

BIOMONITORAGGIO DEL FIUME NATISONE NEL TRATTO COMPRESO NEL COMUNE DI MANZANO

1. Obiettivo generale e obiettivi specifici

Con questo progetto di ricerca ci si propone di stimare lo stato di qualità delle acque del fiume Natisone nel tratto compreso nel territorio del Comune di Manzano. In particolare si vuole valutare l'impatto degli impianti di depurazione presenti lungo il corso oggetto del presente studio. Il lavoro di ricerca si basa sull'analisi, sia qualitativa che quantitativa della comunità di ostracodi non marini Recenti (Crustacea: Ostracoda) e alle interrelazioni che associano questi organismi alle caratteristiche chimico-fisiche delle acque e delle matrici collegate. In effetti, nella valutazione dell'efficienza di un impianto di depurazione, le analisi fisico-chimiche sono in grado di fornire dei dati quantitativi precisi ma non strettamente riferibili alla biologia dei fanghi (es. COD), oppure significativi ma poco precisi (es. BOD) (Germozzi, 1987).

Di conseguenza, con questo progetto di ricerca ci si propone di:

- analizzare come si modifica la qualità delle acque all'interno dell'area di studio;
- rilevare nell'area di studio i pattern di distribuzione, le caratteristiche ecologiche e biogeografiche degli ostracodi non marini Recenti;
- valutare se esistono associazioni significative tra le caratteristiche ambientali e la composizione dell'ostracodofauna.

2. Area di studio

Il fiume Natisone è caratterizzato da un bacino totale di 322 kmq, nasce a 415 metri sul livello del mare e deriva dalla confluenza del Rio Bianco e del Rio Nero che scendono dalle falde del Monte Maggiore e dal Gabrovig. Il corso d'acqua a regime torrentizio scorre in direzione sud-est attraversando valli profondamente incise e terreni prevalentemente marnosi, a tratti calcarei. A sud di Cividale inizia il corso più caratteristico e selvaggio del fiume che entra nella caratteristica forra, poi la sponda si abbassa fino a Manzano, ai ponti della linea ferroviaria Udine-Trieste e alla SS 56 e dopo un percorso di circa 32 Km confluisce con il Torre (http://www.natisone.it/0_store/natisone/natisone01.htm).

L'area oggetto di questa ricerca comprende il tratto del fiume Natisone compreso nel comune di Manzano (provincia di Udine). Questo tratto è di grande importanza dal punto di vista ambientale dato che è caratterizzato dalla presenza di una imponente area altamente popolata e da due principali impianti di depurazione in località Case e Capoluogo.

Oltre ai siti di campionamento presenti sul fiume Natisone, nel corso di questo lavoro è stata considerata anche una stazione di campionamento sul torrente Manganizza che raccoglie gli scarichi provenienti dall'area industrializzata.

3. Stato dell'arte

Il monitoraggio delle alterazioni ambientali è una delle problematiche più complesse nel campo della salvaguardia e della gestione delle risorse naturali. La tutela dell'ambiente presuppone l'adozione e lo sviluppo continuo di nuovi metodi per l'identificazione delle diverse forme di inquinamento e la conoscenza delle cause del degrado e dell'inquinamento nelle sue differenti manifestazioni (Paoletti et al., 1998).

Il monitoraggio dell'inquinamento è una metodologia complessa, a causa degli alti costi delle centraline, della necessità delle reti strumentali di avere una alta densità di punti e per il fatto che l'inquinamento varia spazio-temporalmente. Peraltro, un monitoraggio puramente strumentale non permette di rilevare gli effetti dell'inquinamento sugli ecosistemi ed in particolare quelli sinergici di più inquinanti. Inoltre, se l'obiettivo che si intende perseguire è la valutazione ed il controllo dell'inquinamento, questo può essere realizzato solo attraverso lo studio integrato della qualità chimica delle acque e del suo effetto sul biota (Sartori, 1998).

Normalmente nelle pratiche di dimensionamento e verifica dei sistemi di trattamento delle acque e delle matrici collegate si fa riferimento a parametri classici di misura della sostanza organica, azotata, fosforata e a residui refrattari o microinquinanti tossici, sia durante la progettazione degli impianti che durante il controllo degli effluenti finali. Questo approccio a volte non è sufficiente a dimostrare se l'inserimento dell'unità impiantistica sia più o meno efficace nella mitigazione degli impatti e dei disequilibri dati dall'effluente al recapito finale.

Infatti, le ormai consolidate tecniche di analisi chimico-fisiche, supportate da precise procedure di campionamento e coadiuvate da dispositivi di presentazione ed elaborazione dati, permettono di "fotografare" la situazione processistica di un intero impianto di depurazione o di una sua sezione, nell'intervallo di tempo desiderato. Ciò premesso, risulta quantomeno singolare che un processo a carattere essenzialmente biologico venga gestito sulla base delle sole valutazioni chimico-fisiche, le quali, inoltre, possono unicamente fornire informazioni di tipo statico, riferite cioè ad un particolare periodo "cristallizzato" di una realtà dinamica in continua evoluzione (Ranzani, 1987). Pare, quindi, logico affiancare alle usuali determinazioni chimiche alcune tecniche di indagine biologica, in grado di fornire informazioni sulla "storia biologica" dell'impianto e sulla "tendenza al divenire" del medesimo.

Molto interessanti sono i controlli biomonitorativi delle alterazioni dei biotopi presso i corsi d'acqua, dove recapitano impianti di depurazione di varia dimensione. Spesso il recapito è direttamente sul terreno o in alvei con forti escursioni stagionali. La presenza dell'acqua effluente con carichi residui di inquinamento influisce nella biodiversità: a seconda dei casi l'acqua proveniente dall'impianto può favorire la vegetazione e particolari invertebrati oppure segnare delle variazioni marcate di tipologia, e quantità di fauna microbica inferiore o superiore, di molluschi e crostacei. In questo ultimo gruppo potrebbero assumere un peso rilevante gli ostracodi (Curry, 1999).

3.1. BIOINDICATORI

Con il termine indicatore si intende un parametro (chimico, fisico, biologico) o un valore derivato da parametri, che descrive e fornisce informazioni sullo stato di un fenomeno, ambiente o area o sulle pressioni che determinano tale fenomeno o influenzano lo stato dell'ambiente o dell'area. Un insieme di parametri o indicatori aggregati costituisce un indice. Gli indicatori e gli indici mostrano le condizioni di un sistema, rappresentano un sintomo o un segnale di alterazione, forniscono informazioni sui fenomeni e integrano con un elevato valore aggiuntivo informazioni diverse (Schmidt di Friedberg, 1987).

