



MINISTERO DELL'AMBIENTE  
E DELLA TUTELA DEL TERRITORIO E DEL MARE

# Programmi di Monitoraggio per la Strategia Marina

Art. 11, D.lgs. 190/2010

## **SCHEDE METODOLOGICHE**

per l'attuazione delle Convenzioni stipulate tra  
**Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare**  
e  
**Agenzie Regionali per la protezione dell'Ambiente**  
nel dicembre 2014

(elaborate in collaborazione con  
Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale)

**AGGIORNAMENTO FEBBRAIO 2017**

**(QUESTA VERSIONE SOSTITUISCE TUTTE QUELLE PRECEDENTI)**

# MODULO 3

## Specie non indigene

*Elenco dei parametri da determinare in ciascuna stazione di campionamento, relativo strumento di indagine e metodologia di riferimento*

	<b>Parametro</b>	<b>Strumento di indagine</b>	<b>Metodologia di riferimento</b>
<b>Variabili chimico-fisiche</b>	Temperatura	Sonda multiparametrica	Metodo come da DM 260/2010: Metodologie analitiche di riferimento ICRAM-MATTM per il controllo dell'ambiente marino costiero (triennio 2001-2003)
	Salinità		
	Trasparenza	Disco di Secchi	
<b>Composizione qualitativa delle comunità fitoplanctoniche</b>	Elenco delle specie e abbondanza relativa	Microscopio ottico invertito	<b>Scheda 3.1</b>
<b>Composizione qualitativa delle comunità mesozooplanctoniche</b>		Stereomicroscopio	
<b>Composizione qualitativa delle comunità bentoniche</b>		Stereomicroscopio e/o Microscopio ottico	<b>Scheda 3.2</b>

# Scheda 3.1

## Composizione quali-quantitativa delle comunità fitoplanctoniche e mesozooplanctoniche

### FINALITÀ

La presente scheda ha lo scopo di illustrare le procedure per la determinazione della composizione sia qualitativa sia quantitativa delle comunità fitoplanctoniche e zooplanctoniche in aree potenzialmente a rischio di introduzione di specie non indigene, quali terminali portuali di categoria 2, classe 1 o impianti di acquacoltura, e in aree di riferimento (preferibilmente Aree Marine Protette).

### CRITERI PER IL POSIZIONAMENTO DELLE AREE D'INDAGINE E DELLE STAZIONI DI CAMPIONAMENTO

#### Aree portuali

Nei terminali portuali di categoria 2 classe 1 selezionati deve essere individuato un numero di aree di indagine compreso tra 1 e 5, in funzione delle dimensioni della struttura. All'interno di ciascuna area d'indagine, il campionamento deve essere eseguito in 2 stazioni di campionamento.

Le aree di indagine devono essere individuate tenendo in considerazione la posizione delle zone interessate dalle operazioni navali che possono essere connesse al rischio di introduzione di specie non indigene (NIS), in particolare:

- Zone di attracco dove avviene il carico e lo scarico delle merci;
- Aree dove le acque di zavorra vengono scaricate.

Il posizionamento delle aree di indagine deve avvenire tenendo conto anche delle seguenti informazioni:

- caratteristiche del traffico portuale (disponibili presso le Autorità Portuali);
- inquadramento ambientale dell'area in esame;
- condizioni idrodinamiche rilevate all'interno del porto e lo scambio di acqua fra porto e aree circostanti.

Le aree d'indagine devono essere posizionate, in via preferenziale, all'interno del porto nei punti in cui, sulla base delle suddette informazioni, vi sia la massima probabilità di rinvenire specie non indigene.

#### Impianti di acquacoltura

Negli impianti di acquacoltura il campionamento deve essere eseguito in 2 stazioni di campionamento scelte secondo i seguenti criteri:

- una stazione di "impatto", in corrispondenza del punto di scarico dell'impianto costiero o in corrispondenza del modulo di allevamento per gli impianti offshore;
- una stazione di "influenza", posto a 100 metri dalla stazione di "impatto" localizzata in funzione delle caratteristiche dell'idrodinamismo locale.

### **Aree Marine Protette (AMP)**

Il campionamento deve essere eseguito in 2 stazioni di campionamento posizionate in aree in cui è consentita tale attività. Le 2 stazioni devono essere posizionate in 2 distinte zone dell'AMP, possibilmente sottoposte a diverso regime di tutela.

