG ECOSTAT Apr 2010		Milestone 2				
Define benchmarks (Q6)						
Compare/propose class boundaries						
Report to WG ECOSTAT Oct 2010			Milestone 3			
Boundary harmonisation						
Report to WG ECOSTAT Apr 2011				Milestone 4		
Submit final IC reports						
Final report to WG ECOSTAT Jun 2011					Milestone 5	
Formal adoption of IC results, Final report						IC Report



# Intercalibrazione MPI: fase 3

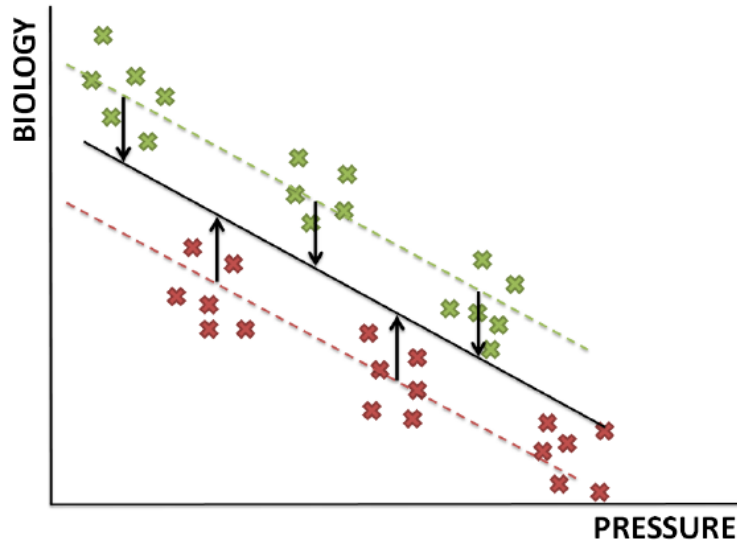
- ✓ Sopraggiunti cambiamenti nella formulazione degli indici
- ✓ Allargamento dataset
- ✓ Allargamento dei paesi partecipanti (**ITA, FR, GR, HR, ES**)
- ✓ Medesime tipologie C.I.

**DATI ESTIVI: 4 regioni, 19 corpi idrici, 50 stazioni. Dati 2008-2010**



# Intercalibrazione MPI: fase 3

Verifica dei boundaries: Continuous benchmarking (Birk et al., 2013)



Unificazione del dataset



Verifica sensibilità alle pressioni



Applicazione di GLM



Valori di offset (da considerare nello step seguente)



Verifica delle deviazioni dai valori di boundaries H/G e G/M. Se le differenze rispetto al modello >0.25 classe equivalente è necessaria armonizzazione