A tal proposito, per monitorare l'inquinamento si utilizzano, sempre più spesso, le tecniche di biomonitoraggio, procedure che permettono di stimare gli effetti biologici dell'inquinamento. Le procedure di biomonitoraggio producono dati biologici: misure di biodiversità, di variazioni dell'assetto morfologico, fisiologico o genetico degli organismi, misure delle concentrazioni di sostanze negli organismi. Attraverso il biomonitoraggio viene identificato lo stato di alcuni parametri sulla base degli effetti da essi prodotti su organismi reattivi.

Nel termine biomonitoraggio vengono compresi, da un lato, i test di tossicità per misurazioni sulle risposte biomolecolari e fisiologiche di organismi viventi nei confronti di sostanze tossiche in condizioni sperimentali, inclusi biosaggi e sistemi di controllo (tossicità acuta, tossicità cronica, bioaccumulatori) e, dall'altro, il monitoraggio degli ecosistemi attraverso misure sull'integrità di ecosistemi sottoposti a perturbazioni ambientali.

Le variazioni ecologiche indotte dagli agenti inquinanti possono manifestarsi secondo tre differenti tipologie (Lam & Wu, 2003):

- A. accumulo di sostanze inquinanti negli organismi;
- B. modificazioni morfologiche o strutturali degli organismi;
- C. modificazioni nella composizione delle comunità animali e vegetali.

Il primo tipo viene misurato attraverso tecniche di bioaccumulo, che valutano le concentrazioni di ben determinate sostanze in organismi in grado di assorbirle dall'ambiente e di accumularle. Le altre due tipologie vengono stimate con l'utilizzo di tecniche di bioindicazione, che valutano gli effetti di variazioni ambientali su componenti sensibili degli ecosistemi. Le tecniche di bioindicazione si basano su misure biologiche, quelle di bioaccumulo su analisi chimiche ed entrambe sono comprese nella definizione del termine biomonitoraggio inteso come analisi di componenti degli ecosistemi reattivi all'inquinamento, per la stima di deviazioni da situazioni normali.

In questo lavoro si prendono in esame solo i bioindicatori di tipo C. Un valido bioindicatore dovrebbe avere caratteristiche ben precise tra cui la sensibilità agli agenti inquinanti o se possibile, a specifici agenti inquinanti, un'ampia diffusione nell'area di studio, una scarsa mobilità, un ciclo vitale lungo, nonché una robusta uniformità genetica. Gli organismi bioaccumulatori, invece, oltre a dover avere un lungo ciclo vitale anche in presenza di inquinamento, ampia diffusione nell'area di studio e scarsa mobilità, devono essere caratterizzati da una elevata tolleranza/sensibilità agli inquinanti in esame e da una notevole capacità di bioaccumulo di inquinanti, anche se presenti a basse concentrazioni, nonché devono permettere la determinazione di una correlazione tra la concentrazione del contaminante nell'organismo e quella nell'ambiente circostante (Paoletti et al., 1998).

In generale, gli organismi viventi rappresentano gli indicatori più appropriati per conoscere lo stato di salute di un ambiente, perché integrano gli stimoli delle componenti biotiche e abiotiche in un'unica risposta di adattamento. Le popolazioni animali e vegetali costituiscono nel loro insieme gli indicatori per eccellenza degli effetti prodotti dall'inquinamento sull'ambiente in cui vivono, grazie alla grande diversità che caratterizza la loro composizione e alla conseguente presenza di una vasta gamma di condizioni. Gli organismi, inoltre, hanno la proprietà di reagire non tanto ad un singolo fattore, quanto alla situazione ambientale nel suo complesso e sono, pertanto, capaci di esprimere un effetto cumulativo rispetto all'azione di vari fattori.

Molte specie risultano essere sensibili a certi tipi di inquinamento o a particolari condizioni idrologiche, per cui la loro improvvisa comparsa o scomparsa viene interpretata come indice inequivocabile di un fenomeno in atto. Tali organismi possono essere utilizzati come indicatori biologici in quanto tollerano, si sviluppano e divengono dominanti in condizioni alterate. In questo modo, dalla presenza/assenza di determinate specie è possibile definire l'entità del fenomeno e, in alcuni casi, identificare un determinato tipo di alterazione ambientale.

Le specie utilizzate come indicatori biologici possono appartenere a tre differenti categorie: caratteristiche, indicatrici e sentinelle. Le prime sono legate ad una particolare struttura biocenotica e la loro presenza

identifica tale comunità. Le specie indicatrici confermano la presenza di un particolare fattore biotico o abiotico in un determinato ambiente, mentre le specie sentinella possono essere sinonimo di alterazione in funzione dell'abbondanza con cui sono presenti. A seconda delle situazioni, una specie può appartenere solo ad una categoria o anche a tutte e tre.

Un bioindicatore, pertanto, è un organismo (o una parte di esso) o un gruppo di organismi (popolazioni, comunità) che con una risposta a livello biochimico, citologico, fisiologico o ecologico permette di caratterizzare, in modo pratico e sicuro, lo stato di un ecosistema o di un ecocomplesso (insieme localizzato di ecosistemi interdipendenti, modellati da una storia ecologica comune) e di evidenziarne, il più precocemente possibile, le probabili alterazioni (Blandin, 1986).

Il batterio *Escherichia coli* è utilizzato come indicatore specifico di inquinamento cloacale, dato che è un elemento caratteristico della flora batterica dell'intestino umano. Organismi come *Donax*, *Solen* e *Ostrea* sono in grado di accumulare metalli pesanti associati al materiale particellato sospeso, di cui si nutrono. Attraverso le capacità di bioaccumulo di organismi che vivono nell'ambiente o di organismi immersi artificialmente allo scopo, è possibile evidenziare, mediante analisi chimiche e biologiche, la distribuzione ed il rischio di trasferimento nelle catene alimentari di sostanze persistenti quali pesticidi, metalli pesanti (Madoni et al., 1996) e sostanze radioattive.

Gli studi sulla dinamica di colonizzazione della microfauna, unitamente alle ricerche tese a cogliere le associazioni esistenti fra la composizione della microfauna misurata e valutata a livello di specie e il grado di efficienza degli impianti di depurazione, hanno, ad esempio, permesso di elaborare indici di stima dell'efficienza di depurazione (Madoni, 1996). In questo contesto rientra lo Sludge Biotic Index (S.B.I.), messo a punto da Madoni (1994), un indice obiettivo che attraverso la composizione e l'abbondanza relativa dei gruppi funzionali dei protozoi ciliati misura lo stato di buona colonizzazione dei fanghi attivi e l'efficienza del processo depurativo.