In tutti i casi, la localizzazione delle stazioni di campionamento deve essere registrata tramite coordinate GPS (gradi e millesimi; GG,GGGGG°) in WGS 84 UTM 32.

## **RILEVAMENTO DEI PARAMETRI NELLE STAZIONI DI CAMPIONAMENTO**

### **Parametri abiotici**

In ciascuna stazione di campionamento devono essere rilevati i dati di temperatura e salinità lungo la colonna d'acqua, acquisiti con l'utilizzo di sonda multiparametrica e il dato di trasparenza dell'acqua valutato con il disco di Secchi.

## **CAMPIONAMENTO E DETERMINAZIONE TASSONOMICA DELLE COMUNITÀ**

### **Fitoplancton**

Il campionamento della componente fitoplanctonica viene effettuato in ogni stazione sia con retino sia utilizzando la bottiglia Niskin.

Per la retinata viene utilizzato un retino con vuoto di maglia pari a 20  $\mu\text{m}$ . Nella stazione viene effettuata una calata verticale dal fondo alla superficie. Il retino deve essere sciacquato con acqua di mare al fine di recuperare tutto il campione. Un subcampione della retinata del volume pari a 250 ml deve essere trasferito in una bottiglia di vetro scuro opportunamente etichettata e conservato a bassa temperatura. Il subcampione deve essere fissato con soluzione di Lugol e la successiva analisi qualitativa della comunità fitoplanctonica deve essere effettuata utilizzando il metodo di Utermöhl.

Il prelievo con bottiglia Niskin viene eseguito alla profondità di -0,5 m e un subcampione viene trasferito successivamente in una bottiglia di vetro scuro opportunamente etichettata e conservato a bassa temperatura. Il subcampione deve essere fissato con soluzione di Lugol e la successiva analisi quali-quantitativa della comunità fitoplanctonica deve essere effettuata utilizzando il metodo di Utermöhl.

### **Zooplancton**

Il campionamento viene effettuato attraverso pescate verticali tramite un retino con vuoto di maglia pari a 200  $\mu\text{m}$ , a partire da un metro al di sopra del fondale fino alla superficie. Laddove, sulla base delle informazioni ambientali dell'area in esame, sia desumibile che il range dimensionale dello zooplancton presente sia inferiore ai 200  $\mu\text{m}$  può essere utilizzato un retino con vuoto di maglia inferiore a 200  $\mu\text{m}$ . La velocità di recupero del retino deve essere approssimativamente 1 m s<sup>-1</sup>.

Il campione deve essere fissato a bordo e preferibilmente analizzato entro due settimane.

Nel caso in cui sia necessario dover conservare il campione per più di due settimane, al campione in acqua di mare deve essere aggiunta formalina (formaldeide in soluzione acquosa al 37–38%), tamponata con tetraborato di sodio in modo da ottenere una soluzione al 4%. Durante tutte le operazioni di utilizzo della formalina, sia a bordo sia in laboratorio, devono essere adottate tutte le misure di sicurezza previste a tutela

dell'operatore. Negli altri casi può essere utilizzato, invece della formalina, uno dei seguenti fissativi: etanolo al 70%, isopropanolo al 40%, acido picrico o acido acetico. Dal momento che questi fissativi tendono generalmente a rendere più duro e fragile il corpo degli organismi devono essere aggiunti additivi come propilene fenossietolo e propilene glicerolo (dal 2 al 5 %). È buona norma riportare sull'etichetta applicata alla bottiglia campione anche i dati relativi ai fissativi utilizzati.

La determinazione tassonomica della componente fito-zooplanctonica deve prioritariamente raggiungere il livello specifico.

## Scheda 3.2

# Composizione quali-quantitativa delle comunità bentoniche (di fondo mobile e/o di fondo duro)

### FINALITÀ

La presente scheda ha lo scopo di illustrare le procedure per la determinazione della composizione quali-quantitativa delle comunità bentoniche in aree potenzialmente a rischio di introduzione di specie non indigene, quali terminali portuali di categoria 2, classe 1 o impianti di acquacoltura, e in aree di riferimento (preferibilmente Aree Marine Protette)

### CRITERI PER IL POSIZIONAMENTO DELLE AREE D'INDAGINE E DEI SITI DI CAMPIONAMENTO

#### Aree portuali

Nei terminali portuali di categoria 2 classe 1 selezionati deve essere individuato un numero di aree di indagine compreso tra 1 e 5, in funzione delle dimensioni della struttura. All'interno di ciascuna area d'indagine, il campionamento deve essere eseguito in 2 siti di campionamento.