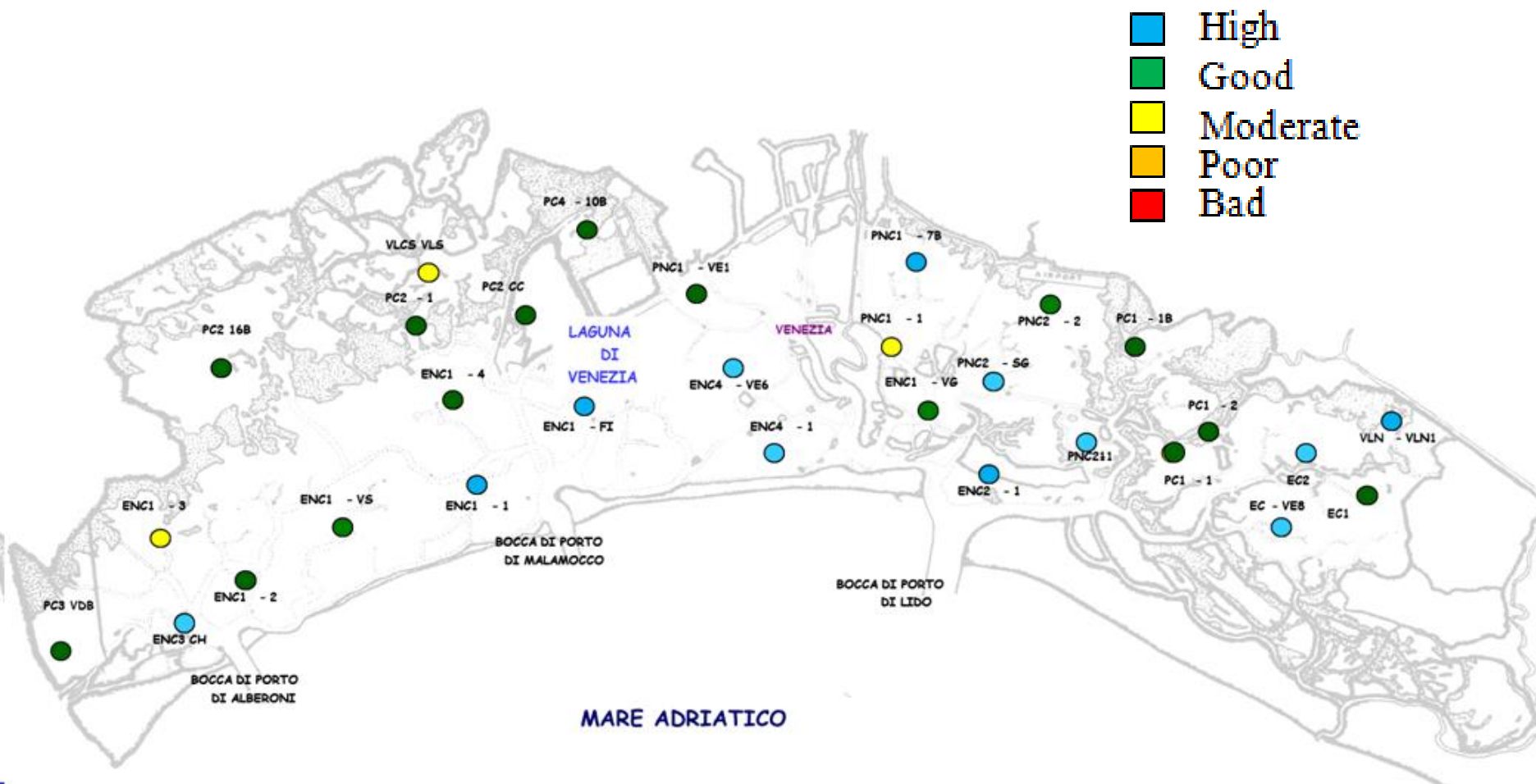
Dai risultati del processo di verifica è risultato necessario un aggiustamento del valore di boundary G/M per la tipologia “chocked” da 0.49 a 0.51

Chocked	High	Good	Moderate	Poor	Bad
FR EQR	1 - 0.71	0.71 - 0.39	0.39 - 0.24	0.24 - 0.10	< 0.10
IT EQR	1 - 0.78	0.78 - 0.49	0.49 - 0.25	0.25 - 0.04	< 0.04

Restricted	High	Good	Moderate	Poor	Bad
FR EQR	1 - 0.71	0.71 - 0.39	0.39 - 0.24	0.24 - 0.10	< 0.10
IT EQR	1 - 0.82	0.82 - 0.54	0.54 - 0.30	0.30 - 0.07	< 0.07