3.2. OSTRACODI COME BIOINDICATORI

L'utilizzo degli ostracodi Recenti nel biomonitoraggio è un ambito di analisi ancora poco sviluppato, soprattutto per la notevole complessità dell'approccio tassonomico, che presuppone l'analisi morfologica sia delle valve sia delle parti molli e talora anche il controllo di caratteri evidenziabili solo mediante tecniche di microscopia elettronica (SEM). Tuttavia, il pur modesto numero di studi riguardanti la relazione tra la struttura delle comunità di ostracodi non marini Recenti ed i parametri fisici e chimici delle acque e, talora delle matrici collegate (si tratta quasi sempre di studi piuttosto recenti relativi ad habitat tra loro molto diversi e con un'ampia distribuzione geografica) sta evidenziando come alcuni taxa risultino estremamente sensibili alla variazione di ben precisi parametri abiotici. Si veda in proposito, solo a titolo di esempio i lavori di Mezquita et al. (2005), Baltanás et al. (1990), Rundle & Ormerod (1991), Särkkä et al. (1997), Gifre et al., (2002), Eitam et al. (2004), Rossetti et al. (2005 e 2004). Ancora piuttosto limitati sono i tentativi di utilizzo di questo gruppo di crostacei nelle attività di biomonitoraggio; non esiste ancora una procedura chiara ed univoca che consenta di associare l'ostracodofauna alla qualità delle acque, anche se sono già stati compiuti studi che hanno evidenziato una certa sensibilità da parte degli ostracodi nei confronti delle alterazioni dell'ecosistema (Milhau et al., 1997; Namiotko, 1998; Curry, 1999; Rinderhagen et al., 2000; Mezquita et al., 2001; Zamorra Sanchis et al, 2004; Külköylüoğlu, 2004). Külköylüoğlu (2004) evidenzia come ambienti marcatamente antropizzati siano caratterizzati dalla presenza di specie cosmopolite, quali *Heterocypris incongruens*, *Cypridopsis vidua*, *Eucypris virens* e *Cypria ophthalmica*, contraddistinte da un elevato livello di

tolleranza nei confronti delle variazioni fisico-chimiche delle acque. Malmqvist et al. (1997), su dati relativi alle isole Canarie, rivelano come *Heterocypris incongruens*, *H. salina* e *Cypris pubera* siano presenti in ambienti temporanei con elevata conducibilità e a bassa altitudine, mentre *Sarscypridopsis aculeata*, *Plesiocypridopsis newtoni* e *Cypridopsis vidua* sembrano mostrare una distribuzione correlata positivamente con la conducibilità e negativamente con l'altezza sul livello del mare. Queste ultime tre specie sono anche note per tollerare elevati valori di salinità.

Dall'analisi dei risultati di uno studio condotto da Mezquita et al. (1999) su 117 ambienti ubicati nelle province di Castelló, València e Alicante (Spagna Sud-orientale) emerge come le specie *Potamocypris zschokkei* ed *Herpetocypris intermedia* siano tipiche di acque ricche di bicarbonato, poco mineralizzate e con temperature relativamente basse; *Herpetocypris brevicaudata*, *Sarscypridopsis lanzarotensis* e *Cypridopsis vidua* sarebbero, invece, caratteristiche di acque ricche di bicarbonato e ben ossigenate e, infine, *Paralimnocythere messenai*, *Ilyocypris gibba* e *Pseudocandona pratensis* preferirebbero acque ricche di bicarbonato e altamente mineralizzate. Infine, *Cyprideis torosa*, *Xestoleberis nitida* e *Loxoconcha elliptica*, specie tipiche di acque salmastre, si trovano in acque ricche di solfati e cloruri e con temperature elevate.

In uno studio più recente relativo all'ostracodofauna del lago Alada (Turchia) Yilmaz & Külköylüoğlu (2006) ipotizzano che la presenza delle specie *Physocypris kraepelini* e *Darwinula stevensoni* sia positivamente correlata con i valori di conducibilità delle acque. Secondo Särkkä et al. (1997) *Candona candida* può essere generalmente presente negli ambienti poco antropizzati, caratterizzati da acque fredde, anche se questa specie è stata trovata in ambienti sia di origine antropica sia naturali (Külköylüoğlu, 2004; Külköylüoğlu & Yilmaz 2006).

La specie *Heterocypris incongruens* viene impiegata secondo l'Agenzia per la Protezione all'Ambiente e per i Servizi Tecnici per testare la tossicità del suolo. Gli ostracodi, infatti sono organismi bentonici, si localizzano preferenzialmente nell'interfacies fra acqua e sedimento e, di conseguenza, risultano più sensibili, rispetto ad altri Crostacei, alla tossicità rilasciata dal substrato (Ghetti & Mc Kenzie, 1981). Il saggio prevede l'esposizione degli organismi alla matrice solida per 6 giorni e la valutazione della percentuale di mortalità (effetto acuto) e dell'inibizione della crescita (effetto cronico) rispetto ai risultati ottenuti con una matrice di riferimento. Il test può essere applicato a suolo, sedimenti e fanghi. Esperienze analoghe sono state presentate in occasione del XVI Congresso Nazionale della Società Italiana di Ecologia (Viterbo, 19-22 settembre 2006) da Manzo et al. (2006).

In questa ricerca verranno presi in considerazione solo i bioindicatori che prima abbiamo definito di *tipo C*. Seguendo, infatti, il criterio generale degli indicatori biologici, possono essere assunti come indicatori di funzionamento di un impianto di depurazione sia la presenza/assenza di alcune specie particolari sia la composizione della comunità animali nel loro insieme (Vismara, 1998).

In ogni caso, gli ostracodi molto probabilmente possono essere considerati buoni indicatori di qualità ambientale per i seguenti motivi:

- sono presenti nella maggior parte degli ambienti di acque interne, sia lentici che lotici;
- sono facilmente reperibili ed il campionamento richiede l'utilizzo di strumenti a basso costo;
- presentano cicli vitali sufficientemente lunghi;
- hanno scarsa capacità di sottrarsi agli effetti dell'alterazione ambientale;
- recenti studi sembrano evidenziare una loro marcata sensibilità nei confronti delle alterazioni dell'ecosistema.

Per contro, il loro utilizzo come bioindicatori presenta qualche controindicazione:

- problemi nell'identificazione tassonomica;
- specie congeneriche possono avere caratteristiche ecologiche molto diverse;
- calibrazione della specificità della risposta rispetto a fenomeni di compromissione ambientale.

In ogni caso l'analisi della letteratura presa in esame sembra suggerire in merito alcune precise linee di indagine (Pieri, 2007):

- verificare l'esistenza di una correlazione positiva tra il grado di biodiversità misurato dal numero di taxa di ostracodi presenti e la qualità delle acque e delle matrici ad essa collegate (Boomer et al., 1996);
- limitare l'analisi alle specie cosmopolite;
- ripetere i campionamenti con frequenza almeno stagionale, al fine di evidenziare le eventuali variazioni temporali all'interno dell'area di studio;
- considerare anche i campioni in cui non viene rilevata la presenza di ostracodi, per poter poi indagare se tale assenza è da imputare semplicemente al caso o alle caratteristiche ambientali.

