

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Ecologia

Ciclo XXIV

TESI DI DOTTORATO

Riciclo dell'azoto nitrico ed emissione di gas serra nei fontanili

Relatori:

Dott. Marco Bartoli

Prof. Marco Trevisan

Prof. Pierluigi Viaroli

Dottorando:

Alex Laini

Abstract

Nel bacino del fiume Po le attività agricole hanno determinato flussi verticali di macro e micro-inquinanti, diretti dai campi verso le falde acquifere, in particolare di nitrato e di erbicidi. L'eccesso di ione nitrato nelle falde porta a problemi per la potabilità delle acque e, una volta che queste acque raggiungono la superficie, ad una potenziale eutrofizzazione dei reticoli idrografici principale e secondario. I processi che portano alla formazione e alla degradazione del nitrato nelle acque sotterranee producono metaboliti tra i quali l' N_2O , gas con un elevato potenziale serra ed in grado di distruggere l'ozono stratosferico.

In questo lavoro di tesi sono stati indagati i pattern di formazione e di dispersione di nitrato, protossido di azoto e di erbicidi nei fontanili, particolari ecosistemi dipendenti dalle acque sotterranee localizzati nella fascia di media pianura del nord Italia. Gli obiettivi secondari della tesi sono stati quelli di valutare il riciclo di nitrato verso il reticolo idrografico superficiale, di quantificare le emissioni di N_2O dai fontanili, di inferire i processi che legano il nitrato all' N_2O , di evidenziare trend temporali e spaziali delle caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili e di tracciare il destino degli erbicidi dal campo coltivato verso il fontanile.

Un numero di fontanili variabile, localizzati prevalentemente nell'area di media pianura compresa tra Adda e Mincio, è stato analizzato al fine determinare le caratteristiche chimico-fisiche dell'acquifero superficiale in corrispondenza della fuoriuscita dell'acqua dai tubi di drenaggio dei fontanili. Attraverso diversi metodi sono state determinate le concentrazioni delle forme inorganiche dell'azoto (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-), dei gas disciolti (N_2O , CO_2 , CH_4) e dei principali erbicidi utilizzati nell'area di studio.

I risultati indicano un accumulo nell'acquifero superficiale di NO_3^- , con concentrazioni maggiori di 50 mg l^{-1} , e di N_2O , con concentrazioni di due ordini di grandezza maggiori rispetto all'equilibrio acqua-atmosfera. Non sono state evidenziate forti variazioni temporali nelle concentrazioni di questi due inquinanti, a significare carichi costanti durante tutto l'anno verso il reticolo idrografico superficiale e l'atmosfera. L'unico erbicida rinvenuto nelle acque dei fontanili è stato la terbutilazina (TBA) e il suo prodotto di degradazione desetil-terbutilazina, utilizzati per il diserbo del mais, coltura prevalente nell'area di studio. Analisi dei tempi di emivita della TBA indicano una distanza dalla fonte di inquinamento minore di 5 km e quindi un inquinamento circoscritto nello spazio.

Questo lavoro di tesi ha permesso di mettere in evidenza l'importanza dell'acquifero superficiale come sink e source di macro e micro-inquinanti di origine agricola. In un contesto di miglioramento qualitativo delle acque superficiali, politiche volte ad un'ottimizzazione delle pratiche agricole potrebbero risultare inefficaci sul breve termine. Da qui la necessità di studi multidisciplinari per risolvere un problema molto complesso, quale quello dei movimenti degli inquinanti nelle acque di falda.

Indice generale

1	Introduzione.....	1
1.1.	Destino ambientale dell'azoto.....	4
1.2.	Possibili conseguenze dell'eccesso di azoto nelle aree agricole: gas serra nelle acque di falda.....	6
1.3.	Manifestazioni superficiali delle acque sotterranee: i fontanili come sorgenti di nitrato e gas serra.....	7
2	Obiettivi.....	11
3	Quadro conoscitivo di sintesi relativo ai percorsi dell'azoto nel bacino del Fiume Oglio sublacuale.....	13
3.1.	Introduzione.....	13
3.2.	Area di studio.....	15
3.3.	Evoluzione temporale della concentrazione di nitrato nel fiume Oglio sublacuale.....	16
3.4.	Bilancio dell'azoto nel bacino del fiume Oglio sublacuale.....	17
3.5.	Contributo degli scarichi domestici ed industriali.....	20
3.6.	Apporto di azoto nitrato da sorgenti diffuse e scarichi puntiformi.....	20
3.7.	Export di azoto dal bacino.....	21
3.8.	Denitrificazione negli ambienti acquatici.....	22
3.8.1.	Rimozione nelle zone umide.....	22
3.8.2.	Rimozione dell'azoto nel fiume Oglio e nel reticolo idrografico secondario.....	24
3.9.	Acque sotterranee: sink o source di azoto?.....	26
4	Indice di pericolosità da nitrati di origine agricola nell'area di studio.....	29
4.1.	Indice di Pericolosità da nitrati di Origine Agricola.....	29
5	Emissione di gas serra (CO ₂ , CH ₄ , N ₂ O) e riciclo di azoto nitrico nei fontanili.....	32
5.1.	Obiettivi.....	32
5.2.	Area di studio.....	32
5.3.	Materiali e metodi.....	32
5.3.1.	Prelievo e analisi dei campioni acquosi.....	32
5.3.2.	Calcolo dei flussi acqua-atmosfera.....	33
5.3.3.	Analisi statistiche.....	35
5.4.	Risultati.....	35
5.4.1.	Parametri chimico-fisici.....	35
5.4.2.	Flussi calcolati N ₂ O, CO ₂ e CH ₄	39
5.5.	Discussione.....	39
5.5.1.	Fontanili come sorgenti di gas serra.....	39
5.5.2.	Cambiamenti dei flussi durante lo scorrimento superficiale.....	42
5.5.3.	Rilevanza delle acque sotterranee nel riciclo dell'azoto verso il reticolo idrografico secondario.....	43
6	Erbicidi nelle acque sotterranee: presenza e pattern di dispersione.....	45
6.1.	Introduzione.....	45
6.2.	Obiettivi.....	46
6.3.	Area di studio.....	46
6.4.	Materiali e metodi.....	47
6.4.1.	Prelievo e analisi dei campioni acquosi.....	47
6.4.2.	Analisi spaziali.....	48
6.4.3.	Elaborazione della superficie piezometrica.....	48
6.4.4.	Calcolo delle velocità di movimento e tempi di scorrimento delle acque sotterranee.....	48
6.4.5.	Calcolo del bacino di ricarica.....	49
6.4.6.	Calcolo delle variabili ambientali nell'area di inquinamento.....	50

6.4.7. Analisi statistiche.....	50
6.5. Risultati e Discussioni.....	51
6.5.1. Concentrazione degli erbicidi nelle acque dei fontanili.....	51
6.5.2. Erbicidi nei fontanili, controllo locale o regionale?.....	52
6.5.3. Criticità dell'approccio e possibili miglioramenti.....	54
6.5.4. Rischi potenziali per le biocenosi acquatiche.....	55
7 Variabilità spazio-temporale delle caratteristiche chimico-fisiche dei fontanili.....	56
7.1. Introduzione.....	56
7.2. Obiettivi.....	56
7.3. Materiali e Metodi.....	57
7.3.1. Area di studio.....	57
7.3.2. Analisi statistiche.....	58
7.4. Risultati.....	58
7.4.1. Caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili.....	58
7.5. Discussione.....	60
7.5.1. Variabilità spaziale e temporale dei fontanili.....	60
8 Conclusioni generali.....	62
9 Side project: influenza delle caratteristiche idro-morfologiche sulle comunità di macroinvertebrati bentonici del fiume Oglio sublacuale.....	63
9.1. Introduzione.....	63
9.2. Obiettivi.....	64
9.3. Materiali e metodi.....	64
9.3.1. Area di studio.....	64
9.3.2. Campionamento dei macroinvertebrati e parametri idrologici.....	64
9.3.3. Analisi dei dati.....	66
9.4. Risultati.....	68
9.4.1. Fattori che influenzano la ricchezza in specie.....	68
9.4.2. Valutazione del database degli organismi rinvenuti.....	69
9.4.3. Importanza delle caratteristiche idromorfologiche nella strutturazione delle comunità macrozoobentoniche.....	69
9.4.4. Famiglie indicatrici e analisi sulle caratteristiche ecologiche.....	72
9.5. Discussione.....	75
Bibliografia.....	77

1 Introduzione

A partire dagli anni '70 del secolo scorso, sono stati avviati numerosi studi su cause, sviluppo ed effetti dell'eutrofizzazione, soprattutto nella fascia costiera dell'Adriatico settentrionale (per una sintesi dei principali lavori si rimanda a Vollenweider et al., 1992; Marchetti & Verna 1992; Provini et al., 1992; Marchetti, 1993). Gli apporti azotati in eccesso sono stati indicati come i principali responsabili del cambiamento nelle comunità di produttori primari (Valiela et al. 1997; Viaroli et al. 2008), del disaccoppiamento tra produzione micro e macroalgale, attività della fauna bentonica e degradazione batterica, dell'accumulo di carichi organici detritali labili, associato a fenomeni di ipossia ed anossia bentonica ma anche dell'enorme produttività dei sistemi costieri (Nixon 1995; Dell'Anno et al 2008; Pusceddu et al 2009).

L'enorme mole di lavoro effettuato in oltre trent'anni di ricerca in ambito marino-costiero ha permesso di chiarire, su scale spaziali submillimetriche, i principali meccanismi di controllo di diversi processi microbici, le interazioni tra comunità batteriche e produttori primari, le diverse modalità di trasferimento di materia ed energia dai procarioti ai livelli trofici superiori, la sequenza dei fattori che portano all'esaurimento dei buffer biogeochimici e all'insorgenza delle crisi distrofiche, l'impoverimento delle comunità della macrofauna bentonica, le fasi di ricolonizzazione e le conseguenze sui processi di mineralizzazione totale (Huxel 1999; Cebrián et al 1998). In condizioni marcatamente eutrofiche, il disaccoppiamento tra produzione o input dei carichi organici e consumo eterotrofo è il risultato di profonde modificazioni nel funzionamento dei sistemi bentonici, con un cortocircuito che esclude macro- e meiobenthos e si basa esclusivamente sull'attività microbica bentonica (Danovaro et al 2000; Welsh 2003; Pusceddu et al 2009; Dell'Anno et al 2008). Tale cortocircuito appare però reversibile, in relazione agli apporti e alla qualità dei carichi organici.

Nel Delta del Po e nell'Adriatico Settentrionale, nonostante l'acquisizione di un robusto quadro conoscitivo, risultano tuttora carenti gli studi su trasformazioni biogeochimiche, cammino ambientale e destino dell'azoto generato nel sistema agro-zootecnico.

Attualmente, l'attenzione della comunità scientifica internazionale è rivolta alle aree terrestri e dulcicole dove i carichi azotati sono generati e trasferiti e dove questi carichi sono inizialmente trasformati (Pind et al. 1997; Garcia-Ruiz et al. 1998; Pattinson et al. 1998; Eriksson 2001; Laursen & Seitzinger 2002; Teissier & Torre 2002; Schaller et al. 2004; Laursen & Seitzinger 2005; Wall et al. 2005). Nel bacino del fiume Po non sono ancora del tutto note le modalità di formazione dei carichi, le modalità del rilascio delle specie azotate e soprattutto, le trasformazioni che queste subiscono durante il transito attraverso il reticolo idrografico della bassa pianura e gli acquiferi superficiali e profondi (Castaldelli et al., 2008; Viaroli, 2010; Laini et al., 2011; Soana et al., 2011;

Bartoli et al., 2011). Appare comunque evidente come le profonde trasformazioni del territorio e del reticolo idrografico, ad esempio l'eliminazione di fasce riparie boscate o gli interventi di bacinizzazione, rettificazione e la realizzazione di arginature, abbiano accelerato i processi di eutrofizzazione degli ambienti lotici (Vitousek et al. 1997, Clément et al. 2003; McClain et al. 2003). In una recente pubblicazione, Mulholland et al. (2008) hanno dimostrato che l'efficienza di rimozione dei carichi azotati per denitrificazione decresce all'aumentare della concentrazione del nitrato producendo un sinergico incremento del trasporto. Ricerche recenti evidenziano inoltre il ruolo centrale delle interazioni tra acque superficiali e della falda e dei processi che avvengono nelle falde nelle dinamiche dell'azoto. Si tratta di ambiti di ricerca tradizionalmente seguiti da geologi e da modellisti che hanno il forte limite culturale del non considerare la componente biologica (microbica nello specifico) nelle trasformazioni e nei processi che alterano le concentrazioni dei soluti.

Nella Pianura Padana le attività agrozootecniche e industriali e l'elevata densità degli abitanti determinano la produzione di un elevato carico di nutrienti e sostanza organica, che sembra eccedere largamente la capacità di ritenzione e trasformazione del territorio, con implicazioni negative per gli ambienti acquatici. Recenti bilanci di massa indicano la presenza in Pianura Padana di aree geografiche con carichi teorici di azoto superiori a $1000 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ anno}^{-1}$ quando le colture più azoto esigenti, come il mais, hanno una capacità di assimilazione massima dell'ordine di $300 \text{ kg ha}^{-1} \text{ anno}^{-1}$. Questo determina un eccesso di azoto nei terreni che viene facilmente dilavato verso gli ambienti acquatici e quindi verso il reticolo idrografico minore e in seguito verso i grandi recettori (falda superficiale e profonda, fiumi e aree costiere).

L'emergenza nitrato giustifica l'attivazione di ricerche mirate ad individuare i processi di genesi, trasformazione e rimozione di questo ione con elevata risoluzione spaziale.

Studi recenti (Palmeri et al., 2005) riportano risultati di modellizzazioni estremamente accurate delle dinamiche dei carichi inquinanti attraverso differenti comparti del territorio. Diversi sono anche gli studi che si basano su bilanci di massa applicabili a varie scale spaziali e temporali (Brouwer, 1998; Parris, 1998; Oenema et al., 2003) che permettono di produrre bilanci accurati a scala di bacino idrografico. Sono invece carenti, in particolare nel Bacino del Po, approcci integrati in grado di includere nei bilanci di massa anche il contributo delle acque sub superficiali e dei processi che qui si svolgono.