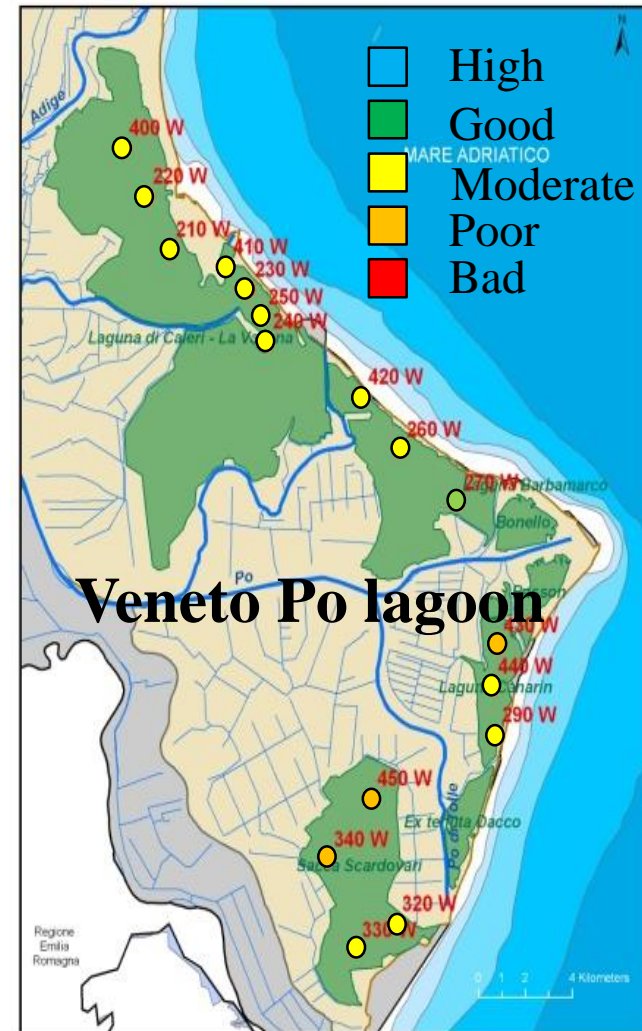
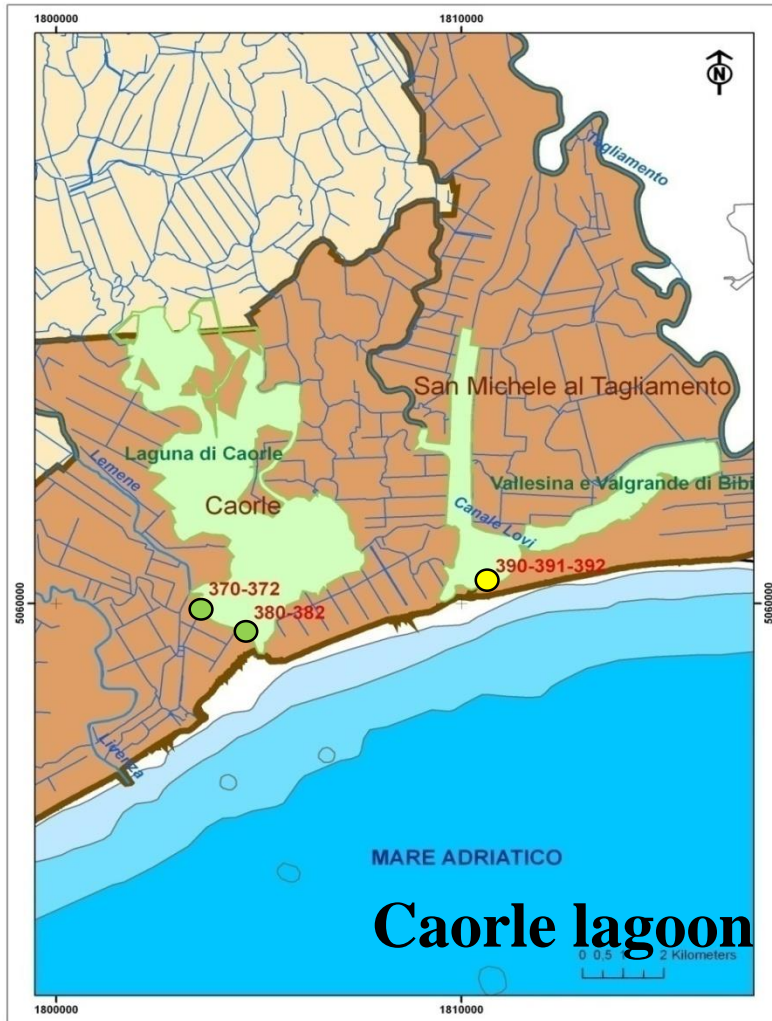