Infine, non è poi da trascurare il fatto che gli ostracodi assumono un particolare rilievo scientifico, dato che sono considerati organismi modello per l'analisi in campo morfologico, paleontologico, genetico ed ecologico, cioè in pratica quelli che vengono considerati i quattro pilastri della conoscenza in ambito evolutivo (Martens & Horne, 2000).

4. Rilevanza del progetto

Il fiume Natisone è per ampiezza, caratteristiche geomorfologiche, collocazione e fauna ittica uno dei più interessanti corsi d'acqua del Friuli Venezia Giulia. Si è, quindi, sentita l'esigenza di svolgere uno studio di interesse faunistico ed ecologico finalizzato all'esame della composizione e della struttura delle comunità di ostracodi del bacino per la verifica del grado di qualità delle sue acque. A questo proposito, la salvaguardia della qualità delle acque riveste un ruolo fondamentale nello sviluppo socio-economico complessivo della regione, per le interferenze di causa ed effetto, sia negative che positive, che legano qualità delle acque e sviluppo, non solo per l'uso umano delle acque stesse, ma anche per il loro impiego per le produzioni di qualità in ambito agricolo, zootecnico e dell'acquacoltura.

Un tempo la gestione delle acque reflue era essenzialmente un problema igienico-sanitario. Recentemente si sta diffondendo una nuova filosofia che, non dimenticando i problemi igienici, considera la gestione delle acque reflue dal punto di vista ecologico e punta a "sfruttare" la capacità autodepurativa degli ecosistemi naturali, attraverso il ricorso a numerose tecniche, applicabili in situazioni spesso tra loro molto differenziate con diverse modalità.

L'importanza economica della gestione delle acque trova conferma anche nelle numerose normative cogenti emanate in materia, a livello sia Nazionale che di Unione Europea. Il Testo Unico sulle acque (D.Lgs 152/99), che sostituisce la Legge Merli (L. 319/76), integra la Legge Galli (L. 36/94) e recepisce le direttive comunitarie in materia, introduce il concetto di tutela qualitativa e quantitativa delle acque e tra l'altro precisa che:

- tutti gli scarichi devono essere autorizzati (art. 45 comma 1)
- tutti gli scarichi devono rispettare valori limite di emissione, stabiliti in funzione degli obiettivi di qualità dei corpi idrici (art. 28 comma 1)

Il Testo Unico introduce, pertanto, un principio, del tutto nuovo: occorre prima definire la qualità dei corpi idrici ed il loro uso e solo dopo sarà possibile autorizzare eventuali scarichi in detti recettori rispettando determinati limiti di concentrazione.

In attuazione dell'art. 29 del Testo Unico il Decreto Ministeriale n. 185 del 12 giugno 2003 precisa le norme tecniche per il riutilizzo delle acque reflue urbane, domestiche e industriali.

5. Modalità di attuazione del progetto

Il progetto si è articolato nelle seguenti quattro fasi:

1. identificazione degli ambienti da campionare;
2. campionamenti;
3. analisi di laboratorio;
4. diffusione dei risultati ottenuti.

6. Materiali e Metodi

All'interno dell'area di studio sono stati identificati 6 punti di campionamento di cui 5 sul corso principale del Fiume Natisone ed uno in corrispondenza del rio Manganizza (tab. 1; fig.1).

In particolare sono stati raccolti campioni a monte e a valle degli scarichi dei depuratori di Case e Capoluogo. Per ottenere un quadro generale della situazione ambientale dell'area di studio, è stato considerato anche il rio Manganizza che raccoglie gli scarichi provenienti dalla zona industriale.

I punti di campionamento delle acque per la determinazione dei parametri fisico-chimici e microbiologici di base necessari alla definizione dello stato di qualità del corpo idrico e a supporto degli elementi di qualità biologica sono coincisi con i punti di campionamento degli elementi biologici.

CODICE SITO	SITO	N	E	COMUNE	PROVINCIA
NAT1	Fiume Natisone (Fraz. Oleis)			Manzano	Udine
NAT2	Fiume Natisone a monte dell'impianto di depurazione di Case			Manzano	Udine
NAT3	Fiume Natisone a valle dell'impianto di depurazione di Case			Manzano	Udine
NAT4	Fiume Natisone a valle dell'impianto di depurazione di Capoluogo			Manzano	Udine
NAT5	Fiume Natisone a monte dell'impianto di depurazione di Capoluogo			Manzano	Udine
MANG	Rio Manganizza			Manzano	Udine

Tabella 1. Stazioni di campionamento considerate nel presente studio.