Diversi sono i lavori che hanno applicato l'approccio del "soil system budget" a grandi bacini americani (Howarth et al., 1996; Boyer et al., 2002) o asiatici (Liu et al., 2008), mentre a livello italiano è stato adottato solo per piccole realtà territoriali (es. Ventura et al., 2008). Questa metodologia prevede la quantificazione degli input e degli output di azoto attraverso la superficie

del suolo agrario (Oenema et al., 2003) e l'individuazione del surplus azotato come differenza tra la sommatoria degli input e quella degli output, generando quindi un indicatore del potenziale rischio di inquinamento da composti azotati degli ecosistemi acquatici confinanti, ovvero una misura dell'efficienza di utilizzo dell'azoto nel sistema (Schröder et al., 2003). I bilanci azotati possono essere valutati congiuntamente ai risultati di ricerche finalizzate a discriminare le sorgenti inquinanti prevalenti, mediante metodiche di carattere isotopico. Lo studio dell'abbondanza isotopica dell'azoto può permettere di risalire alle sorgenti dei nitrati nelle acque superficiali e di studiarne i trasferimenti nelle catene trofiche (Aravena et al., 1993; Boon e Bunn, 1994; Cabana e Rasmussen, 1996; Ehleringer e Osmond, 1989; Feuerstein et al., 1997; Kendall, 1998; Kendall et al., 1995; Peterson e Fry, 1987; Revesz et al., 1997; Silva et al., 2000; Spoelstra, 2004). Le sorgenti azotate più comuni nelle acque sono i fertilizzanti artificiali, i liquami umani ed animali, le precipitazioni e l'azoto organico presente nei suoli. Una quota consistente dell'azoto presente nei bacini idrografici può essere inoltre temporaneamente stoccata nelle falde superficiali e profonde per poi essere riciclata in superficie attraverso il sistema delle risorgenze e dei fontanili.

Fino al 75% del carico di azoto generato nei bacini idrografici non è esportato in mare ma trattenuto o trasformato da una serie di processi nel percorso dalle aree di origine alle zone costiere attraverso il reticolo idrografico (Seitzinger et al., 2006; Schlesinger, 2009). Particolarmente rilevanti e poco esplorati dalla letteratura scientifica sono tutta una serie di processi che avvengono nei sistemi fluviali a livello iporreico o bentonico, dove le superfici di contatto tra acqua e film batterici sono enormi e i processi meno limitati dai moti diffusivi tipici dei sistemi lentic (Laursen e Seitzinger, 2002). Particolarmente rilevanti sono i processi anaerobici come la denitrificazione (DE) e la nitrato ammonificazione (DNRA), che hanno prodotti finali distinti (N_2 ed NH_4^+ rispettivamente). La dominanza dell'uno rispetto all'altro processo ha implicazioni a livello ecosistemico completamente differenti (dissipazione, DE, o riciclo, DNRA). La letteratura recente evidenzia quanto i tassi e la regolazione del processo di denitrificazione siano stati studiati rispetto a quelli di nitrato ammonificazione, nonostante diversi studi riportino tassi significativi di DNRA in estuari (An and Gardner 2002), aree oggetto di acquacoltura (Christensen et al., 2000; Nizzoli et al., 2006), e zone umide perfluviali (Burgin and Hamilton 2008; Scott et al., 2008).

A causa delle difficoltà tecniche legate alla corretta simulazione delle condizioni di idrodinamismo e della varietà di processi a livello iporreico, in ambito fluviale le misure dei tassi di denitrificazione e nitrato ammonificazione sono entrambe carenti; queste informazioni appaiono fondamentali in ottica di studi a scala di bacino e ancor di più quando un bacino scolante ed una zona costiera recettrice sono analizzati simultaneamente.

Le direttive comunitarie, tra le quali spiccano per importanza la direttiva nitrati (91/676/CEE) e la

direttiva quadro sulle acque (2000/60/CE), e le leggi nazionali di settore (Dlgs 152/06) hanno individuato tra gli obiettivi prioritari per la tutela delle acque superficiali interne e costiere e di falda il controllo e la riduzione del carico dei nutrienti, in particolar modo dell'azoto.

1.1. Destino ambientale dell'azoto

I termini necessari al calcolo del bilancio dell'azoto a scala di bacino presentano diversi gradi di incertezza. A livello globale si conosce il destino di circa il 35% dell'azoto reattivo, mentre il restante 65% viene accumulato in proporzioni non ancora definite nei suoli, nella vegetazione e nelle acque sotterranee oppure denitrificato ad azoto molecolare (Galloway et al., 2008). Il termine azoto reattivo è utilizzato per descrivere le forme biologicamente attive, fotochimicamente reattive e radiativamente attive dei composti azotati (Galloway et al., 2008). L'azoto reattivo comprende le forme ridotte dell'azoto (NH_3 and NH_4^+), le forme ossidate (NO_x , HNO_3 , N_2O , e NO_3^-) e i composti organici (urea, ammine e proteine) e, di conseguenza, l'azoto atmosferico è considerato un gas non reattivo.

Le incertezze che caratterizzano le stime globali dei flussi di azoto sono le stesse che interessano i calcoli a scala di bacino idrografico. Un dato che accomuna i bilanci azotati calcolati in bacini idrografici situati a diverse latitudini è quello della quantità di azoto esportata dal bacino verso altri bacini o verso le zone costiere. Vari studi, infatti, affermano che questa quantità spieghi meno del 30% dell'input di azoto nel bacino (Soana et al. 2011; Galloway et al, 2008; Boyer et al., 2002) e, di conseguenza, che la ritenzione da parte del sistema sia uguale o maggiore al 70%. Se da un lato i processi microbici implicati nella rimozione temporanea o definitiva dell'azoto reattivo dal sistema sono ben noti dal punto di vista metabolico, l'estensione e la rilevanza spaziale di questi processi non è ancora ben conosciuta. Questa situazione porta all'incertezza nei calcoli di alcuni parametri del bilancio, come ad esempio quella relativa ai tassi di denitrificazione e di nitrificazione nei suoli e nelle acque sotterranee. I processi microbici che determinano le trasformazioni dell'azoto reattivo nelle diverse forme sono, oltre che spazialmente, anche temporalmente molto variabili e sono strettamente regolati da variabili ambientali quali umidità, temperatura e disponibilità di micro e macro nutrienti.

Un altro termine del bilancio di difficile quantificazione è l'accumulo di azoto (principalmente nitrato) nelle acque sotterranee. Studi idrogeologici approfonditi sono in grado di chiarire i movimenti quantitativi delle acque sotterranee ed i termini che rientrano, più in generale, nel bilancio idrico di un bacino idrografico. La stima dei tempi e delle velocità delle acque sotterranee e della distribuzione verticale delle concentrazioni di un inquinante è un'operazione complessa che necessita di una calibrazione molto accurata. L'utilizzo di modelli idrogeologici è necessario per quantificare i processi fisici, ad esempio diluizione, a cui vanno incontro le concentrazioni di

inquinanti ma fornisce poche informazioni sui processi biologici che possono regolare la dispersione dell'inquinante stesso. In letteratura esistono dei modelli che tengono conto dei processi di denitrificazione durante il trasporto del nitrato nelle acque sotterranee, ma sono generalizzazioni di un fenomeno non ancora molto conosciuto. I processi microbici nelle falde acquifere sono, infatti, fortemente legati ai tempi di transito delle acque e al tipo di substrato che costituisce il terreno. La stima delle quantità di nitrato accumulate nelle acque sotterranee e di quelle rimosse attraverso il processo di denitrificazione è imprescindibile da una accurata valutazione delle caratteristiche idrogeologiche del sistema. Errori nella valutazione della velocità di transito o della porosità di un acquifero, ad esempio, possono portare a conclusioni errate sulla quantità di azoto accumulato nelle falde. Queste relazioni non banali in un sistema intrinsecamente difficile da studiare rendono necessaria l'interazione di più competenze in grado di mettere in relazione lo studio del trasporto e delle trasformazioni fisiche delle masse d'acqua (idrolgeologia, geologia, geochimica) a quello dei processi microbici (microbiologia, agronomia, ecologia).

La variabilità apportata dalle modificazioni antropiche del territorio si sovrappone a quella naturale, creando simultaneamente complicazioni nell'analisi dei dati e l'opportunità di analizzare la risposta degli ecosistemi in condizioni che difficilmente si possono verificare in natura. La difficoltà nell'analisi dei dati ha portato diverse sotto-discipline dell'ecologia, soprattutto quelle legate alla definizione di criteri di qualità delle acque, a creare condizioni di riferimento con le quali confrontare i sistemi alterati dalle azioni antropiche. Questo modo di procedere è un tentativo di considerare esplicitamente la variabilità dei processi naturali durante il processo di interpretazione e di analisi dei dati. Anche lo sviluppo di alcuni strumenti statistici è andato nella direzione di disaccoppiare le variazioni spazio-temporali di fondo, cioè naturali, dagli effetti veri e propri di diverse condizioni sperimentali, assimilabili a processi mediati dall'uomo. Negli studi quantitativi, come possono essere considerati i bilanci di massa, devono essere tenuti in considerazione sia i movimenti naturali delle masse d'acqua sia quelli provocati dall'uomo. Più in specifico, in ambienti a vocazione fortemente agro-zootecnica, l'irrigazione crea situazioni idrologiche particolari che alterano il movimento naturale delle acque e i processi ad esso associati. Nella sola regione Lombardia il 97%, pari a 8 miliardi m^3 $anno^{-1}$, delle acque utilizzate per l'irrigazione proviene da corpi idrici superficiali ed utilizzate in un intervallo temporale che va in linea generale da aprile a fine agosto (INEA, 2009). Buona parte delle acque d'irrigazione raggiunge le acque sotterranee, alterando in questo modo le dinamiche naturali del ciclo idrologico. Tenere in considerazione la variabilità spazio-temporale associata a questi movimenti è complicato e necessita di studi idrologici approfonditi. I movimenti sub-superficiali dell'acqua, infatti, si sviluppano su scale temporali di decenni o centinaia di anni, per cui più eventi temporalmente sfasati contribuiscono

alla determinazione delle caratteristiche chimico-fisiche delle singole parcelle d'acqua (Figura 1.1).

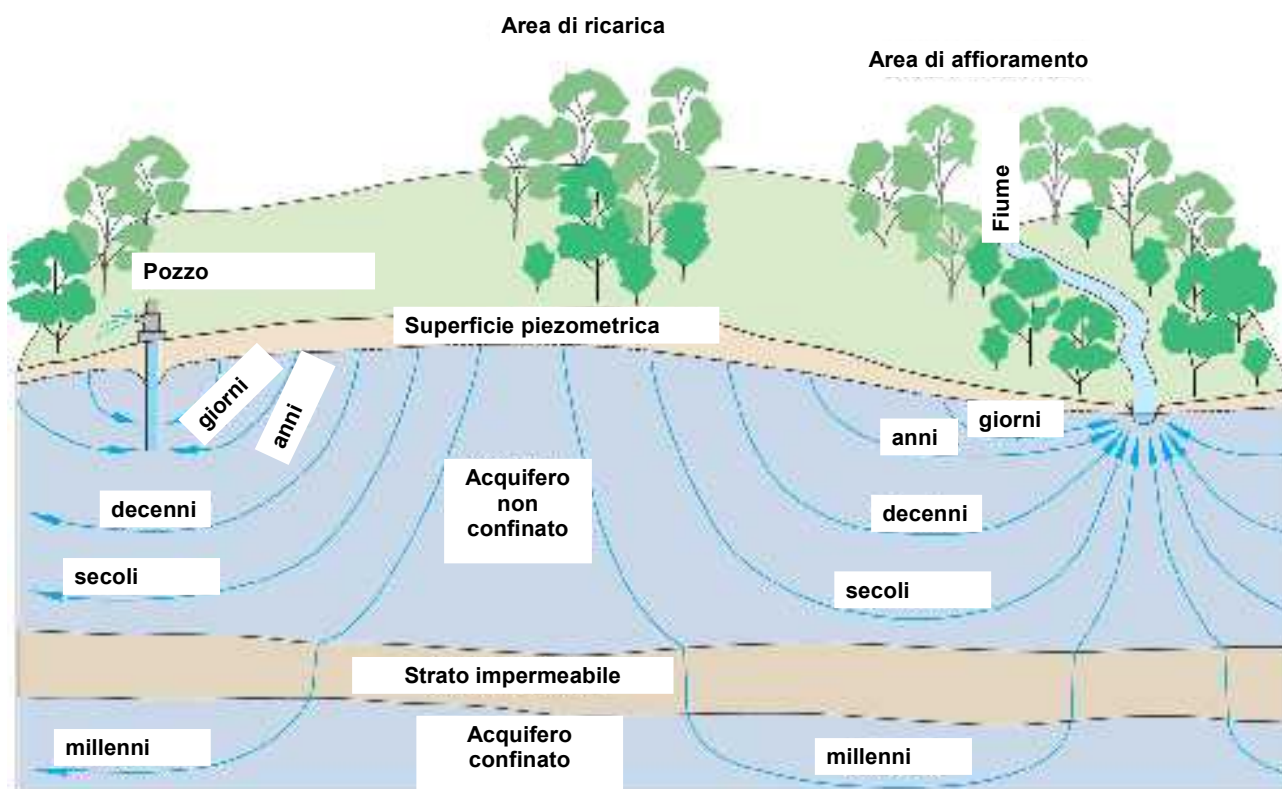


Figura 1.1. Schema dei movimenti sub-superficiali dell'acqua di falda (da Puckett et al., 2011)

1.2. Possibili conseguenze dell'eccesso di azoto nelle aree agricole: gas serra nelle acque di falda

La necessità di sostenere un'agricoltura intensiva per sostenere una popolazione mondiale in costante crescita determina contemporaneamente un aumento degli effetti deleteri sull'ambiente sia a scala locale che globale. Uno degli effetti meno evidenti, ma allo stesso tempo più preoccupanti, è l'emissione di gas serra dalle aree agricole che rappresenta circa il 20% delle emissioni di CO_2 , CH_4 e N_2O a livello globale (Cole et al., 1997). Se l'aumento delle concentrazioni atmosferiche di metano e anidride carbonica è causato da una molteplicità di fonti, l'aumento delle concentrazioni di protossido d'azoto è dovuto quasi esclusivamente alle attività agro-zootecniche (IPCC, 2001). Il protossido d'azoto è un potente gas serra prodotto principalmente attraverso i processi microbici di nitrificazione e denitrificazione e possiede un potenziale serra circa 300 volte maggiore di quello della CO_2 (IPCC). Modelli previsionali indicano che nei prossimi 100 anni il protossido d'azoto diventerà la causa principale di distruzione dell'ozono stratosferico e uno tra i principali gas serra insieme a CO_2 e CH_4 (Ravishankara et al., 2009). Le considerevoli emissioni di protossido d'azoto dai campi coltivati sono, al pari delle elevate concentrazioni di nitrato nelle acque, segnale

dell'inefficienza dei sistemi agricoli di metabolizzare per intero l'azoto che viene somministrato per il sostentamento delle colture. Nello studio delle emissioni di gas serra in ambienti agricoli uno degli aspetti meno studiati è quello delle emissioni indirette di N_2O , cioè di quelle emissioni causate dalla percolazione o dal ruscellamento di azoto dai campi coltivati verso altri sistemi (reticolo idrografico, superficiale, acque sotterranee, ecc.). L'accumulo e la produzione di ingenti quantità di questo gas nelle acque sotterranee sono fenomeni poco studiati ma potenzialmente rilevanti nei bilanci di massa. Il numero di studi volti a valutare la concentrazione di N_2O nelle acque sotterranee è limitato (Ronen et al, 1977), ma ancor più limitato è il numero di quelli indirizzati alla valutazione delle dinamiche e dei processi che ne determinano la formazione (Ronen et al., 1988, Hiscock et al.2003). Diversi autori affermano che il contributo relativo delle acque sotterranee all'emissione di gas serra sia poco rilevante (Mühlherr and Hiscock, 1998; Weymann et al., 2008), anche se sono pochi gli studi che mettono in relazione le caratteristiche idrogeologiche dei sistemi con la produzione o il consumo di N_2O da parte di processi microbici. Ancora una volta, nel caso delle acque sotterranee, la mancanza di interdisciplinarietà nello studio di fenomeni complessi non consente di fornire delle stime realistiche su processi che possiedono dei risvolti importanti sia a livello locale che globale. Alla mancanza di studi multidisciplinari si unisce la limitata disponibilità di soluzioni tecnologiche che consentano di studiare al meglio questi fenomeni. Discriminare il processo che porta alla presenza di elevate concentrazioni di N_2O nelle acque sotterranee sarebbe di fondamentale importanza per la gestione dei sistemi agricoli e per valutazioni generali sui bilanci di massa dell'azoto. Al contrario di quanto avviene per la molecola del nitrato, la composizione isotopica del protossido d'azoto non aiuta a chiarire i processi microbici o fisici che lo hanno generato. Le ultime tecniche di analisi, che riguardano la posizione intramolecolare degli isotopi nella molecola di N_2O sembrano promettenti (Yoshida and Toyoda, 2000), ma manca ad oggi una validazione estensiva che prenda in considerazione delle situazioni ambientali complesse.