Le aree di indagine devono essere individuate tenendo in considerazione la posizione delle zone interessate dalle operazioni navali che possono essere connesse al rischio di introduzione di specie non indigene (NIS), in particolare:

- Zone di attracco dove avviene il carico e lo scarico delle merci;
- Aree dove le acque di zavorra vengono scaricate.

Il posizionamento delle aree di indagine deve avvenire tenendo conto anche delle seguenti informazioni:

- caratteristiche del traffico portuale (disponibili presso le Autorità Portuali);
- inquadramento ambientale dell'area in esame;
- condizioni idrodinamiche rilevate all'interno del porto e lo scambio di acqua fra porto e aree circostanti.

Le aree di indagine devono essere posizionate, in via preferenziale, all'interno del porto nei punti in cui, sulla base delle suddette informazioni, vi sia la massima probabilità di rinvenire eventuali specie non indigene.

All'interno dell'area d'indagine, uno dei due siti di campionamento deve essere posizionato su substrato duro.

#### Impianti di acquacoltura

Negli impianti di acquacoltura il campionamento deve essere eseguito in 2 siti scelti secondo i seguenti criteri:

- un sito di "impatto", in corrispondenza del modulo di allevamento;

- un sito di “influenza”, posto a 100 metri dal sito di “impatto” localizzato in funzione delle caratteristiche dell’idrodinamismo locale.
- All’interno dell’area d’indagine, i due siti di campionamento devono essere posizionati su substrato mobile.

### **Aree Marine Protette**

Il campionamento deve essere eseguito in 2 siti posizionati in aree in cui è consentita tale attività. I 2 siti devono essere posizionate in 2 distinte zone dell’AMP, sottoposte a diverso regime di tutela.

In tutti i casi, la localizzazione dei siti di campionamento deve essere registrata tramite coordinate GPS (gradi e millesimi; GG,GGGGG°) in WGS 84 UTM 32.

## **RILEVAMENTO DEI PARAMETRI NEI SITI DI CAMPIONAMENTO**

### **Parametri abiotici**

In ciascun sito di campionamento devono essere rilevati i dati di temperatura e salinità lungo la colonna d’acqua, acquisiti con l’utilizzo di sonda multiparametrica e il dato di trasparenza dell’acqua valutato con il disco di Secchi.

## **CAMPIONAMENTO E DETERMINAZIONE TASSONOMICA DELLE COMUNITÀ BENTONICHE**

### **Campionamento su substrato duro**

In ciascun sito il campionamento deve essere effettuato lungo 3 transetti verticali, distanti tra loro approssimativamente 15 metri, su strutture preesistenti opportunamente identificate (ormeggi, pontili, piloni, banchine).

In corrispondenza di ogni transetto devono essere posizionate 2 stazioni di campionamento poste a diverse profondità. Il campionamento viene realizzato tramite l’impiego di un operatore subacqueo, utilizzando la tecnica del grattaggio. Tale tecnica consiste nel rimuovere accuratamente, in ogni stazione, tutti gli organismi presenti, sia macrozoobentonici sia macroalgali, all’interno del quadrato di campionamento di superficie pari a 0.1 m<sup>2</sup> per mezzo di una piccozza e/o di uno scalpello e un mazzuolo e/o di una spatola.

Gli organismi rimossi da ciascun quadrato vanno raccolti in un sacchetto e costituiscono il campione da sottoporre ad analisi quali-quantitativa.

In aggiunta, e in via sperimentale, il campionamento può essere effettuato attraverso l’utilizzo di substrati artificiali secondo le modalità descritte nell’Appendice allegata alla presente scheda.

I campioni devono essere conservati nella loro interezza in appositi contenitori etichettati e devono essere fissati con formalina. La fissazione dei campioni viene effettuata utilizzando formalina (formaldeide in soluzione acquosa al 37–38%) tamponata con tetraborato di sodio; al campione in acqua di mare viene aggiunta formalina in modo da ottenere una soluzione al 4%. Le operazioni di fissazione devono avvenire in ambienti forniti delle dovute attrezzature di sicurezza (tanto sulle imbarcazioni quanto in laboratorio) previste a tutela dell’operatore.