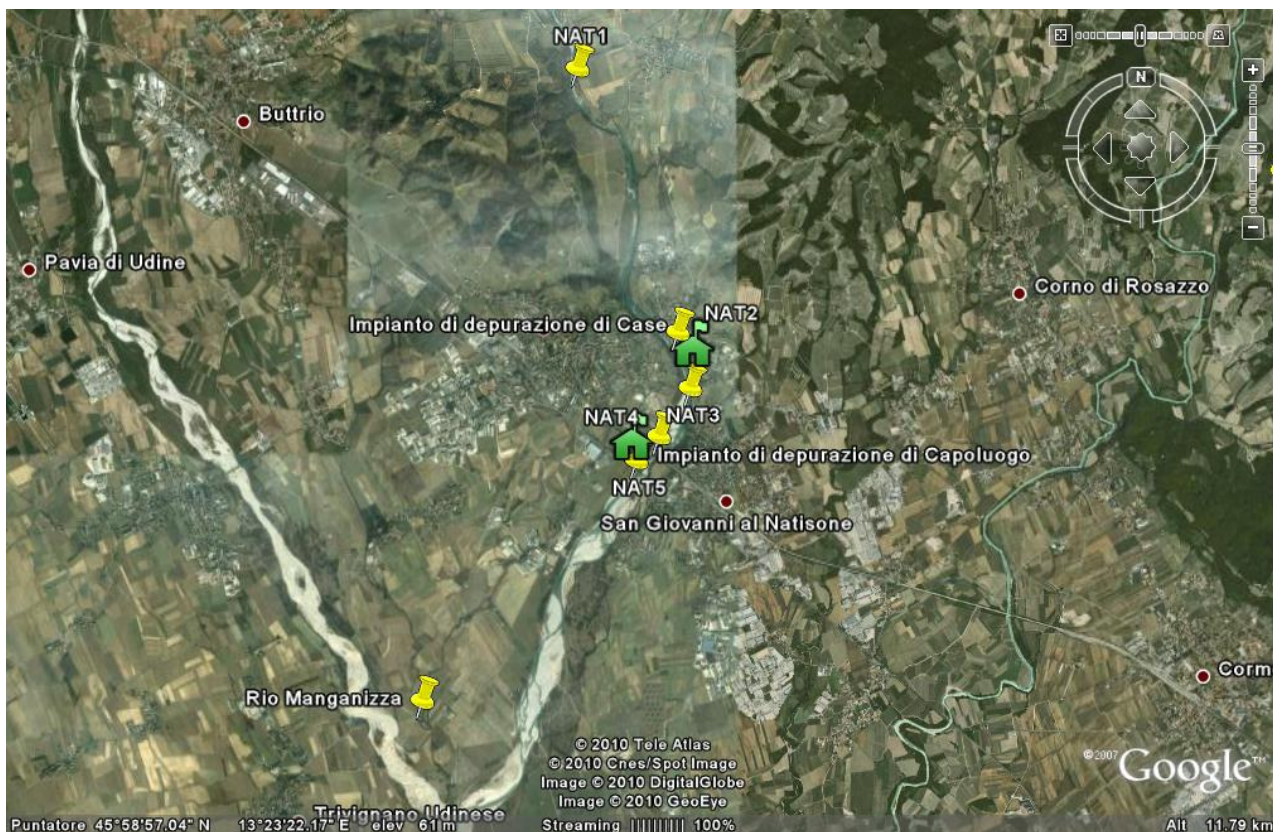


Figura 1.

6.1. RACCOLTA DEI CAMPIONI e ANALISI IN SITO

La raccolta dei campioni, sia di acqua che di ostracodi, è stata effettuata nei mesi di marzo e luglio 2010 per un totale di due giornate di campionamento.

Per ogni stazione di campionamento è stata effettuata una foto dell'ambiente circostante ed è stata compilata la scheda di rilevamento e di registrazione dei dati riportata nell'allegato I.

6.1.1. Campionamento dell'acqua per le analisi chimico-fisiche

Per ogni punto di campionamento è stato prelevato un campione di acqua mediante un'asta allungabile sulla cui sommità era fissata una bottiglia. I campioni sono stati prelevati ad una distanza dallo scarico non inferiore a 20 metri in modo da permettere il rimescolamento delle acque.

In campo sono stati rilevati i valori relativi ai parametri fisici e chimico-fisici che, durante la conservazione ed il trasporto, vanno incontro a variazioni tali da non consentire più la loro corretta misurazione in laboratorio. A questo proposito, i parametri chimico fisici rilevati in situ, attraverso l'utilizzo di una sonda multiparametrica sono: temperatura (°C), pH, conducibilità ($\mu\text{S}/\text{cm}$), Ossigeno disciolto (mg/l).

Il prelievo dei campioni per l'esame microbiologico è stato effettuato con recipienti puliti e sterili, facendo attenzione a non toccare la parte interna del tappo che andrà a contatto con il campione prelevato, né l'interno del collo della bottiglia. Inoltre, nell'eseguire il prelievo si è sempre avuto l'attenzione di non riempire completamente la bottiglia al fine di consentire una efficace agitazione del campione al momento dell'analisi in laboratorio.

La contaminazione tra un sito e l'altro è stata evitata sciaccando l'attrezzatura tra un campionamento di due siti differenti

Sono stati complessivamente raccolti due campioni per sito in due diverse campagne di campionamenti per un totale di 12 campioni.

6.1.2. *Campionamento di Ostracodi di acque superficiali*

I campioni di ostracodi sono stati prelevati mediante l'utilizzo di un retino immanicato con rete ad apertura di maglia di 250 µm posizionando la bocca del retino controcorrente, smuovendo a monte i sedimenti. Il retino è dotato, sul fondo del cono di rete, di un bicchiere di plexiglas trasparente e svitabile, in cui vengono raccolti gli animali dopo la pescata. Il campionamento non è stato eseguito immediatamente a valle dell'immissione di uno scarico o di un affluente, ma è stata rispettata una distanza tale da garantire il completo rimescolamento delle acque con quelle del corpo idrico ricevente. Lo scopo è infatti quello di valutare la qualità del corpo recettore e non dello scarico. Il prelievo del campione, inoltre, è stato eseguito cercando di scegliere punti di campionamento che comprendono tutti i substrati esplorabili.

Il materiale raccolto è stato posto in bottiglie di plastica, preventivamente etichettate con l'identificazione del sito (data di raccolta e codice del sito). Al fine di evitare la contaminazione tra un sito e l'altro tutta l'attrezzatura è stata prontamente sciaccata tra un campionamento di due siti differenti.

Gli organismi presenti nei campioni sono stati mantenuti vivi fino al momento del *sorting*, effettuato il giorno stesso o quello successivo al campionamento.

Sono stati complessivamente raccolti 12 campioni.

6.2. ANALISI DEI CAMPIONI RACCOLTI

6.2.1. *Campioni d'acqua: analisi chimiche*

In laboratorio vengono effettuate, sul campione d'acqua, le seguenti analisi mediante l'utilizzo di impiego di sistemi analitici preparati *Lovibond®*:

- Alcalinità totale (mg/l CaCO₃)
- Fosfati (mg/l PO₄)
- Azoto nitrico (mg/l N)
- Azoto ammoniacale (mg/l NH₄)
- Azoto nitroso (mg/l N)
- Solfati (mg/l SO₄)
- Cloruri (mg/l Cl)
- Fosforo totale (mg/l P)
- Microrganismi indicatori di inquinamento (Coliformi totali ed *Escherichia coli*) (Unità Formanti Colonia).

I risultati delle analisi chimico fisiche e microbiologiche dei campioni acqua sono presentati nell'allegati II.

6.2.2. *Analisi campioni di Ostracodi*

In laboratorio, ciascun campione è stato riversato in una vaschetta bianca a fondo piano, in cui, sotto il fascio di luce di una lampada, sono stati selezionati e prelevati, utilizzando una pipetta, tutti gli organismi ritenuti ostracodi, almeno ad un primo sommario esame. Dopo la selezione, gli ostracodi sono stati fissati con alcool etilico 90° e posti in piccole provette *ependorf*, catalogate con codice identificativo e la data del prelievo.

Per l'identificazione tassonomica degli individui vengono utilizzate sia le parti molli che le valve; le prime, dopo essere state sezionate in glicerina, vengono sistemate su un vetrino e sigillate con un vetrino coprioggetto; per il successivo esame al microscopio ottico.

Tramite l'utilizzo di chiavi dicotomiche e manuali si procede all'identificazione della specie o quanto meno del genere (Meisch, 2000). I risultati delle analisi dei campioni di ostracodi sono presentati nell'allegato III.