1.3. Manifestazioni superficiali delle acque sotterranee: i fontanili come sorgenti di nitrato e gas serra

Lo studio delle acque superficiali e sotterranee è tradizionalmente appannaggio di discipline distinte che le considerano come comparti separati e solo marginalmente comunicanti (Figura 1.2). Negli anni '80 il bisogno di delineare teorie generali in ecologia fluviale portò al fiorire di concetti che vennero successivamente modificati alla luce dei risultati sperimentali. In particolare i nuovi concetti portarono a considerare nuove dimensioni spaziali da studiare: dalla direzione principalmente longitudinale del “River Continuum Concept” (Vannote et al., 1980) e del “Nutrient Spiralling” (Newbold et al., 1981), alla dimensione trasversale del “Flood Pulse Concept” (Junk et al., 1989) fino ad arrivare a quelle verticale e temporale descritte nel lavoro di Ward “The four-

dimensional nature of lotic ecosystems” (1989). Nonostante sia stata teorizzata formalmente nel 1989 pochi studi hanno approfondito l'interazione tra acque superficiali e sotterranee. Da un punto di vista idrogeologico, invece, il fiume è visto come l'affioramento superficiale di acque sotterranee dovuto a cause geologiche di vario tipo. Generalmente, l'approccio idrogeologico non considera adeguatamente le attività biologiche che avvengono nell'alveo fluviale, in grado di modificare i parametri chimico-fisici delle acque con un'intensità maggiore rispetto a quanto avviene nelle acque sotterranee. Il metabolismo complessivo delle acque superficiali, infatti, è di ordini di grandezza maggiore rispetto a quello delle acque sotterranee e può determinare una severa variazione delle caratteristiche chimiche delle acque in tempi molto rapidi. Nel 1999 l'USGS (US Geological Survey, Winter et al., 1999) propose una visione integrata dei comparti d'acqua superficiale e sotterranea, come risultato di uno studio intensivo sullo stato qualitativo e quantitativo delle falde acquifere. Quel documento, muovendosi nella direzione di un approccio multidisciplinare, fornisce molti spunti per una conoscenza più approfondita dei fenomeni idrologici e chimici che controllano i sistemi fluviali. Il limite più grande che emerge dalla sua lettura è quello di considerare solo marginalmente i processi biologici che avvengono nelle acque superficiali e le modificazioni che essi apportano.

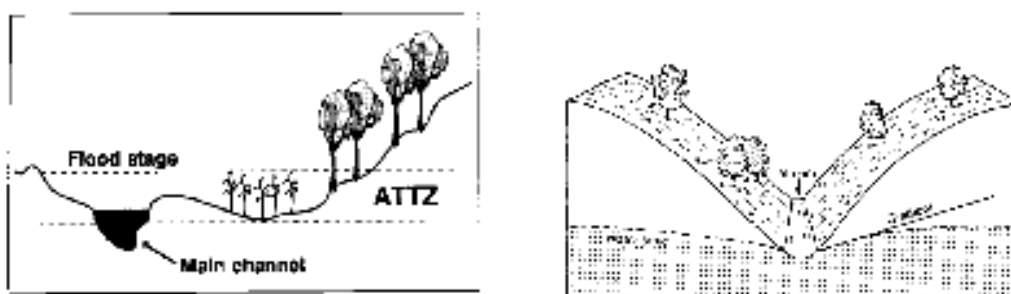


Figura 1.2. Rappresentazione di un fiume con un modello concettuale ecologico, a sinistra (Johnson et al., 1995), e idrogeologico a destra (Fetter, 2001).

L'interazione tra acque sotterranee e superficiali può manifestarsi in modi più evidenti e puntiformi, sostenendo degli ecosistemi particolari come i fontanili, sorgenti semi-naturali che possono essere definite come venuta a giorno di acque sotterranee legate alla variazione di permeabilità dei sedimenti (Minelli et al., 2002). I fontanili sono distribuiti lungo tutta la fascia di media pianura che va dal Friuli all'Emilia Romagna passando per Veneto, Lombardia e Piemonte formando la cosiddetta fascia dei fontanili (Figura 1.3).



Figura 1.3. Estensione geografica della fascia dei fontanili. In Emilia Romagna la falda è discontinua e la portata dei fontanili ridotta (da Minelli et al., 2001).

Le caratteristiche tipiche di un fontanile sono uno scavo di forma circolare profondo qualche metro (testa) e la presenza sul fondo di questo scavo di tubi di drenaggio che facilitano la fuoriuscita delle acque sotterranee (Figura 1.4). Lo scavo profondo intercetta la falda superficiale mentre i tubi di drenaggio, profondi fino a 12 metri, facilitano l'uscita di acqua che fuoriesce spontaneamente in modo analogo a quanto avviene nei pozzi artesiani. In realtà quest'ultimo fenomeno è classificato come pseudoartesiano, poiché i filetti d'acqua situati a profondità maggiore possiedono una pressione idrostatica tale da consentirne la fuoriuscita spontanea dal tubo di drenaggio. Nei pozzi artesiani in senso stretto, invece, sono presenti strati impermeabili che determinano un confinamento della falda con conseguente aumento della pressione idrostatica. L'origine dei fontanili è da imputarsi alla particolare conformazione geologica della pianura padana, il più grande bacino alluvionale italiano formatosi principalmente attraverso i processi erosivi che si sono verificati e succeduti durante il quaternario. La granulometria del suolo decresce con l'aumentare della distanza dalla catena alpina e appenninica, da cui hanno avuto origine i sedimenti erosi, in direzione Nord-Ovest/Sud-Est e Sud-Ovest/Nord-Est rispettivamente. Parallelamente alla variazione della granulometria decresce anche la permeabilità dei substrati, passando da elevati valori delle ghiaie e sabbie dell'alta pianura ai bassi valori tipici dei limi e delle argille presenti prevalentemente nella bassa pianura. La zona di transizione tra le 2 aree è caratterizzata da numerose sorgenti, disposte a formare la fascia dei fontanili, che attraversa la pianura padana in direzione parallela a quella delle Alpi. L'area dei fontanili è sottoposta ad attività agricole e zootecniche di diversa tipologia ed intensità a cui sono associati generalmente carichi di azoto al

suolo molto variabili. Essendo alimentati dalla porzione di acquifero superficiale più vicina alla superficie topografica, le caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili possono essere utilizzate per valutare le cause e le conseguenze di diversi modi di utilizzare il territorio.

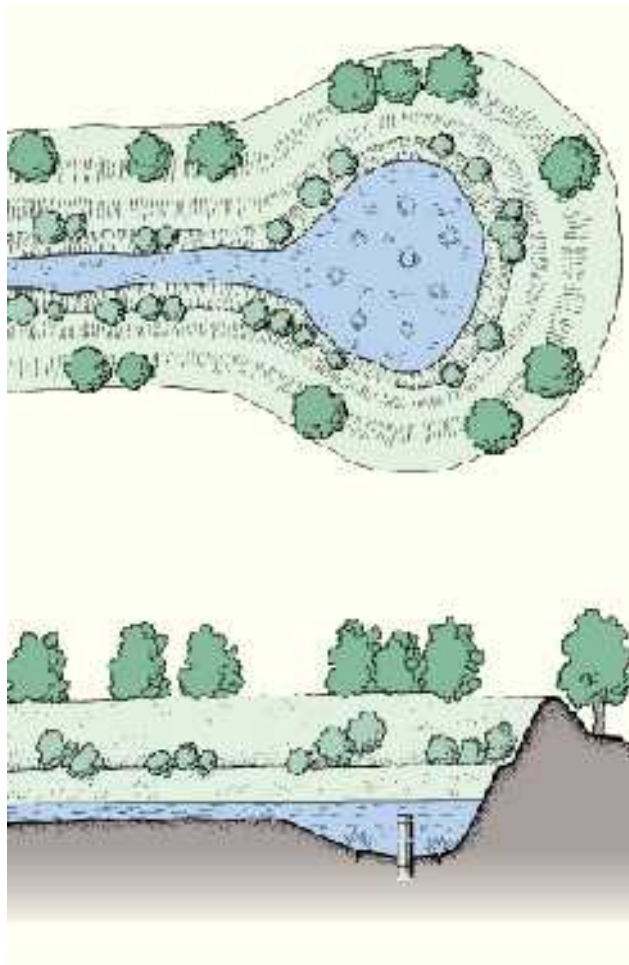


Figura 1.4. Sezione e pianta di un tipico fontanile (da Minelli et al., 2001).

2 Obiettivi

Negli studi di ecologia classica si è dato sempre maggior risalto alla biologia degli organismi, trascurando spesso il valore del contesto ambientale nel determinare i processi e i pattern di dispersione degli organismi a qualsiasi livello evolutivo e gerarchico. In alcuni sistemi abbastanza stabili nel tempo e relativamente semplici da studiare tecnicamente (laghi, ambienti marini poco profondi, ecc.), l'accoppiamento tra comparto fisico e organismi viventi ha permesso di delineare molti aspetti di regolazione fine dei processi ecosistemici. La scala spaziale di studio di alcuni fenomeni fisici, inoltre, deve considerare l'eterogeneità del territorio e la funzione dei diversi comparti che lo compongono, approccio tipico dell'ecologia del paesaggio.

In questo contesto generale, il presente lavoro di tesi è mirato alla valutazione del ruolo dei fontanili nel riciclo e nell'emissione di alcuni inquinanti generati dalle attività agro-zootecniche, considerando le componenti del territorio come mutualmente dipendenti. Le caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili, infatti, possono essere considerate come rappresentative di quelle della porzione superficiale della falda freatica e, di conseguenza, dei processi che in esse avvengono. Più in generale l'attenzione è stata rivolta alla quantificazione di fenomeni poco conosciuti e ad inferire i processi microbiologici ed idrologici che determinano il riciclo degli inquinanti agricoli dai campi coltivati verso il reticolo idrografico superficiale. Gli obiettivi specifici sono pertanto:

1) **Valutazione del ruolo potenziale dei fontanili come sorgenti puntiformi di nitrato e di gas serra, in particolare di N₂O**

Background. Molti studi effettuati in aree in cui sono presenti attività agro-zootecniche intensive riportano elevate concentrazioni di nitrato nelle falde acquifere (Puckett et al., 2011). A causa della disponibilità di forme inorganiche dell'azoto alcuni prodotti di processi microbici si accumulano nelle acque in concentrazioni elevate, come ad esempio il protossido d'azoto (Ronen et al., 1988).

Contestualizzazione. I bacini di ricarica dei fontanili sono sottoposti a carichi di azoto la cui entità dipende dalla tipologia delle colture più estese nel bacino stesso. I pochi dati di letteratura definiscono i fontanili come ambienti strettamente oligotrofici (Minelli et al., 2001).

Ipotesi. A causa della granulometria grossolana che caratterizza i suoli dei bacini di ricarica in cui sono localizzati i fontanili, le concentrazioni di nitrato e di protossido di azoto nelle falde sottostanti dovrebbero essere rilevanti. Le acque sotterranee dovrebbero fungere da accumulo temporaneo di questi elementi e i fontanili riportare in superficie parte di queste acque, dalle cui caratteristiche è possibile tentare di inferire i processi che ne influenzano la composizione. I fontanili, di conseguenza rappresenterebbero degli hot-spot di riciclo di nitrato verso la superficie e di emissione di gas serra.

2) Valutazione dell'inquinamento da erbicidi nelle acque sotterranee

Background. L'attività di diserbo delle colture determina l'introduzione nei sistemi agricoli di molecole complesse che subiscono al contempo processi di trasporto e di degradazione chimica e biologica verso le acque sotterranee. Diversi erbicidi e prodotti di degradazione sono stati rinvenuti in concentrazioni elevate nelle acque sotterranee di aree a forte vocazione agricola.

Contestualizzazione. L'area che si estende dal fiume Adda al fiume Mincio è caratterizzata dalla coltivazione intensiva del mais, per la cui crescita vengono somministrati erbicidi in quantità elevate. Questi erbicidi differiscono per la capacità di adsorbimento al suolo e per la mobilità in ambiente acquatico.

Ipotesi. Variabilità delle concentrazioni di erbicidi nelle falde acquifere a causa dei tempi di transito verticali e orizzontali dell'acqua, della tipologia del suolo e dell'estensione delle colture nel bacino di ricarica dei fontanili. Concentrazioni elevate di erbicidi potrebbero avere effetti deleteri sulle biocenosi acquatiche presenti nei fontanili.

3) Stima della variabilità spaziale e temporale delle caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili

Background. I sistemi fluviali sono noti per avere una forte variabilità nelle concentrazioni e nei carichi nelle stazioni di chiusura dei bacini. La parte superficiale della falda freatica, inoltre, è quella maggiormente soggetta all'influenza delle attività antropiche che avvengono in superficie e alle variazioni climatiche stagionali. Le interazioni tra falda e fiume sono ancora poco studiate, soprattutto a scala spaziale di bacino.

Contestualizzazione. Come detto in precedenza, l'area che si estende dal fiume Adda al fiume Mincio è caratterizzata dalla coltivazione intensiva del mais. Le pratiche utilizzate per irrigare il mais sono quelle tradizionali e meno efficienti (sommersione, scorrimento, aspersione). Dati di letteratura definiscono i fontanili come aventi caratteristiche chimico-fisiche costanti nel tempo. Nella cosiddetta fascia dei fontanili la falda freatica si approssima alla superficie topografica, apportando consistenti quantitativi d'acqua al fiume.