In alternativa, per la sola componente macrozoobentonica, può essere utilizzato uno dei seguenti fissativi: etanolo al 70%, isopropanolo al 40%, acido picrico o acido acetico. Dal momento che questi fissativi tendono generalmente a rendere più duro e fragile il corpo

degli organismi devono essere aggiunti additivi come propilene fenossietolo e propilene glicerolo (dal 2 al 5 %). È buona norma riportare sull'etichetta applicata alla bottiglia campione anche i dati relativi ai fissativi utilizzati.

Nell'impossibilità di fissare il campione appena questo sia stato raccolto lo stesso deve essere conservato in acqua di mare fino all'arrivo in laboratorio e comunque fissato entro poche ore.

### **Campionamento su substrato mobile**

In ciascun sito, il campionamento deve essere effettuato lungo 3 transetti, disposti secondo il gradiente batimetrico, se presente, e posizionati ad una distanza reciproca compresa tra 15 e 30 metri. Lungo ogni transetto il campionamento deve essere effettuato, mediante l'impiego della benna, in 2 stazioni posizionate ad una distanza reciproca compresa tra 15 e 30 metri. In ogni stazione deve essere prelevato un campione di macrozoobenthos da sottoporre ad analisi quali-quantitativa. I dati andranno restituiti per singola stazione.

La metodologia di raccolta e analisi dei campioni di macrozoobenthos è riportata in *Metodologie analitiche di riferimento ICRAM-MATTM per il controllo dell'ambiente marino costiero (triennio 2001–2003)*, come di seguito modificata:

- la benna per il campionamento deve essere una Van Veen standard con superficie di presa pari a  $0.1 \text{ m}^2$  e volume pari a 17 litri;
- la bennata deve raccogliere un volume minimo pari almeno al 50% del volume totale della benna per i campionamenti in corrispondenza di fondali con sedimenti sabbiosi e pari almeno al 75% del volume totale della benna per i campionamenti in corrispondenza di fondali fangosi;
- il setaccio per la separazione degli organismi macrozoobentonici dal sedimento deve avere maglia di 1 mm.
- il campione deve essere preferibilmente fissato a bordo con formalina. La fissazione dei campioni viene effettuata utilizzando formalina (formaldeide in soluzione acquosa al 37–38%) tamponata con tetraborato di sodio; al campione in acqua di mare viene aggiunta formalina in modo da ottenere una soluzione al 4%. Le operazioni di fissazione devono avvenire in ambienti forniti delle dovute attrezzature di sicurezza (tanto sulle imbarcazioni quanto in laboratorio) previste a tutela dell'operatore. In alternativa può essere utilizzato uno dei seguenti fissativi: etanolo al 70%, iso propanolo al 40%, acido picrico o acido acetico. Dal momento che questi fissativi tendono generalmente a rendere più duro e fragile il corpo degli organismi devono essere aggiunti additivi come propilene fenossietolo e propilene glicerolo (dal 2 al 5 %). È buona norma riportare sull'etichetta applicata alla bottiglia campione anche i dati relativi ai fissativi utilizzati.
- il campione raccolto va analizzato entro due settimane. Nell'impossibilità di fissare il campione a bordo lo stesso deve essere conservato in acqua di mare fino all'arrivo in laboratorio e comunque fissato in formalina entro poche ore.

### **Analisi dei campioni biologici**

La determinazione tassonomica della componente macrobentonica, sia di substrato duro sia di substrato mobile, comprensiva delle specie non-indigene deve arrivare al livello di specie ogni qualvolta sia possibile.

L'abbondanza delle macroalghe su substrato duro deve essere valutata come proiezione ortogonale di ogni specie ed espressa come percentuale di copertura rispetto al quadrato di



campionamento, di superficie pari a  $0.1 \text{ m}^2$ . Nel caso di specie che mostrano percentuale di copertura  $<1\%$ , l'abbondanza può essere considerata trascurabile e le specie elencate solo come presenza.

Per le specie macrozoobentoniche le abbondanze relative sono espresse come numero di individui per  $\text{m}^2$ , su fondo duro, e numero di individui rinvenuti nel campione su fondo mobile.

**Indici o parametri da calcolare/rilevare:**

- elenco delle specie macroalgali e relative abbondanze
- elenco delle specie macrozoobentoniche e relative abbondanze