7. Discussione

- Dall'analisi dei dati chimico fisici emerge una lieve differenza nella qualità delle acque in corrispondenza dei punti di campionamento a monte e a valle dello scarico degli impianti di depurazione anche se, in generale, non vengono evidenziate situazioni di degrado ambientale e i valori registrati sono localizzati sotto i limiti previsti dalla normativa.
- Nel corso del primo campionamento di ostracodofauna, a causa delle avverse condizioni idrologiche, non è stata rilevata la presenza di ostracodi, in sei campioni su sette. Al contrario, nella seconda campagna di campionamento sono stati trovati individui in tutti i campioni.
- Dall'analisi dei campioni di ostracodi è emerso come il numero delle specie presenti ma anche il numero degli individui si modifichi passando dalle stazioni localizzate a monte fino a quelle più a valle. In particolare il numero delle specie definite cosmopolite (*Herpetocypris brevis caudata* e *Cypridopsis vidua*) aumenta da monte a valle mentre specie come *Potamocypris similis* scompaiono.
- Particolare attenzione va data alla discussione dei dati relativi al rio Manganizza. Nel corso del secondo campionamento, infatti, la notevole varietà della comunità di ostracodi rilevata può essere ricondotta alle particolari condizioni di regime idrico presenti. In sintesi il rio era ridotto ad una semplice pozza data l'assenza di un continuo e imponente scarico industriale.
- L'analisi microbiologica evidenzia un aumento degli *Escherichia coli* da monte a valle mentre la concentrazione dei Coliformi totali risulta essere sempre intorno alle 100 unità formanti colonia. Entrambi i parametri risultano abbondantemente al di sotto dei limiti di legge.
- Dall'analisi congiunta dei dati chimico fisici e biologici non emerge una situazione di particolare inquinamento del fiume Natisone. Questo risultato può essere ricondotto all'enorme potere di auto depurazione e di diluizione degli inquinanti che caratterizza l'ambiente fluviale.

Riferimenti bibliografici

- Baltanás A, C. Montes, P. Martino, 1990. Distribution patterns of ostracods in iberian saline lakes. Influence of ecological factors. *Hydrobiologia*, 197: 207-220.
- Baltanás A., D.L. Danielopol, J. R. Rocha, P. Marmonier, 1993. *Psychrodromus betharrami* n. sp. (Crustacea, Ostracoda): Morphology, Ecology and Biogeography. *Zool. Anz.*, 231 (1/2): 39-57.
- Blandin P., 1986. Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.*, 17 (4): 211-307.
- Boomer I., R. Whatley and N.V. Aladin, 1996. Aral Sea Ostracoda as environmental indicators. *Lethaia: an international journal of palaeontology and stratigraphy; official journal of the International Palaeontological Association*, 29: 77-85.
- Curry B.B., 1999. An environmental tolerance index for ostracods as indicators of physical and chemical factors in aquatic habitats. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 148: 51-63.
- Daici A., 2004. Lo stato delle acque del Fiume Ledra. Convegno sui trattamenti di depurazione delle acque reflue e sullo stato dell'arte delle tecniche di depurazione. GemonadeFriuli, 31 Gennaio 2004.

- Eitam A., L. Blaustein, K. Van Damme, H. J. Dumont, K. Martens , 2004. Crustacean species richness in temporary pools: relationships with habitat traits. *Hydrobiologia*, 525: 125-130.
- Germozzi R., 1987. Il ruolo della analisi biologica nella gestione di un impianto di depurazione a fanghi attivi. In: "Madoni P., P. Manzini, R. Spaggiari *Analisi della microfauna per il controllo di qualità degli impianti biologici di depurazione*". Centro italiano studi di biologia ambientale, 1987 (Reggio Emilia : Tecnostampa). 111 pp.
- Ghetti P. F. & K. McKenzie, 1981. Ostracodi (Crustacea: Ostracoda). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. *Consiglio Nazionale delle Ricerche*, 83 pp.
- Gifre J., X. D. Quintana, R. de la Barrera, M. Martinoy, E. Marquès, 2002. Ecological factors affecting ostracod distribution in lentic ecosystems in the Empordà Wetlands (NE Spain). *Arch. Hydrobiol.*, 154(3):499-514.
- Külköylüoğlu O., 2004. On the usage of ostracods (Crustacea) as bioindicator species in different aquatic habitats in the Bolu region, Turkey. *Ecological indicators*, 4: 139-147.
- Külköylüoğlu O., F. Yilmaz, 2006. Ecological requirements of Ostracoda (Crustacea) in three types of springs in Turkey. *Limnologia*, 36: 172-180.
- Lam P. K.S. & R. S.S. Wu, 2003. Use of Biomarkers in Environmental Monitoring. STAP Workshop on The Use of Bioindicators, Biomarkers and Analytical Methods for the Analysis of POPs in Developing Countries, 10-12, December 2003, 79 pp.
- Madoni P., 1994. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Research* , 28: 67-75.
- Madoni P., 1996. The sludge biotic index for the evaluation of the activated-sludge plant performance: the allocation of the ciliate *Acineria uncinata* to its correct functional group. *Acta Protozoologica*, 35: 209-214.
- Madoni P., Davoli D., Gorbi G. & Vescovi L. 1996. Toxic effects of heavy metals on the activated sludge protozoan community. *Water Research*, 30: 135-141.
- Malmqvist B., C. Meisch, A. N. Nilsson, 1997. Distribution patterns of freshwater Ostracoda (Crustacea) in the Canary Islands with regards to habitat use and biogeography. *Hydrobiologia*, 347: 159-170.
- Manzo S., R. Carotenuto, R. Musella, A. Rocco, F. De Luca Picione, 2006. Approccio ecotossicologico per la valutazione del livello di inquinamento dei suoli. Atti del XVI Congresso Nazionale della Società Italiana di Ecologia. Viterbo, 19-22 settembre 2006.
- Martens K., D. J. Horne, 2000. Preface: ostracoda and the four pillars of evolutionary wisdom. *Hydrobiologia*, 419: 7-11.
- Meisch C., 1996. Contribution to the taxonomy of Pseudocandona and four related genera, with the description of Schellencandona nov. gen., a list of the Candoninae genera, and a list of the Candoninae genera, and a Key to the European genera of the subfamily (Crustacea, Ostracoda). *Bull. Soc. Nat. Luxemb.*, 97: 211-237.
- Meisch C., 2000. *Freshwater Ostracoda of Western and Central Europe*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH - Heidelberg, Berlin. 522 pp.
- Mezquita F., G. Tapia, J.R. Roca, 1999. Ostracoda from springs on the eastern Iberian Peninsula: ecology, biogeography and palaeolimnological implications. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 148: 65-85.
- Mezquita F., H.I. Griffiths, M.I. Dominguez, M.A. Lozano-Quilis, 2001. Ostracoda (Crustacea) as ecological indicators: a case study from Iberian Mediterranean brooks. *Arch. Hydrobiol.* 150, 545-560.
- Mezquita F., J.R. Roca, J.M. Reed, G. Wansard, 2005. Quantifying species-environment relationship in non-marine Ostracoda for ecological and paleoecological studies: Examples using iberian data. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 225: 93-117.
- Milhau B., N. deKens, K. Wouters, 1997. Évaluation de l'utilisation des Ostracodes comme bio-indicateurs potentiels de pollution application aux eaux de la Slack (Boulonnais, France). *Écologie*, 28: 3-12.