Ipotesi. Le pratiche agricole si sovrappongono alle variazioni climatiche stagionali determinando una variazione delle caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili. L'acqua di fiume, in ogni punto del suo percorso, può essere interpretata come mescolamento di acque di diversa origine. Tra le fonti che contribuiscono a tale mescolamento le acque di falda potrebbero assumere un ruolo importante. Conoscendo la variabilità spazio-temporale delle caratteristiche chimico-fisiche dei fontanili, e quindi della porzione superficiale dell'acquifero, dovrebbe essere possibile risalire al quantitativo di acqua al fiume (il "baseflow" ben noto in idrogeologia).

3 Quadro conoscitivo di sintesi relativo ai percorsi dell'azoto nel bacino del Fiume Oglio sublaculae

Viene introdotta la criticità azoto in un bacino idrografico lombardo studiato da diversi anni dal gruppo di biogeochimica del Dipartimento di Scienze Ambientali (Bartoli et al., 2011, Biogeoscience Discussions). Il quadro di sintesi riportato in questo capitolo delinea, su scala vasta (quasi 4000 km²), le principali sorgenti dell'azoto in ambito agro-zootecnico, i processi di trasferimento al reticolo idrografico secondario e principale, il trasporto ed i processi di rimozione negli ambienti acquatici ed evidenzia macroscopiche discrepanze nel bilancio di massa a livello di bacino di questo elemento. La struttura di questo capitolo segue un percorso non convenzionale; il lettore è guidato da una storia che segue fedelmente l'evoluzione della ricerca e che in fondo ha portato a questa tesi di dottorato. Il punto di partenza è una "anomalia" emersa da un piano di monitoraggio delle acque del fiume e in particolare da un aumento apparentemente non giustificato del tenore dell'azoto nitrico in un segmento settentrionale del fiume Oglio. La comprensione di questo fenomeno ha portato a tracciare un bilancio di massa di questo elemento e di considerare, per la prima volta a nostra conoscenza nella realtà nazionale, i percorsi ed i processi sub superficiali dell'azoto. Questo studio iniziale non dimostra nulla ma porta un discreto numero di evidenze indirette che affermano l'importanza dello studio delle interazioni fiume-falda e della caratterizzazione delle acque di risorgenza quale strumento per comprendere le dinamiche dell'azoto a livello di bacino ed i processi in ambito fluviale. Questo capitolo è quindi seguito dagli approfondimenti sperimentali effettuati in un numero di fontanili soggetti a pressioni antropiche multiple, analoghe a quelle descritte di seguito.

3.1. Introduzione

Negli ultimi 50 anni le attività agro-zootecniche intensive hanno provocato una forte alterazione del ciclo dell'azoto a diverse scale spaziali, partendo dal campo coltivato sino ad arrivare a risvolti a scala globale. A livello di bacino idrografico tale alterazione è avvenuta come conseguenza di una molteplicità di fattori, le cui interazioni e variabilità spazio-temporale determinano l'inabilità di trovare cause ed effetti di immediata interpretazione e generalizzazione (Vitousek et al., 1997).

L'utilizzo di quantità sempre maggiori di concime organico e di fertilizzanti di sintesi, la coltivazione di colture azoto-fissatrici e le deposizioni atmosferiche hanno determinato un massiccio rilascio di azoto reattivo nell'ambiente in quantità eccedenti rispetto alle necessità delle colture e altri processi di rimozione dell'azoto (Puckett, 1995; Cassman, 2002; Galloway et al.,

2008). Lo sviluppo di un'agricoltura intensiva ha portato ad una disgiunzione tra le gestione del territorio e le pratiche agricole, al contrario di quanto avveniva con le pratiche agricole tradizionali. Questa disgiunzione ha provocato una semplificazione generalizzata del territorio attraverso la rimozione di fasce riparie boscate e altri buffer naturali in grado di tamponare il rilascio di azoto reattivo verso i corpi idrici. L'assenza di questi elementi del territorio ha come conseguenza diretta l'aumento dell'intensità dei flussi laterali e verticali di azoto, rendendo le acque superficiali e di falda più inclini alla contaminazione (Balestrini et al., 2011).

La non completa transizione verso un'agricoltura moderna, dovuta a limitazioni tecnologiche e resistenze culturali, si traduce in un protrarsi di pratiche agricole inefficienti che si uniscono all'assenza di buffer efficaci. Ne è un esempio l'utilizzo di pratiche irrigue tradizionali basate sull'irrigazione a scorrimento e il conseguente utilizzo di enormi volumi d'acqua (Cassman, 2002; Böhlke et al., 2007). In particolari condizioni pedologiche (granulometria grossolana del substrato) queste pratiche irrigue determinano elevati tassi di infiltrazione verticale, riducendo il tempo di residenza delle acque sotterranee, alterando di conseguenza i tassi delle reazioni biogeochimiche. Nelle acque superficiali, invece, concentrazioni elevate di azoto reattivo saturano i processi microbici e l'uptake da parte dei produttori primari, rendendo il controllo dell'azoto da parte dei processi naturali meno efficiente (Böhlke et al., 2007; Mulholland et al., 2008). Gli effetti di un carico di azoto troppo elevato sono ben documentati e vanno dagli effetti negativi sulla salute umana, all'eutrofizzazione fino a indurre parte dei cambiamenti climatici globali (Ward et al., 2005; Davidson, 2009; Howarth et al., 2011). A discapito delle buone conoscenze degli effetti provocati da un eccesso di azoto reattivo nelle acque, le vie di dispersione e i principali processi di regolazione non sono ancora stati chiariti (Puckett et al., 2011).

Il presente studio è stato svolto nel bacino del fiume Oglio sublacuale (3800 km²) nel bacino idrografico del fiume Po (71057 km²). Il bacino del fiume Po ospita una popolazione di circa 17 ×10⁶ abitanti, circa 3.1×10⁶ bovini (~ 50 % della produzione nazionale) e 6.0×10⁶ suini (~ 65 % della produzione nazionale). L'agricoltura e le attività zootecniche producono da sole circa l'80% del carico totale di azoto generato nel bacino idrografico del Po (550 000 t N yr⁻¹). Questo carico ha portato ad una contaminazione diffusa delle acque superficiali e sotterranee in diverse parti della pianura padana (Cinnirella et al., 2005). Negli ultimi 20 anni, inoltre, il carico netto annuale trasportato dal fiume Po è aumentato di circa 2-3 volte, passando da ~ 40×10⁶ t N yr⁻¹ nel periodo 1968-72 a 143×10⁶ t N yr⁻¹ dal 1990 in poi. L'azoto reattivo trasportato dal fiume Po, che rappresenta la maggior voce di input nel Mare Adriatico, ha portato a fenomeni di anossia ed eutrofizzazione nel delta del fiume (Franco e Michelato, 1992; Zoppini et al., 1995). All'interno del bacino idrografico del fiume Po, un sottobacino con caratteristiche idonee a condurre studi sulle

dinamiche dell'azoto è quello del fiume Oglio sublacuale. Questo sottobacino è caratterizzato dalla presenza di un elevato numero di abitanti, da attività agro-zootecniche intensive (con il mais come coltura prevalente), da suoli altamente permeabili, da un paesaggio fortemente semplificato e da pratiche irrigue altamente inefficienti.

3.2. Area di studio

Il fiume Oglio sublacuale ha origine dal lago d'Iseo ed è immissario di sinistra del fiume Po (Figura 3.1). La regolazione operata con la diga di Sarnico tendono ad ottimizzare l'uso dell'acqua che fluisce attraverso una serie di 6 centrali per la produzione di energia idroelettrica, localizzate nei primi 22 km del corso d'acqua. Il livello dell'acqua è mantenuto in un intervallo ridotto (184.85 - 186.55 m s.l.m.) in modo da trattenere l'acqua del lago durante i periodi non irrigui per poi rilasciarla durante l'estate, quando la richiesta per usi irrigui è elevata. Il rilascio di acqua dal lago d'Iseo è di $45 \pm 33 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ durante il periodo non irriguo e di $67 \pm 32 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ durante il periodo irriguo (www.laghi.net/Oglio/), generalmente compreso tra Maggio e Settembre. Durante il periodo irriguo, un quantitativo d'acqua che può raggiungere gli $85 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ è in grado di alimentare una serie di canali artificiali, per la maggior parte situati nei primi 42 km del fiume. Come conseguenza, la portata del fiume Oglio è generalmente minima immediatamente dopo queste diversioni specialmente durante periodi caratterizzati da scarse precipitazioni. Il tipo di irrigazione utilizzato nella quasi totalità del bacino (più del 75% della superficie agricola) è a scorrimento, pratica tradizionale resa possibile dall'elevata disponibilità d'acqua della zona e dai suoli altamente permeabili che consentono il rapido drenaggio dell'acqua in eccesso.

Il fiume Oglio attraversa il più grande bacino alluvionale d'Italia, la Pianura Padana, formatosi principalmente attraverso i processi erosivi che si sono verificati e succeduti durante il quaternario. La granulometria del suolo decresce con l'aumentare della distanza dalla catena alpina, da cui hanno avuto origine i sedimenti erosi, in direzione Nord-Ovest/Sud-Est. Parallelamente alla variazione della granulometria decresce anche la permeabilità dei substrati, passando da elevati valori delle ghiaie e sabbie dell'alta pianura ai bassi valori tipici dei limi e delle argille presenti prevalentemente nella bassa pianura. La zona di transizione tra le 2 aree è caratterizzata da numerose sorgenti, disposte a formare la cosiddetta fascia dei fontanili, che attraversa la pianura padana in direzione parallela a quella delle Alpi ed è attraversata dal fiume Oglio a circa 30 km dal lago d'Iseo. Il fiume risulta alimentato da acque sotterranee per la maggior parte della sua lunghezza. (Regione Lombardia, 2006). La soggiacenza della falda superficiale varia tra i 30 m a NO del bacino e i 2-3 m a SE. (Carcano e Piccin, 2002).

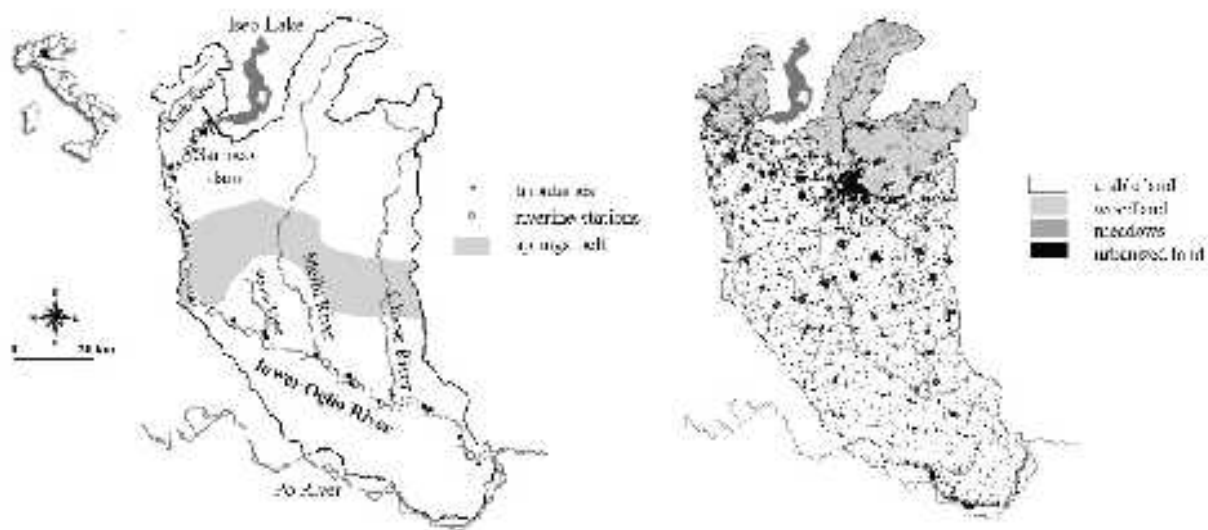


Figura 3.1. Le due mappe mostrano il bacino del fiume Oglio sublacuale con le stazioni di campionamento, i tributari e la fascia dei fontanili (a sinistra) e quella dell'uso del suolo (a destra) (da Bartoli et al., 2011).

3.3. Evoluzione temporale della concentrazione di nitrato nel fiume Oglio sublacuale

Il fiume Oglio sublacuale è stato oggetto di studio dal 2007, nel contesto di un progetto volto a valutare strategie di riqualificazione fluviale e a quantificare il deflusso minimo vitale di questo fiume (Racchetti et al., 2008, 2010). Le misure di portata sono state fornite dal Consorzio dell'Oglio, l'autorità che gestisce le acque del fiume presso la diga di Sarnico. I campioni d'acqua sono stati prelevati da circa 80 stazioni lungo il corso del fiume, di cui 60 sull'asta fluviale e 20 distribuite tra affluenti principali e depuratori (n = 20, Figura 3.1).

I campioni d'acqua sono stati analizzati per determinare la concentrazione di NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , DIN (azoto inorganico disciolto) e PN (azoto particellato), utilizzando tecniche di analisi spettrofotometriche (A.P.H.A., 1981). Durante alcune campagne di campionamento sono stati prelevati campioni dal fiume Oglio e dagli affluenti al fine di caratterizzare gli isotopi stabili del nitrato ($\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{18}\text{O}$) (Delconte et al., 2011a,b). Gli isotopi stabili sono stati determinati utilizzando il metodo di scambio ionico su resina proposto da Silva et al. (2000) modificato per le acque del fiume Oglio.

L'analisi dei dati ottenuti ha messo in evidenza dei trend spaziali della concentrazione di nitrato, che si ripetono durante le campagne estive dei 4 anni consecutivi di monitoraggio. In particolare le concentrazioni di NO_3^- presentano un rapido incremento, di circa 10 volte, da circa 55 a 550 μM in

un segmento fluviale che va dal km 25 al km 50 (Figura 3.2).