# Applicazione del MPI: qualche risultato

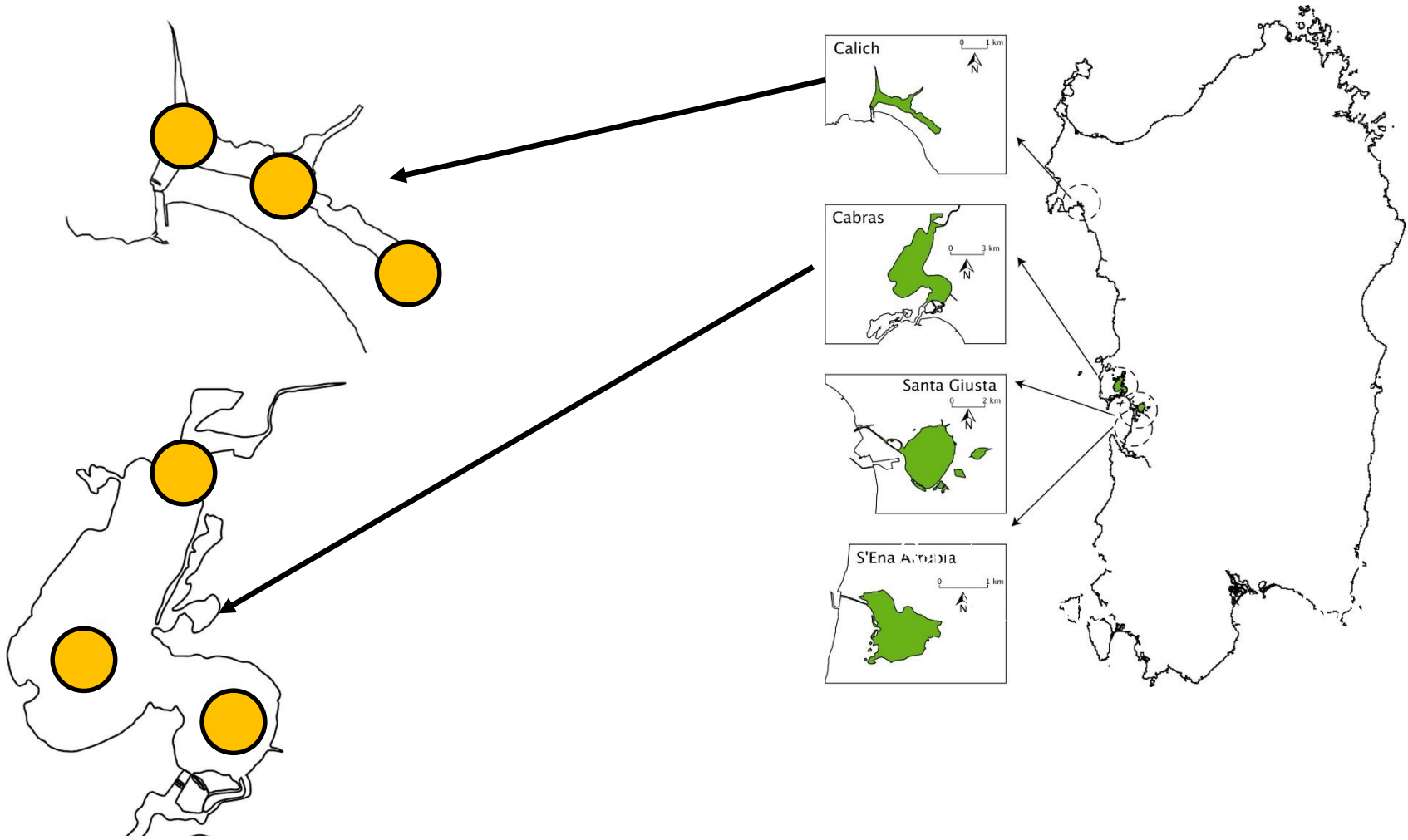




# Applicazione del MPI: qualche risultato



# Applicazione del MPI: qualche risultato



# Linea guida per l'applicazione del MPI disponibile. su SINTAI