- Namiotko T., 1998. Changes in the profundal lacustrine ostracod fauna as an indicator of environmental perturbations in polish lakes undergoing eutrophication. *Actes du 3e Congrès Européen des Ostracodologistes*, 1996. 20: 117-124.
- Paoletti P., S. Nicosia, F. Clementi, G. Fumagalli, 1998. *Ecotossicologia*. (a cura di) M. Vighi, E. Bacci. UTET, 237 pp.
- Pieri V. Ricerche su biodiversità, pattern distribuzionali ed ecologia di ostracodi (Crustacea, Ostracoda) non marini Recenti e loro possibile impiego come indicatori di qualità delle acque, Tesi di Dottorato, Trieste aprile 2007.
- Ranzani M., 1987. L'analisi della microfauna nel controllo di processo dell'impianto di depurazione dell'area metropolitana torinese. In: Madoni P., P. Manzini, R. Spaggiari *Analisi della microfauna per il controllo di qualità degli impianti biologici di depurazione*. Centro italiano studi di biologia ambientale, 1987 (Reggio Emilia : Tecnostampa). 111 pp.
- Rinderhagen M., J. Ritterhoff, G.P. Zauke, 2000. *Crustaceans as bioindicators*. In: A. Gerhardt (Ed.), *Biomonitoring of Polluted Water-Reviews on Actual Topics*, Trans Tech Publications, Scitech Publications, Environmental Research Forum. Vol. 9: 161-194.
- Rossetti G., M. Bartoli, K. Martens, 2004. Limnological characteristics and recent ostracods (Crustacea, Ostracoda) of freshwater wetlands in the Parco Oglio Sud (Northern Italy). *Ann. Limnol.*, 40 (4): 329-341.
- Rossetti G., V. Pieri, K. Martens, 2005. Recent Ostracods (Crustacea, Ostracoda) found in lowland springs of the provinces of Piacenza and Parma (Northern Italy). *Hydrobiologia*, 542: 287-296.
- Rundle S. D., S. J. Ormerod, 1991. The influence of chemistry and habitat features on the microcrustacea of some upland Welsh streams. *Freshwater Biology*, 26: 439-451.
- Särkkä J., L. Levonen, J. Mäkelä, 1997. Meiofauna of springs in Finland in relation to environmental factors. *Hydrobiologia*, 347:139-150.
- Sartori F., 1998. *Bioindicatori ambientali*. Fondazione Lombardia per l'Ambiente. Milano, 376 pp.
- Schmidt di Friedberg P., 1987. *Gli indicatori ambientali. Valori, metri e strumenti nello studio di impatto ambientale*, Milano, Franco Angeli.
- Sgobino F., 1986. *Ambiente geologico del bacino del fiume Ledra. Atti del Convegno "Progetto Ledra"*. Buja, 29-30 novembre 1986.
- Vismara R., 1998. *Depurazione Biologica*. Ed. Hoepli, Milano. 787 pp.
- Yilmaz F., O. Külköylüoğlu, 2006. Tolerance, optimum ranges and ecological requirements of freshwater Ostracoda (Crustacea) in Lake Aladag (Bolu, Turkey). *Ecological Research*, 21: 165-173.
- Zamorra Sanchis L., F. Mezquita, J. Rueda Sevilla, 2004. *Biodiversitat i ecologia dels invertebrats aquàtics continentals de la marina alta i el seu valor com a indicadors de la qualitat de les aigües de la comarca*. Instituto Alicantino de Cultura "Juan Gil-Albert". 92 pp.

Allegato I

SCHEDA DI RILEVAMENTO E REGISTRAZIONE DEI DATI DI CAMPO

DATA ____/____/2010 ORA _____ CODICE SITO: _____

OPERATORE: _____

LOCALITÀ

Frazione _____

Comune _____

Provincia _____

Regione _____

CONDIZIONI METEO

- Sereno
- Nuvolo
- Pioggia
- Neve
- Presenza di vento
- altro: _____

CONDIZIONI METEO GIORNI PRECEDENTI IL CAMPIONAMENTO

PUNTO DI CAMPIONAMENTO

DISTANZA dal PUNTO di SCARICO (m): _____

- prima dello scarico
- dopo lo scarico

ORIGINE DELLO SCARICO

- Depuratore
- Allevamento pesci
- Altro (_____)

TIPOLOGIA HABITAT

Habitat naturale (fiume, ruscello, sorgente, interstiziale, pozza, area allagata, altro _____).

Habitat artificiale (canale, canale di irrigazione, altro _____)

QUOTA s.l.m.: _____

COORDINATE GEOGRAFICHE

E _____

N _____

VELOCITÀ MEDIA DELLA CORRENTE

- impercettibile o molto lenta lenta media e laminare
- media e con limitata turbolenza elevata e quasi laminare elevata e turbolenta
- molto elevata e turbolenta

AMPIEZZA DEL CORSO D'ACQUA: _____m

VARIAZIONI DI AMPIEZZA RISPETTO AL SITO DI CAMPIONAMENTO

- A monte

- meno ampio
- ampiezza costante
- più ampio

- A valle

- meno ampio
- ampiezza costante
- più ampio

PROFONDITÀ MEDIA: _____ cm

PROFONDITÀ MASSIMA: _____ cm

VARIAZIONI DI PROFONDITÀ RISPETTO AL SITO DI CAMPIONAMENTO:

- A monte

- meno profondo
- profondità costante
- più profondo

- A valle

- meno profondo
- profondità costante
- più profondo

COMPOSIZIONE GRANULOMETRICA DEL SUBSTRATO

- ciottoli, ghiaie
- sabbie, argilla, limo dominante
- roccia
- altro _____

TRASPARENZA DELLE ACQUE:

- limpide
- torbide

PRESENZA DI OSTRACODI

- Non visibile
- Visibile (Scarsa)
- Visibile (Abbondante)

PRESENZA DI PESCI

- Non visibile
- Visibile (Scarsa)
- Visibile (Abbondante)

PRESENZA DI MACROINVERTEBRATI BENTONICI

- Non visibile
- Visibile (Scarsa)
- Visibile (Abbondante)