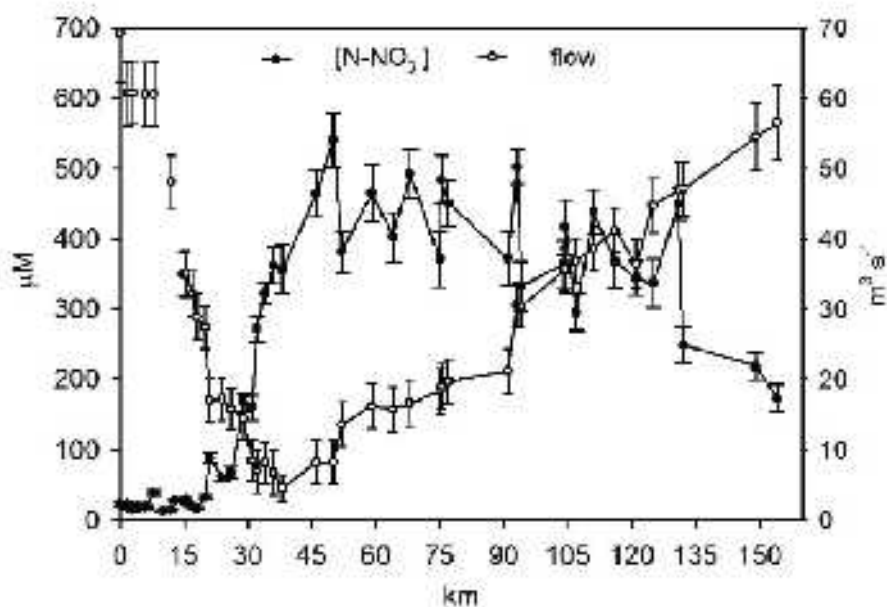


Figura 3.2. Concentrazione di azoto nitrico e portate nel fiume Oglio sublacuale. I valori sono medie (\pm deviazione standard) dei valori dei campionamenti effettuati il 3-5 Luglio 2007, il 9-11 Luglio 2008, il 5-7 Agosto 2009 e il 28-30 Luglio 2010 (da Bartoli et al., 2011).

Questo segmento fluviale è localizzato a valle della diversione da cui si origina il più grande canale di irrigazione e presenta portate fortemente ridotte, comprese tra 5 e 10 m³ s⁻¹. L'incremento di NO₃⁻ nel tratto di fiume considerato equivale a un input nel fiume Oglio che varia tra i 4000 e gli 8000 kg N-NO₃⁻ d⁻¹. Dal momento in cui questo tratto di fiume non possiede affluenti o scarichi provenienti da impianti di depurazione, le sorgenti puntiformi non possono essere responsabili per l'incremento di nitrato. Il problema principale presente in quest'area è probabilmente da imputare ad un inquinamento di tipo diffuso. Per verificare questa ipotesi sono stati catalogate e quantificate tutti le potenziali sorgenti e vie di rimozione dell'azoto.

3.4. Bilancio dell'azoto nel bacino del fiume Oglio sublacuale

Il calcolo del bilancio di massa dell'azoto nel fiume Oglio è stato effettuato utilizzando l'approccio del "soil system budget" (Oenema et al., 2003).

Il "soil system budget" è stato calcolato su base annua come differenza, a livello di superficie agricola utilizzata (SAU), tra gli input di N (fertilizzanti organici, fertilizzanti inorganici, deposizioni atmosferiche, azoto-fissazione, fanghi di depurazione) e gli output di N (uptake delle

piante, volatilizzazione dell'ammoniaca, denitrificazione nei suoli). Tra questi termini, la volatilizzazione dell'ammoniaca e la denitrificazione nei suoli sono state quantificate utilizzando dati di letteratura (Bussink et al., 1998; Asman et al., 1998; Rotz et al., 2004; Hofstra et al., 2005) a causa della mancanza di dati sito-specifici per l'area di studio presa in esame.

Il bilancio è stato calcolato alla risoluzione spaziale di comune (500-9000 ha) usando dati dei censimenti agricoli 2000 e 2008 aggregati a scala di bacino utilizzando tecniche GIS. I calcoli del budget fanno affidamento su database ad elevato dettaglio e su coefficienti agronomici sito-specifici, laddove disponibili.

I calcoli indicano che nel 2000 l'input di N è stato di 80000 t yr⁻¹ e che la maggior parte è attribuibile all'apporto di concimi organici (50%) e sintetici (35%). L'output è risultato essere di 50000 t N yr⁻¹ per la maggior parte sostenuto dall'uptake delle piante coltivate. La differenza tra input e output è di 30000 t N yr⁻¹. Il budget stimato per l'anno 2008 è risultato positivo, con una differenza tra input e output di 40000 t N yr⁻¹. Gli input da fertilizzanti organici e minerali sono aumentati di circa il 20 % in un periodo 10 anni. Per entrambi gli anni e quasi ovunque nel bacino, il concime proveniente dagli animali allevati è risultato il maggior input di N (Tabella 3.1).

Tabella 3.1. Bilancio dell'azoto nel bacino del fiume Oglio sublacuale calcolato per gli anni 2000 e 2008. I dati sono espressi in tonnellate di azoto prodotto o consumato per anno nel bacino, ma anche come kg di azoto prodotti o consumati per anno per ettaro si SAU (Superficie Agricola Utilizzata) (modificata da Bartoli et al, 2011).

Termini del bilancio	2000		2008	
	t N yr ⁻¹	kg N ha ⁻¹ AL yr ⁻¹	t N yr ⁻¹	kg N ha ⁻¹ AL yr ⁻¹
INPUT				
Concime organico	42521	187	51512	232
Fertilizzanti minerali	27640	121	33654	151
Azoto-fissazione	7975	27	12182	35
Deposizioni atmosferiche	1800	8	1800	8
Fanghi di depurazione	-	-	1057	5
Σ input	79936	351	100115	450
OUTPUT				
Uptake	34259	150	38915	175
Volatilizzazione NH ₃	10147	45	12704	57
Denitrificazione nei suoli	7016	31	8440	38
Σ output	51422	226	60060	270
Bilancio	28514	125	40056	180

Il confronto tra input e output di azoto suggerisce la presenza di un elevato surplus di N nel bacino del fiume Oglio sublacuale, in media 180 kg N ha⁻¹ SAU yr⁻¹ (bilancio 2008). Il surplus di azoto è comunque molto variabile all'interno del bacino idrografico, come è possibile osservare in Figura 3.3.

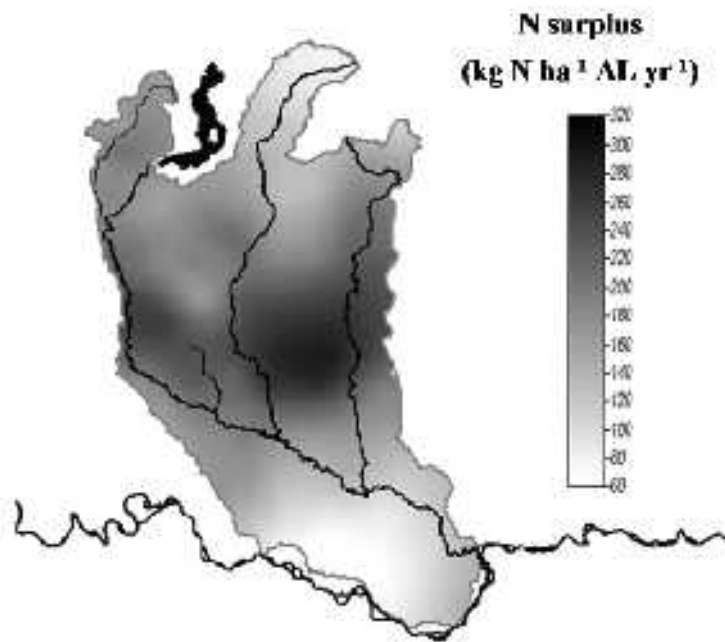


Figura 3.3. Distribuzione spaziale del surplus azotato (= alla differenza tra input e output di azoto calcolato con il “Soil system budget”) nel bacino del fiume Oglio sublacuale. I valori del surplus azotato a livello comunale sono stati assegnati ai centroidi dei 250 comuni all'interno del bacino e successivamente interpolati con la tecnica del kriging ordinario (da Bartoli et al., 2011).

L'area che presenta maggior criticità è quella della media pianura, in cui molti comuni possiedono surplus di N che eccedono il valore di $400 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ SAU yr}^{-1}$. Considerando che i limiti di legge per lo spandimento di reflui di allevamento sono di 170 kg N ha^{-1} in zona vulnerabile e di 340 kg N ha^{-1} in zona non vulnerabile, la situazione di alcuni comuni è rilevante in quanto presentano surplus di entità maggiore (ricordando che i surplus sono al netto degli output di N dal sistema). Il confronto tra i bilanci di massa del 2000 e 2008 mette in evidenza come la situazione peggiori piuttosto che migliorare, come richiesto dalla direttiva europea sui nitrati (91/976EEC).

Il “nitrogen use efficiency” (NUE) degli agroecosistemi è definito come la proporzione degli input di N contenuta nella biomassa delle colture raccolte (Liu et al., 2008). Il NUE del bacino dell'Oglio sublacuale, essendo diminuito dallo 0.43 del 2000 allo 0.39 del 2008, riflette il rischio sempre crescente che l'azoto in eccesso sia trasportato verso gli ecosistemi acquatici.

3.5. Contributo degli scarichi domestici ed industriali

Il numero di abitanti presenti nel bacino del fiume Oglio sublacuale era 1140000 nel 2000 e 1270000 nel 2008. Assumendo un produzione pro capite di azoto di 12.5 g d^{-1} , il carico potenziale di azoto risulta di 5200 t N yr^{-1} nel 2000 e 5800 t N yr^{-1} nel 2008, con un incremento netto dell'11%. L'entità di questi carichi è tale per cui gli scarichi di origine civile contribuiscono solo per il 6% dell'input di N nel bacino del fiume Oglio sublacuale. Circa l'85% della popolazione presente nell'area di studio è connessa a sistemi di trattamento dei reflui, di conseguenza la quasi totalità degli scarichi è collettata ad impianti di depurazione prima di raggiungere il reticolo idrografico principale e secondario.

Sulla base di quanto riportato nei database regionali (Regione Lombardia, 2006), nell'area di studio sono presenti circa 210 impianti di depurazione con una capacità totale di circa 1100000 abitanti equivalenti. Il 53% degli impianti ha una capacità di 2000 abitanti equivalenti e solo il 6% ha una capacità maggiore di 10000. Il numero di impianti di depurazione che scaricano direttamente nell'asta del fiume Oglio è limitato (9), la restante è dispersa nel territorio e scarica gli effluenti nel reticolo idrografico secondario.

I calcoli effettuati rappresentano una stima in eccesso del carico reale collettato dagli impianti di depurazione verso le acque superficiali in quanto non è stato considerato il processo di denitrificazione che avviene all'interno di tali impianti e che rimuove definitivamente parte dell'azoto dal sistema. Circa il 53% degli impianti, infatti, opera la denitrificazione come trattamento terziario, che porta alla rimozione di una quota variabile di azoto in entrata.

Le sorgenti puntiformi di origine industriale sono state stimate considerando il numero di persone impiegate nei settori che generano azoto e i coefficienti specifici per ottenere i carichi di azoto (Pagnotta e Barbiero, 2003). Il calcolo è stato effettuato per il 2001, l'ultimo anno per cui sono disponibili dati censuari sulle attività industriali a scala comunale (ISTAT, 8° censimento industriale del 2001; <http://dwcis.istat.it/cis/index.htm>). Il bacino del fiume Oglio sublacuale ospitava nel 2001 circa 1500000 abitanti industriali equivalenti e il carico di azoto potenzialmente generato è di circa 7200 t N yr^{-1} .

3.6. Apporto di azoto nitrato da sorgenti diffuse e scarichi puntiformi

Il calcolo del contributo relativo dei carichi di azoto puntiforme e diffuso è stato effettuato dividendo il fiume in 10 segmenti per i quali sono disponibili dati idrochimici e di portata sia per il fiume Oglio che per i tributari. Per ogni tratto sono stati calcolati l'input di NO_3^- dai tributari e il bilancio netto tra il carico a monte e a valle. L'input di NO_3^- dai tributari è stato considerato come carico puntiforme mentre la differenza tra il carico a valle e la somma del carico a monte e i carichi

provenienti dalle sorgenti puntiformi è stata considerata come stima del carico diffuso. In questo calcolo semplificato non sono stati considerati termini di rimozione quali denitrificazione e uptake da parte dei produttori primari. In questo modo la stima effettuata è conservativa, in quanto il carico diffuso rimosso dai processi biologici non viene considerato come carico in entrata. I risultati per l'intero fiume Oglio sono presentati in Figura 3.4. I calcoli suggeriscono una forte stagionalità nel budget del nitrato associato ai diversi segmenti fluviali, ma il contributo delle fonti puntuali non eccede mai il 35%.

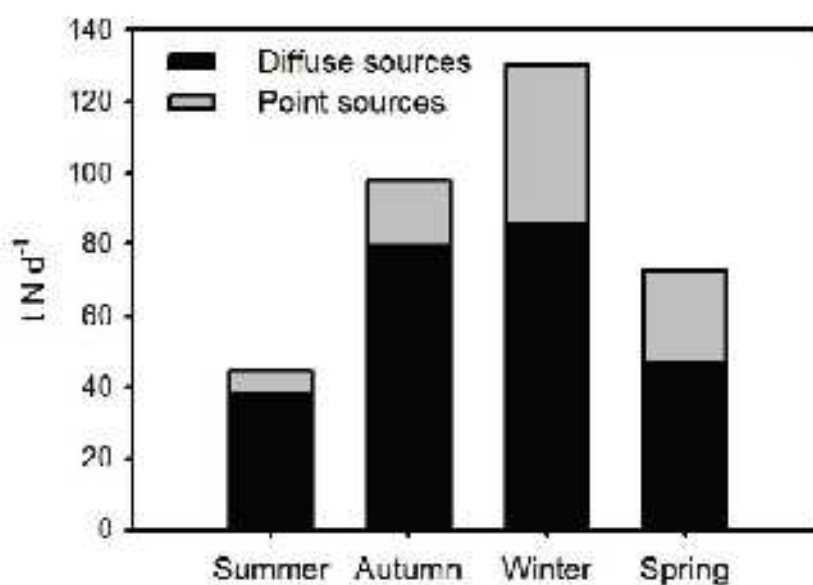


Figura 3.4. Carichi di nitrato provenienti da fonti diffuse e puntiformi, calcolati per il bacino del fiume Oglio sublacuale (da Bartoli et al., 2011).

3.7. Export di azoto dal bacino

Il dataset di parametri chimico-fisici e di portata a disposizione ha permesso di calcolare flussi dettagliati di azoto esportato alla sezione di chiusura del fiume. Il calcolo è stato effettuato moltiplicando i valori mensili di concentrazione di azoto disciolto e particellato (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , azoto organico disciolto e particellato) per la media mensile delle portate del fiume Oglio alla diga di Sarnico e alla sezione di chiusura, sommando successivamente i risultati per ottenere una stima annuale. La differenza tra l'export di azoto dal lago e quello alla sezione di chiusura determina la quantità di azoto generata all'interno del bacino dell'Oglio sublacuale e veicolato fuori dal bacino stesso.

L'export di azoto in uscita dal bacino è di circa $13000 \text{ t N yr}^{-1}$, di cui circa il 90% come nitrato. Confrontando il rapporto tra la popolazione ($333 \text{ abitanti km}^{-2}$) e l'export di N normalizzato per

l'area del bacino ($2950 \text{ kg N-NO}_3 \text{ yr}^{-1}$) con quelli di altri bacini idrografici del mondo, il fiume Oglio presenta i valori maggiori (Caraco e Cole, 1999; Soana et al., 2011). L'export di azoto può essere così predetto sulla base del numero di abitanti di un'area, anche se i bilanci di massa suggeriscono che le attività agro-zootecniche e non gli scarichi civili contribuiscono in misura maggiore all'eccesso di azoto nell'area in esame.

L'export di azoto dal bacino rappresenta il 34% del surplus azotato calcolato nel bacino idrografico e, di conseguenza, circa 26000 t N sono trattenute all'interno del sistema. Questi calcoli suggeriscono che nel bacino del fiume Oglio sublacuale ci sono processi di rimozione o di accumulo di azoto di considerevole entità.

3.8. Denitrificazione negli ambienti acquatici

3.8.1. Rimozione nelle zone umide

La rimozione di azoto dalle zone umide è stato studiato attraverso la quantificazione del processo di denitrificazione nelle zone umide perifluviali (Racchetti et al., 2011).

L'estensione spaziale delle zone umide nel bacino del fiume Oglio sublacuale è ridotta, circa 200 ha, e corrisponde allo 0.05% del bacino stesso. Le zone umide, relitte, sono inoltre disperse all'interno del bacino e raramente in collegamento con altri corpi d'acqua. Ad esempio, in alcune aree esondabili presenti nel bacino le zone umide, nel caso specifico bodri, occupano solo il 5% (Figura 3.5).

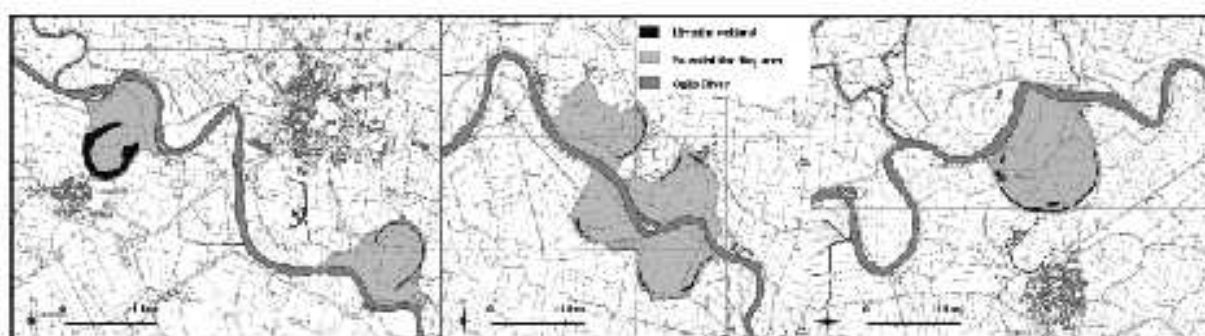


Figura 3.5. Esempi di zone umide all'interno del bacino del fiume Oglio sublacuale. I bodri hanno una superficie che varia da 0.60 a 8.28 ha, molto piccola rispetto all'area esondabile (da Bartoli et al., 2011).

Un tempo diffuse, ora il potenziale di formazione di nuove zone umide è molto limitato, dal momento in cui le terre coltivate occupano più del 60% della superficie del bacino e la canalizzazione limita, o addirittura impedisce, i movimenti laterali del fiume.

Sono stati determinati i flussi di azoto inorganico dal sedimento verso la colonna d'acqua in due diverse tipologie di zone umide, quelle connesse e quelle isolate dall'asta fluviale principale. Lo studio, condotto durante l'inverno e l'estate del 2007, è consistito nella raccolta di carote intatte di sedimento da 12 zone umide perifluviali (principalmente stagni e bodri) al fine di determinare la denitrificazione del nitrato che diffonde verso il sedimento anossico dalla colonna d'acqua (D_w) e la denitrificazione del nitrato prodotto nel sedimento attraverso il processo di nitrificazione (D_N). Questi processi sono stati stimati incubando le carote al buio (Dalsgaard et al., 2000) e misurando i tassi di denitrificazione attraverso l'aggiunta di $^{15}\text{NO}_3^-$ nella colonna d'acqua, utilizzando la tecnica dell'"isotope pairing" (Nielsen, 1992).

Le zone umide selezionate presentano tutte caratteristiche di eutrofia o ipertrofia, con sedimenti organici, di cui dall'8 al 33% di materia organica come LOI, bassa profondità della colonna d'acqua (0.5 – 1.5 m) e estensione spaziale limitata (1 – 20 ha). I tassi di denitrificazione totale ($D_{tot} = D_w + D_n$) sono risultati significativamente maggiori nel periodo estivo rispetto a quello invernale. I tassi misurati nelle zone umide connesse all'asta fluviale sono risultati maggiori di due ordini di grandezza rispetto a quelli misurati in quelle isolate, probabilmente a causa delle concentrazioni di nitrato più elevate nella colonna d'acqua nelle prime rispetto alle seconde (Tabella 3.2). L'aggiunta di $^{15}\text{NO}_3^-$ nella carote di sedimento prelevate dai siti isolati determina comunque una stimolazione immediata del processo di denitrificazione, facendo presupporre un elevato potenziale di rimozione anche per questi sedimenti.

Tabella 3.2. Concentrazioni di nitrato e temperatura misurate *in situ*, flussi di ammonio e nitrato, tassi ed efficienza di denitrificazione misurate in 12 zone umide durante l'estate e l'inverno 2007. Metà dei siti studiati sono connessi al fiume Oglio, mentre la restante parte risulta isolata. L'efficienza di denitrificazione è stata calcolata come il rapporto tra il tasso di denitrificazione e il flusso di azoto inorganico ($\text{DIN} + \text{N}_2$) attraverso l'interfaccia acqua sedimento (Eyre a Ferguson, 2002) e come il rapporto tra denitrificazione e produzione teorica minima di ammonio all'interno dei sedimenti (A) (Dalsgaard, 2003)(da Bartoli et al., 2011).

		Winter		Summer	
		I	C	I	C
In situ	T (°C)	10.20 ± 1.02	9.03 ± 0.61	25.20 ± 0.20	24.50 ± 0.56
	NO_3^- (μM)	23.00 ± 11.00	877.17 ± 124.06	26.00 ± 21.61	520.00 ± 91.00
Fluxes	NO_3^- ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$)	-30.62 ± 4.81 68	-330.75 ± 313.98	-104.82 ± 47.18	-1180.68 ± 817.68
	NH_4^+ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$)	1107.48 ± 219.05	-17.71 ± 31.43	387.81 ± 126.08	498.48 ± 181.25
Denitrification	D_w ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$)	19.50 ± 15.11	146.00 ± 35.97	61.11 ± 35.00	651.30 ± 258.28
	D_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$)	2.77 ± 2.73	82.60 ± 14.65	17.88 ± 8.30	41.84 ± 22.62
	D_{tot} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$)	52.28 ± 13.95	180.58 ± 45.54	81.82 ± 40.88	692.75 ± 271.94
Denitrification efficiency	$D_{tot}/(D_{tot} + \text{DIN})$	0.12 ± 0.03	0.44 ± 0.17	0.2 ± 0.07	0.62 ± 0.10
	D_{tot}/A	0.68 ± 0.22	4.13 ± 0.98	0.48 ± 0.29	6.75 ± 1.43

La denitrificazione totale è sostenuta per la maggior parte (60-100%) dalla denitrificazione del

nitrati proveniente dalla colonna d'acqua (D_w). La produzione del nitrato all'interno del sedimento è generalmente bassa, probabilmente a causa della limitata penetrazione dell'ossigeno nel sedimento organico che, di conseguenza, non permette l'accoppiamento dei processi di nitrificazione/denitrificazione.

Il potenziale massimo di rimozione di azoto da parte delle zone umide è stato calcolato moltiplicando i più alti tassi di rimozione misurati per l'area totale occupata dalle zone umide nel bacino del fiume Oglio sublacuale. L'azoto rimosso dal processo di denitrificazione nelle zone umide è una frazione ridotta (250 t N yr^{-1}) del carico generato all'interno del bacino ($\sim 1\%$), probabilmente a causa della ridotta estensione spaziale e la mancanza di connettività laterale.

3.8.2 Rimozione dell'azoto nel fiume Oglio e nel reticolo idrografico secondario

La rimozione di azoto nel fiume Oglio, nei suoi tributari e in altre potenziali sorgenti di azoto è stata valutata utilizzando un approccio isotopico negli anni 2009 e 2010 (Delconte et al., 2011a,b). L'approccio isotopico è uno strumento molto potente che consente di valutare la presenza e di quantificare l'importanza del processo di denitrificazione. La denitrificazione causa l'arricchimento sia del $\delta^{15}\text{N}$ sia del $\delta^{18}\text{O}$ del nitrato in seguito all'utilizzo delle molecole a composizione isotopica più leggera da parte dei batteri denitrificanti. Il rapporto $\delta^{15}\text{N}/\delta^{18}\text{O}$ nella denitrificazione è di 2:1 e, di conseguenza, in un grafico con i valori di $\delta^{15}\text{N}$ sulle ascisse e di $\delta^{18}\text{O}$ sulle ordinate i dati dovrebbero disporsi lungo una retta con pendenza uguale a 0.5 (Figura 3.6)(Kendall et al., 2008). Di seguito verranno riportati i risultati della campagna effettuata nel mese di Luglio del 2010, periodo in cui erano presenti condizioni di carenza idrica. I pattern della composizione isotopica nel fiume Oglio non mostrano comunque degli andamenti stagionali marcati (Delconte et al., 2011a).

Basandosi sulla concentrazione (Figura 3.2) e sulla composizione isotopica del nitrato (Figura 3.6), il fiume Oglio può essere suddiviso in 3 tratti ben distinti tra loro. La sezione a monte, localizzata nei primi 15 km, possiede una composizione isotopica del nitrato che indica un'origine da deposizioni atmosferiche e fertilizzanti sintetici. Tra il km 15 e 45 la composizione isotopica indica la predominanza di nitrato proveniente da scarichi civili. Nella restante parte del fiume è stato rilevato un arricchimento nei valori di $\delta^{15}\text{N}$ ma non in quelli di $\delta^{18}\text{O}$ e i campioni non mostrano caratteristiche distintive che permettano di identificare l'origine del nitrato.

Nelle porzioni centrale e finale del fiume Oglio (rappresentate da triangoli vuoti in Figura 3.6) la diminuzione della concentrazione di nitrato e l'arricchimento isotopico fanno supporre la presenza di fenomeni di denitrificazione, anche se non sono stati individuati dei trend spaziali lungo il corso del fiume. Assumendo una differenza nel $\delta^{15}\text{N}$ del 4‰ e un fattore di frazionamento di 1.020

(Kendall, 1998), la denitrificazione in alveo può determinare la rimozione di circa il 20% ($\sim 3200 \text{ t yr}^{-1}$) del carico di azoto che transita nel fiume Oglio (Mariotti et al., 1998). La denitrificazione nella zona iporreica dei tratti a monte è probabilmente limitata dalle concentrazioni di ossigeno elevate e dal basso contenuto di carbonio organico labile nel substrato, al contrario di quello che avviene nelle stazioni più a valle. Distinguere la provenienza del nitrato arricchito è, però, abbastanza complicato, in quanto la denitrificazione può avvenire sia nei suoli che nelle acque sotterranee che alimentano il fiume. Le falde acquifere localizzate nella porzione meridionale del bacino presentano basse concentrazioni di nitrato e concentrazioni rilevanti di Fe e Mn (ARPA Lombardia, 2009). Ad ora, la distinzione tra denitrificazione nelle acque sotterranee e nella zona iporreica è impossibile in quanto entrambe possiedono lo stesso fattore di arricchimento (Hinkle et al., 2001; Sebilo et al., 2003).

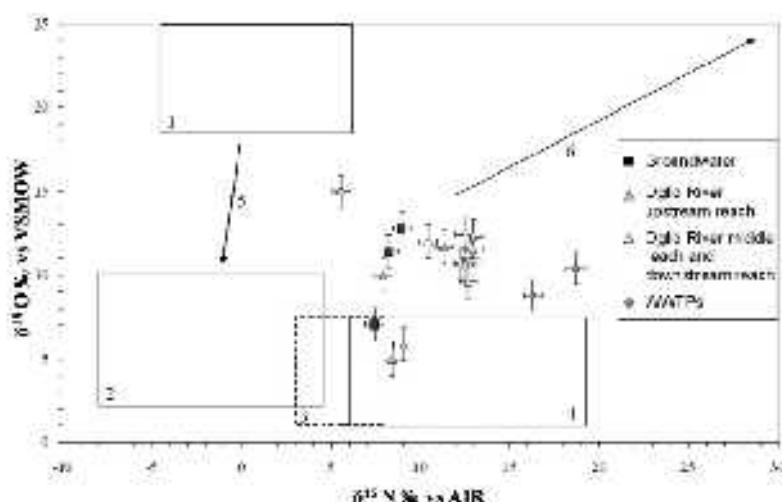


Figura 3.6. Composizione isotopica del nitrato in campioni acquosi del fiume Oglio sublacuale (triangoli pieni = stazioni a monte, triangoli vuoti = stazioni a valle), acque sotterranee (quadrati) e depuratori (rombi). Le aree comprese nei rettangoli corrispondono a: 1 – fertilizzanti sintetici; 2 – fertilizzanti sintetici mineralizzati; 3 – materia organica del suolo e contaminazione da diverse fonti; 4 – materia organica di origine antropica (depuratori e concimi organici). Le linee, invece, rappresentano: 5 – evoluzione a seguito del processo di nitrificazione; 6 – evoluzione a seguito del processo di denitrificazione. Modificato da Kendall (1998) e Clark e Fritz (1997)(da Bartoli et al., 2011).

Attraverso l'utilizzo di analisi GIS l'estensione del reticolo idrografico secondario nel bacino del fiume Oglio sublacuale è stata valutata in 12500 km, il 95% dei quali costituito da canali di piccole

dimensioni. A causa della mancanza di misure dirette dei tassi di denitrificazione nei canali del reticolo idrografico secondario, la rimozione teorica di nitrato è stata stimata attraverso l'equazione di Christensen et al. (1990) (si veda Soana et al., 2011 per maggiori dettagli). Per tutti canali presenti nell'area di studio è utilizzato il tasso di denitrificazione maggiore. La rimozione teorica di azoto è stata quantificata in 5500 t N, rimosse dal processo di denitrificazione durante il periodo di 5 mesi in cui i canali sono attivi per consentire l'irrigazione dei campi coltivati. Utilizzando dati di letteratura (Mander et al., 1997) è stato calcolata anche la rimozione teorica da parte delle fasce riparie che si trovano lungo il reticolo idrografico secondario (9500 km lineari), stimata in circa 3000 t N yr⁻¹.