VEGETAZIONE

Vegetazione riparia	canne	campi	palude	arbusti	alberi
Assenza di vegetazione	0	0	0	0	0
Copertura tra 0 - 25%	0	0	0	0	0
Copertura tra 25 - 50%	0	0	0	0	0
Copertura tra 50 - 75%	0	0	0	0	0
Copertura tra 75 - 100%	0	0	0	0	0
Copertura totale100%	0	0	0	0	0

Vegetazione Acquatica	immersa	galleggiante	emersa
Assenza di vegetazione	0	0	0
Copertura tra 0 - 25%	0	0	0
Copertura tra 25 - 50%	0	0	0
Copertura tra 50 - 75%	0	0	0
Copertura tra 75 - 100%	0	0	0
Copertura totale100%	0	0	0

DESCRIZIONE DELL'HABITAT

Note

FOTOGRAFIE

Foto 1 _____

Foto 2 _____

NOTE GENERALI

ANALISI CHIMICO-FISICHE

Temperatura _____ °C

pH _____

Conducibilità _____ $\mu\text{S}/\text{cm}$

Ossigeno disciolto _____ mg/l

Alcalinità Totale (30) _____ mg/l CaCO_3

Nitrati (265) _____ mg/l N _____ mg/l NO_3

Ammoniaca (60) _____ mg/l N _____ mg/l NH_3 _____ mg/l NH_4

Nitriti (270) _____ mg/l N _____ mg/l NO_2

Solfati (360) _____ mg/l SO_4

Cloruri (Chloride90) _____ mg/l Cl

Fosforo totale (326) _____ mg/l P _____ mg/l PO_4 _____ mg/l P_2O_5

UV254 _____

Coliformi totali _____

Escherichia coli _____

Allegato II

Risultati analisi chimico fisiche e microbiologiche (campionamento 23 marzo 2010)

Codice	Sito	h	T	Cond (µS/cm)	pH	OD mg/l	AT (mg/l CaCO ₃)	Nitrati mg/l N	Ammoniaca (mg/l NH ₄)	Nitriti (mg/l N)	Solfati (mg/l SO ₄)	Cloruri (mg/l Cl)	Ortofosfato (mg/l PO ₄)	P tot (mg/l P)	UV254	C tot (UCF/100ml)	<i>E. coli</i> (UCF/100ml)
NAT1	Fiume Natisone (Oleis)	74	12	180	8,4	12,9	148	1,1	0,62	0,01	<	1,3	0,18	0,13	0,015	130	10
NAT2	Fiume Natisone, a monte di dep. Case	61	13	226	8,6	13,18	159	<	0,14	0,01	<	1,3	<	0,14	0,03	250	40
NAT3	Fiume Natisone, a valle di dep. Case	57	15	231	8,8	13,88	168	<	0,07	<	<	0,9	0,31	0,17	0,007	98	30
NAT4	Fiume Natisone, a monte di dep. Capoluogo	56	14	233	8,8	13,72	146	<	0,07	<	<	1,2	0,24	0,14	0,024	116	30
NAT5	Fiume Natisone, a valle di dep. Capoluogo	54	15	230	9	14,5	155	<	0,06	<	6,3	0,7	<	0,08	0,024	135	52
MANG	Rio Manganizza	43	12	180	8,3	10,07	500	<	0,51	0,1	52,5	240,3	0,48	0,26	0,076	290	100

Risultati analisi chimico e fisiche (campionamento 26 luglio 2010)

Codice	Sito	h	T	Cond (µS/cm)	pH	OD mg/l	AT (mg/l CaCO ₃)	Nitrati mg/l N	Ammoniaca (mg/l NH ₄)	Nitriti (mg/l N)	Solfati (mg/l SO ₄)	Cloruri (mg/l Cl)	Ortofosfato (mg/l PO ₄)	P tot (mg/l P)	UV254
NAT1	Fiume Natisone (Oleis)	74	26,6	264	8,7	13,58	300	<	0,06	<	<	8,4	0,06	0,03	0,16
NAT2	Fiume Natisone, a monte di dep. Case	61	22,5	257	8,4	11,38	320	<	0,07	<	6,3	4,5	<	0,04	0,284
NAT3	Fiume Natisone, a valle di dep. Case	57	21,9	260	8,1	9,87	240	<	0,06	<	<	2,5	<	0,06	0,202
NAT4	Fiume Natisone, a monte di dep. Capoluogo	56	23,7	250	8,2	9,88	260	<	0,07	<	<	3,2	<	0,07	0,183
NAT5	Fiume Natisone, a valle di dep. Capoluogo	54	27	248	8	9,18	350	<	0,08	<	<	3,3	<	0,03	0,191
MANG	Rio Manganizza	43	23,4	315	8,1	9,28	260	<	0,08	0,07	18,9	18,3	0,42	0,2	0,719

Allegato III

Analisi dei campioni di Ostracodi (23 marzo 2010)

CODICE	SITO	N taxa	Species	<i>Cypridopsis vidua</i>	Numero individui
NAT1	Fiume Natisone (Oleis)	1	<i>Cypridopsis vidua</i>	1	1
NAT2	Fiume Natisone, a monte di dep. Case	0		0	0
NAT3	Fiume Natisone, a valle di dep. Case	0		0	0
NAT4	Fiume Natisone, a monte di dep. Capoluogo	0		0	0
NAT5	Fiume Natisone, a valle di dep. Capoluogo	0		0	0
MANG	Rio Manganizza	0		0	0

Analisi dei campioni di Ostracodi (26 luglio 2010)

Codice	Sito	Numero taxa	Species	<i>Cypridopsis vidua</i>	<i>Potamocypris similis</i>	<i>Cyclocypris laevis</i>	<i>Herpetocypris brevicaudata</i>	<i>Heterocypris incongruens</i>	<i>Pseudocandona albicans</i>	Numero individui
NAT1	Fiume Natisone (Oleis)	1	<i>Cypridopsis vidua</i>	7						7
NAT2	Fiume Natisone, a monte di dep. Case	1	<i>Cypridopsis vidua</i>	11						11
NAT3	Fiume Natisone, a valle di dep. Case	2	<i>Cypridopsis vidua</i> <i>Potamocypris similis</i>	113	4					117
NAT4	Fiume Natisone, a monte di dep. Capoluogo	2	<i>Cypridopsis vidua</i> <i>Cyclocypris laevis</i>	17		1				18
NAT5	Fiume Natisone, a valle di dep. Capoluogo	3	<i>Cypridopsis vidua</i> <i>Herpetocypris brevicaudata</i> <i>Heterocypris incongruens</i>	5			77	3		85
MANG	Rio Manganizza	4	<i>Cypridopsis vidua</i> <i>Herpetocypris brevicaudata</i> <i>Heterocypris incongruens</i> <i>Pseudocandona albicans</i>	66			1	1	2	70