3.9. Acque sotterranee: sink o source di azoto?

La denitrificazione nel fiume Oglio, nel reticolo idrografico secondario e nelle fasce riparie può determinare una rimozione di azoto, rispettivamente, di 3200, 5500 e 3000 t N yr⁻¹. La somma di questi termini spiega solamente il 45% della quantità di azoto in eccesso che non viene esportata dal bacino del fiume Oglio sublacuale (~ 26000 t N yr⁻¹). Al fine di effettuare le stime più conservative possibili, la rimozione da parte dei processi di denitrificazione è stata calcolata in eccesso ma, nonostante questa precauzione, almeno 14300 t N yr⁻¹ vengono ritenute all'interno del sistema. Esistono alcune evidenze che fanno supporre che una buona parte della quota mancante di azoto si possa accumulare nelle acque sotterranee. Nel bacino del fiume Oglio sublacuale le concentrazioni di nitrato non mostrano una distribuzione omogenea (Figura 3.7).

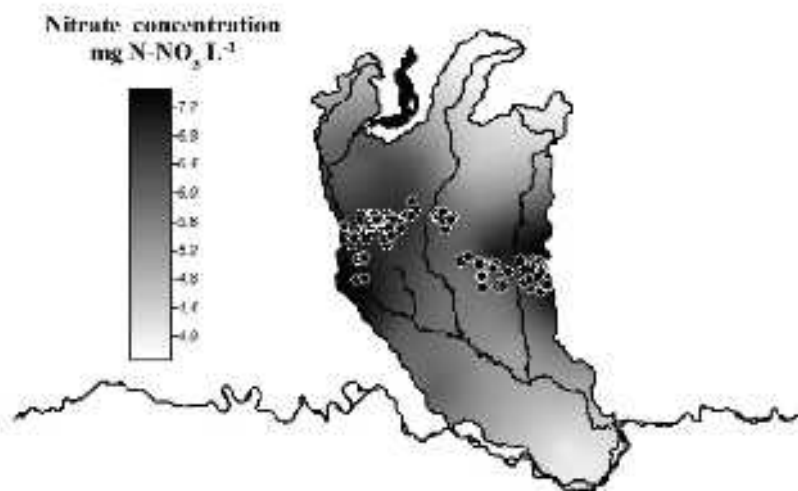


Figura 3.7. Concentrazioni medie di nitrato nelle acque superficiali nel bacino del fiume Oglio sublacuale (mg N-NO₃⁻ l⁻¹). I cerchi neri indicano la localizzazione dei fontanili censiti all'interno del bacino idrografico (da Bartoli et al., 2011).

Le concentrazioni maggiori, anche sopra i $50 \text{ mg NO}_3^- \text{ l}^{-1}$, sono generalmente localizzate negli acquiferi dell'alta e della media pianura. La parte settentrionale del bacino, infatti, risulta quella maggiormente vulnerabili ad un inquinamento di tipo diffuso a causa di un insieme di fattori come la granulometria grossolana dei suoli, l'utilizzo di pratiche irrigue inefficienti e la coltivazione diffusa del mais, coltura che richiede una elevata fertilizzazione azotata (Figure 3.1 e 3.7). Quest'area è inoltre quella in cui si osservano i surplus di azoto, calcolati a livello comunale, maggiori (ERSAF, 2009; Soana et al., 2011). La percolazione di parte di questo surplus verso le acque sotterranee è confermata anche dalla composizione isotopica del nitrato ($\delta^{15}\text{N}$ elevato e basso $\delta^{18}\text{O}$), che indica un'origine da materia organica di origine umana o animale. Nelle acque sotterranee della parte meridionale del bacino, invece, il nitrato è generalmente assente. Evidenze isotopiche indicano come in quest'area ci siano processi di denitrificazione diffusa nelle acque sotterranee (Sacchi et al., 2011), confermate dalla presenza di condizioni riducenti e la presenza di ioni di Fe e Mn (ARPA Lombardia, 2009).

Questi dati indicano come le acque sotterranee presenti nella porzione settentrionale del bacino possano accumulare l'azoto in eccesso che percola dai campi coltivati, in particolare durante il periodo irriguo (Aprile-Settembre). In quest'area le concentrazioni di nitrato nelle acque sotterranee sono aumentate nel corso degli ultimi decenni, anche a profondità elevate ($> 30 \text{ m}$) (ERSAF Lombardia, 2009).

Nonostante le acque sotterranee siano in grado di accumulare azoto nel breve termine, specialmente tenendo in considerazione il lento turnover rispetto alle acque superficiali, ci sono evidenze di una forte interazione tra falde e il reticolo idrografico superficiale specialmente nella cosiddetta fascia dei fontanili. L'area in questione, che corrisponde a grandi linee con la media pianura, è anche quella in cui si assiste ad un rapido incremento della concentrazione di nitrato nel fiume Oglio (Figure 3.2, 3.3 e 3.7).

Il rapido prelievo di ingenti quantità di acqua per l'irrigazione può porta ad una diminuzione del tempo di residenza delle acque sotterranee (Böhlke et al., 2007), specialmente in terreni molto permeabili. Questo cambiamento rispetto alle condizioni naturali ha molteplici implicazioni, come un riciclo degli inquinanti più rapido (non solo azoto ma anche pesticidi) e un'alterazione dei processi biogeochimici.

La conferma di questo rapido riciclo dei nutrienti è data dall'analisi isotopica delle molecole dell'acqua e del nitrato. Nel mese di Luglio 2010 sono stati raccolti 3 campioni di acque sotterranee caratterizzati da un'elevata concentrazione di nitrato. La composizione isotopica di quelle acque è paragonabile con quella di altri campioni di acque sotterranee raccolti nella porzione settentrionale del bacino (Sacchi et al. 2009, 2011) e simile a quella delle acque del fiume Oglio in quell'area del

bacino (Figura 3.6). Sia l'andamento delle concentrazioni nel fiume Oglio che la composizione isotopica del nitrato suggeriscono la presenza di un mescolamento tra le acque del fiume e le acque sotterranee. Utilizzando il $\delta^{18}\text{O}$ della molecola dell'acqua, considerato come un ottimo tracciante per studi idrogeologici, si è provato a calcolare l'apporto percentuale delle acque di falda al fiume Oglio. Il risultato, durante il periodo estivo, è un apporto di circa il 60 – 70% nella parte settentrionale del fiume Oglio, quella soggetta a maggiori prelievi per la produzione di energia idroelettrica e a scopi irrigui.

4 Indice di pericolosità da nitrati di origine agricola nell'area di studio

In questo lavoro di tesi sono stati studiati principalmente i fontanili localizzati nei domini idrogeologici Adda-Oglio e Oglio-Mincio. In questo capitolo verranno descritte le pressioni presenti in quest'area, propedeutiche alla comprensione dei diversi studi effettuati e descritti successivamente.

4.1. Indice di Pericolosità da nitrati di Origine Agricola

L'indice di pericolosità da nitrati di origine agricola è una metodologia per la valutazione dell'inquinamento delle acque sotterranee da nitrati di origine agricola (Padovani e Trevisan, 2002). È un indice parametrico in cui vengono individuati dei fattori di pericolo (che rappresentano tutte le attività agricole che generano o possono generare inquinamento da nitrati) e dei fattori di controllo (che modificano il pericolo in funzione delle caratteristiche del sito).

I fattori di pericolo (FP) considerati sono: fertilizzanti minerali (FP_{fm}), fertilizzanti organici (FP_{fo}) e fanghi di depurazione (FP_{fd}). Ad ogni FP viene assegnata una classe di pericolo da 1 a 5 (1 improbabile, 5 elevato) in base alla quantità distribuita sui terreni coltivati (kg di N ha^{-1}).

I fattori di controllo (FC) considerati sono: contenuto di azoto nel suolo (FC_a), clima (precipitazioni e temperatura medie annue, FC_c), pratiche agricole (FC_{pa}) ed irrigazione (FC_i). Ad ogni FC viene assegnato un peso generalmente variabile da 0,94 a 1,10.

La stima del pericolo potenziale di inquinamento da nitrati di origine agricola si ottiene dal prodotto tra i fattori di controllo e la somma dei fattori di pericolo.

$$IPNOA = (FP_{fm} + FP_{fo} + FP_{fd}) * (FC_a + FC_c + FC_{pa} + FC_i)$$

L'IPNOA è stato calcolato per le province di Bergamo, Brescia, Cremona e Mantova. La scelta di quest'area è motivata dal fatto che nella zona di media pianura di queste province è presente la maggior parte dei fontanili attivi aventi le caratteristiche necessarie per l'approccio sperimentale adottato e descritto in seguito. Il pericolo associato a fertilizzanti minerali ed organici è stato calcolato basandosi sui dati contenuti nel Sistema Informativo Agricoltura Regione Lombardia (SIARL), mentre quello relativo ai fanghi di depurazione è stato calcolato basandosi sui dati forniti dall'Osservatorio Rifiuti SOvraregionale (ORSO, Regione Lombardia). L'attribuzione della classe di pericolo alle colture è stata aggiornata utilizzando i dati di resa colturale e asporto unitario di azoto presenti nel piano di sviluppo rurale 2007-2013 della Lombardia, mentre i coefficienti per il calcolo di azoto al campo sono stati aggiornati con i dati contenuti nel dgr n. 8/5868 del 21 Novembre 2007 della Regione Lombardia. I fattori di pericolo sono stati calcolati ad una

risoluzione spaziale comunale. I dati di temperatura media annua e di precipitazioni annue relativi agli anni 2007, 2008 e 2009 sono stati estratti dal database meteo disponibile presso il servizio meteorologico lombardo (ARPA Lombardia) per un totale di 17 stazioni. Data la mancanza di informazioni sul contenuto di azoto nei suoli lombardi, è stato fatto riferimento alla carta pedologica della regione Lombardia per la quale, ad ogni tipologia di suolo, è stato associato un peso in base a dati di contenuto di azoto riportati nel lavoro di Batjes (1998). Il fattore di controllo “metodi irrigui” è stato calcolato facendo riferimento ai dati riportati nel lavoro di Gandolfi et al. sui consumi irrigui e le tecniche di irrigazione in Lombardia. Per questo fattore di controllo il peso è stato calcolato a livello comunale proporzionalmente alla percentuale delle aziende che adottano i diversi sistemi irrigui. Non è stato possibile calcolare il fattore di controllo “pratiche agronomiche” per la mancanza di dati a livello provinciale e regionale, per cui il peso di questo fattore è stato considerato pari a 1.

Il calcolo dell'IPNOA (Figura 4.1) ha messo in evidenza come il 49% del territorio analizzato ricada nella classe di pericolo 4 (pericolo moderato), il 24% nella classe 5 (pericolo alto), il 14% nella classe 3 (pericolo basso), il 10% nella classe 2 (pericolo molto basso) ed infine il 3% nella classe 6 (pericolo elevato). La predominanza della classe 4 è dovuta alla presenza quasi esclusiva di colture a prato e prato-pascolo nelle porzioni collinari e montane, spesso condotte su superfici agricole (SAU) limitate. Le classi di pericolo più elevate (5 e 6) sono concentrate nella fascia di media pianura, in corrispondenza della fascia dei fontanili, e nella bassa pianura del territorio cremonese. La distribuzione delle classi di pericolo più alte nella fascia di media pianura è da associare alla presenza diffusa nell'area di allevamenti suinicoli e bovini che contribuiscono a determinare elevati valori del fattore di pericolo “fertilizzanti organici”. Quest'area rappresenta parte dei bacini di ricarica dei fontanili situati più a valle ed è caratterizzata da substrato grossolano costituito prevalentemente da ghiaie e ciottoli. Un elevato carico azotato in aree a elevata permeabilità determina un pericolo di inquinamento da nitrati elevato per gli acquiferi superficiali e, di conseguenza, per i fontanili che alimentano.

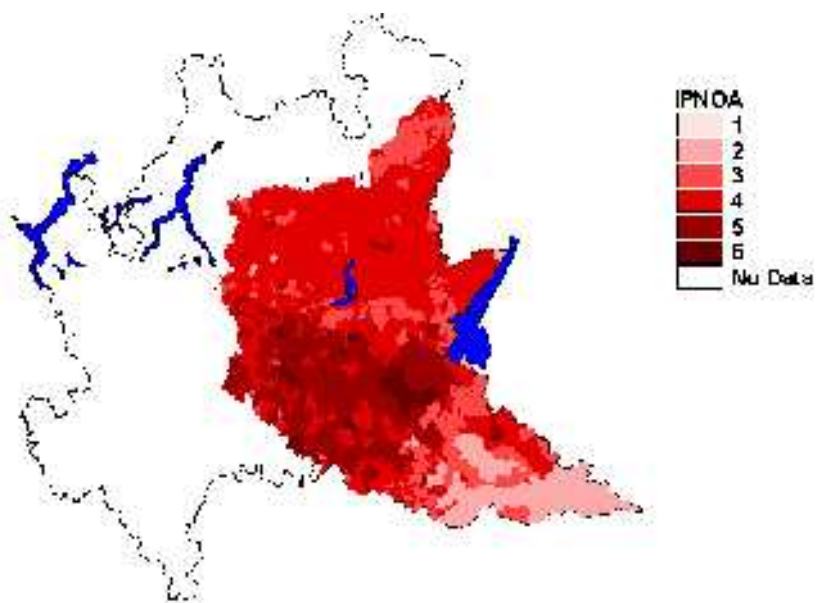


Figura 4.1. Output dell'indice di pericolosità da nitrati di origine agricola per le province di Bergamo, Brescia, Cremona e Mantova

5 Emissione di gas serra (CO₂, CH₄, N₂O) e riciclo di azoto nitrico nei fontanili

I risultati presentati in questo capitolo di tesi hanno portato alla scrittura dell'articolo "Greenhouse gases (CO₂, CH₄ and N₂O) in lowland springs within an agricultural impacted watershed (Po River Plain, northern Italy)", edito sulla rivista Chemistry and Ecology.

5.1. Obiettivi

Gli obiettivi di questa parte della tesi sono stati quelli di valutare il ruolo potenziale dei fontanili come source di gas serra, in particolare di N₂O, e di quantificare l'importanza dei fontanili come aree puntuali di riciclo del nitrato percolato dai campi coltivati verso le acque sotterranee.

5.2. Area di studio

I fontanili selezionati sono situati nella area di media pianura delle regioni Lombardia ed Emilia Romagna (rispettivamente n=12 e 2, Tabella 5.1). La scelta dei fontanili è stata effettuata in modo tale che l'asta fluviale non avesse ingressi o uscite visibili di acqua da canali secondari. Per ogni fontanile sono state individuate due stazioni di campionamento, una in corrispondenza della fuoriuscita dell'acqua dal sottosuolo (H) ed una situata 500 – 1500 m a valle (D) al fine di studiare l'evoluzione dei gas serra e dei nutrienti lungo il decorso superficiale dell'acqua. La selezione è stata effettuata attraverso l'utilizzo di carte tecniche regionali 1:10,000 e il programma Google Earth™ (Google Inc., Mountain View, CA, USA) e un sopralluogo su campo.

5.3. Materiali e metodi

5.3.1. Prelievo e analisi dei campioni acquosi

I campioni acquosi sono stati raccolti dai fontanili selezionati in due campagne di campionamento, tardo Giugno e tardo Agosto, in modo tale da prendere in considerazione eventuali cambiamenti nell'idrologia dovuti al passaggio delle condizioni umide primaverili a quelle secche estive. Per ogni fontanile sono state individuate due stazioni di campionamento, la prima in prossimità dell'uscita dell'acqua dai tubi di drenaggio (H) e la seconda 500-1500 m a valle della prima (D). Temperatura, conducibilità e pH sono stati misurati *in situ* utilizzando una sonda multiparametrica (YSI Instruments, 556 MPS Model). I campioni acquosi per le analisi di laboratorio sono stati raccolti

appena al di sotto la superficie dell'acqua utilizzando una bottiglia di vetro evitando il gorgogliamento durante il prelievo. Una quota di campione non filtrata è stata trasferita in vials di vetro (12 ml, Labco Exetainers®, UK) per la determinazione dell'ossigeno disciolto (titolazione iodometrica), (A.P.H.A., 1981). Una quota di campione acquoso è stata filtrata e trasferita in vials di vetro per la determinazione del carbonio inorganico disciolto (DIC) utilizzando una titolazione a sei punti finali di pH (Anderson et al., 1986). Lo ione Ca^{2+} è stato determinato attraverso titolazione con EDTA (A.P.H.A., 1981). Aliquote di campione acquoso sono state trasferite in contenitori in PET per la determinazione spettrofotometrica di ammonio, nitrito e nitrato (A.P.H.A., 1981). I campioni gassosi per l'analisi di CO_2 , CH_4 e N_2O sono stati prelevati dallo spazio di testa di una bottiglia di vetro (1150 ml) riempita con 500 ml di acqua ed agitata vigorosamente per circa 2 minuti al fine di raggiungere l'equilibrio acqua-atmosfera (McAuliffe, 1971). Il metano è stato determinato per via gas-cromatografica (Series 9000 Fisons, Mainza, Germania) utilizzando un rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) e una colonna QPLOT. La concentrazione di N_2O è stata determinata utilizzando un gas-cromatografo (Series 800 Fisons) equipaggiato con un rivelatore a cattura di elettroni (ECD). La concentrazione di CO_2 è stata determinata utilizzando un gas-cromatografo TraceGC (TermoFinnigan, San Jose, CA, USA) equipaggiato con rivelatore a conducibilità termica (TCD).

5.3.2. Calcolo dei flussi acqua-atmosfera

I flussi acqua-atmosfera sono stati calcolati utilizzando l'equazione 5.1:

$$J_i = Kd(C_{iSAT} - C_i) \quad (5.1)$$

dove J_i è il flusso di gas ($\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$), d la profondità della colonna d'acqua (m), C_{iSAT} la concentrazione del gas all'equilibrio acqua-atmosfera (mol m^{-3}) e C_i la concentrazione misurata in acqua (mol m^{-3}). Il coefficiente di reaerazione K (h^{-1}) è stato calcolato utilizzando la formula generale:

$$K = a \left(\frac{u}{d} \right)^b \quad (5.2)$$

dove u è la velocità di scorrimento dell'acqua (m s^{-1}) e a , b , e c sono coefficienti empirici stimati da diversi autori (Tabella 5.2). I coefficienti di reaerazione sono stati corretti utilizzando l'equazione 5.3:

$$\frac{K_1}{K_2} = \left(\frac{S_{c1}}{S_{c2}} \right)^n \quad (5.3)$$

Tabella 5.1 Coordinate dei fontanili selezionati. La lunghezza (in metri) è relativa alla distanza tra la stazione di testa (H) e la stazione di valle (D). La portata è stata misurata nella stazione di valle (D) in entrambi i periodi di campionamento. I fontanili 8 e 9 sono localizzati in Emilia Romagna (modificato da Laini et al., 2011).

Fontanile	Coordinate		Lunghezza m	Portata (Giugno) m ³ s ⁻¹
	N	E		
1	579338.145	5014970.28	630	0.34
2	523707.05	5010008.9	580	0.13
3	545068.405	5014240.53	600	0.06
4	523833.902	5012086.61	240	0.06
5	527723.08	5013394.81	550	0.23
6	524573.06	5011899.91	560	0.45
7	538898.147	5014607.85	630	0.04
8	598099.247	4925172.43	560	0.00
9	543834.376	4935342.18	760	0.01
10	540088.606	5008016.69	510	0.12
11	527785.631	5012029.51	880	0.21
12	535406.4	5014325.81	840	0.09
13	467958.847	5011389.17	610	0.02
14	535615.064	5013274.35	1330	0.05

Tabella 5.2 Coefficienti a, b,c per il calcolo del coefficiente di reaerazione (modificato da Laini et al., 2011).

AUTORI	a	b	c
O'Connor and Dobbins (1958)	3,74	0,5	1,5
Churchill et al. (1962)	5,01	0,969	1,67
Isaacs and Gaudy (1968)	4,75	1	1,5
Langbein and Durum (1967)	5,14	1	1,33
Owens et al. (1964)	5,35	0,67	1,85
Bennett and Rathbun (1972)	5,58	0,607	169

dove K è il coefficiente di reaerazione per i gas 1 e 2, S_c il numero di Schmidt dei gas 1 e 2 e n è un coefficiente di valore 1, suggerito per il modello dello “stagnant boundary layer” (Genereux and Hemond, 1992). I numeri di Schmidt sono stati calcolati utilizzando il rapporto tra la diffusività e la viscosità cinematica dei gas. I coefficienti di reaerazione sono stati inoltre corretti per l'effetto della temperatura (Elmore and West, 1961):

$$K_T = K_{20^\circ C} 1.0241^{(T-20^\circ C)} \quad (5.4)$$

dove K_T e $K_{20^\circ C}$ sono i coefficienti di reaerazione alla temperatura T dell'acqua e a $20^\circ C$, rispettivamente. La correzione necessaria per tenere in considerazione l'equilibrio dei carbonati nel

calcolo dei flussi di CO₂ non è stata applicata in quanto tutti i campioni presentavano pH inferiori a 8 e concentrazioni di DIC superiori ad 1 mM (Portielje and Lijklema, 1995). I flussi teorici sono stati calcolati utilizzando i valori di K ottenuti con i coefficienti riportati in Tabella 5.2. La concentrazioni medie attese di N₂O, CO₂ e CH₄ nella stazione di valle (C_{exp} , mol m⁻³) sono state calcolate al fine di stimare la dinamica dei gas durante lo scorrimento superficiale attraverso l'equazione:

$$C_{exp} = (C_i - C_{sat})e^{\frac{-Kd}{u}} + C_{sat} \quad (5.5)$$

dove l (m) è la lunghezza che intercorre tra la stazione di testa e la stazione di valle. Le assunzioni alla base dell'equazione 5 sono: (i) temperatura (T), velocità (u) e profondità (d) costanti lungo il deflusso superficiale; (ii) nessuna interazione tra suolo-acque sotterranee e acqua nella roggia; (iii) produzione di gas serra interna al corso d'acqua trascurabile. La diffusione di gas dall'acqua all'atmosfera può essere modellizzata considerando un volume statico di acqua, con u , d , T e K costanti, in cui la concentrazione dei gas è soggetta ad un processo di decadimento esponenziale nel tempo.

5.3.3. Analisi statistiche

Siccome i dati non sono risultati normalmente distribuiti, le differenze tra le stazioni e periodi di campionamento sono state testate utilizzando il test non parametrico di Wilcoxon per campioni appaiati. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il pacchetto statistico R (© 2009, R Foundation for Statistical Computing).

5.4 Risultati

5.4.1 Parametri chimico-fisici

Le portate medie misurate nei due periodi di campionamento nella stazione di valle sono riportate in Tabella 1, mentre i valori medi, minimi e massimi dei parametri chimico-fisici misurati nelle stazioni di testa (H) e di valle (D) sono riportati in Tabella 4.3. La differenza tra le portate e tra i parametri chimico-fisici nelle stazioni di testa non sono statisticamente significative tra i periodi di campionamento ($p > 0.05$, Tabella 5.4). Lo ione nitrato è risultato la forma di azoto inorganico dominante con concentrazioni elevate, sia nelle stazioni di testa che nelle stazioni di valle, anche maggiori di 1400 µM. Le concentrazioni di nitrito ed ammonio sono risultate spesso al di sotto dei limiti di rivelabilità (Tabella 5.3).

Le acque in uscita dalle stazioni di testa sono risultate sottosature in ossigeno, sebbene durante lo scorrimento superficiale si assiste ad un recupero verso condizioni di equilibrio acqua-atmosfera ($p < 0.01$; Tabella 5.4). Le concentrazioni di protossido di azoto, anidride carbonica e metano sono risultate fortemente variabili tra i siti di campionamento ma non tra i due periodi di campionamento. Le concentrazioni di N_2O e CO_2 diminuiscono significativamente nelle stazioni a valle ($p < 0.05$), mentre le concentrazioni di metano non mostrano nessuna diminuzione ($p > 0.05$) (Figura 5.1). In entrambi i periodi di campionamento l'anidride carbonica è risultata fortemente correlata con il protossido di azoto ($\rho = 0.82$) e il nitrato ($\rho = 0.78$) e il protossido di azoto è risultato positivamente correlato al nitrato ($\rho = 0.75$) (Figura 4.2).

Tabella 5.3. Valori medi, minimi e massimi dei parametri chimico-fisici considerati in questo studio (H= stazione di testa e D=stazione di valle)(modificato da Laini et al., 2011).

	Giugno						Agosto					
	Media		Max		Min		Media		Max		Min	
	H	D	H	D	H	D	H	D	H	D	H	D
pH	7.33	7.66	7.67	8.37	7.08	7.30	7.49	7.68	8.31	8.64	7.17	6.63
T °C	16.7	17.3	19.0	22.0	15.0	15.0	17.4	18.4	22.0	22.0	14.0	16.0
O₂ mg l ⁻¹	5.63	7.73	8.63	14.04	0.91	4.21	4.67	7.61	8.07	11.76	1.71	4.78
NH₄⁺ µM	0.02	0.28	0.20	2.72	0.00	0.00	0.09	0.77	0.80	8.87	0.00	0.00
NO₂⁻ µM	0.16	1.10	1.19	9.23	0.00	0.01	0.13	1.15	0.95	10.74	0.00	0.00
NO₃⁻ µM	628.6	644.3	1031.2	1159.4	361.6	349.6	532.7	590.5	1410.7	1302.9	154.2	166.4
CO₂ µM	733.5	456.9	1155.2	870.8	358.8	26.6	912.4	573.9	2161.6	2398.9	128.4	179.5
CH₄ nM	96.1	181.9	146.5	694.2	17.3	36.8	116.5	152.3	1023.5	688.1	2.4	10.0
N₂O nM	487.7	335.1	974.6	1023.7	205.1	16.6	381.8	260.6	874.0	951.3	66.6	92.6

Tabella 5.4. Valori medi, minimi e massimi dei parametri chimico-fisici considerati in questo studio (H= stazione di testa e D=stazione di valle)(modificato da Laini et al., 2011).

	Portata	pH	T	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	CO ₂	O ₂	N ₂ O	CH ₄
H-H (Giugno-Agosto)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*
H-V (Giugno)	-	**	n.s.	n.s.	***	n.s.	**	**	**	n.s.
H-V (Agosto)	-	*	**	n.s.	**	n.s.	*	***	*	n.s.

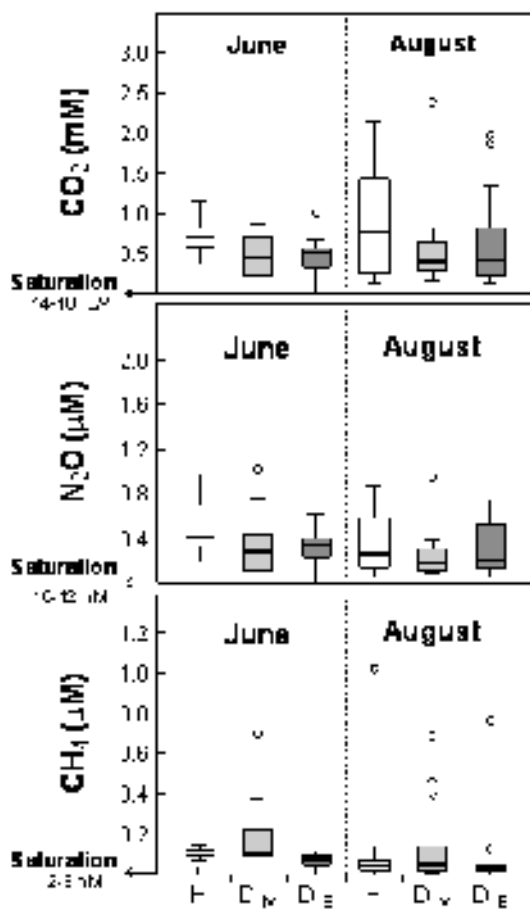


Figura 5.1. Concentrazioni di CO_2 , N_2O e CH_4 misurate nelle stazioni di testa (H) e di valle (D_v). La concentrazione attesa nella stazione di valle (D_v) è stata calcolata utilizzando l'equazione 3. In Figura sono riportate anche le concentrazioni dei gas considerati all'equilibrio acqua-atmosfera (da Laini et al., 2011).

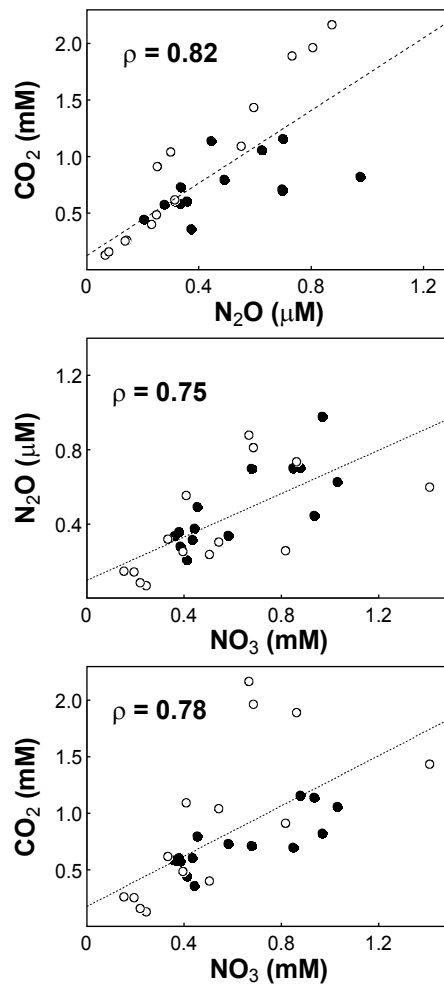


Figura 5.2. Correlazione tra le concentrazioni nitrato, anidride carbonica e protossido d'azoto misurate nella stazione di testa (H). I punti neri e bianchi rappresentano rispettivamente i dati di Giugno e Agosto. Tutte le correlazioni sono altamente significative ($p > 0.01$) (da Laini et al., 2011).

5.4.2. Flussi calcolati N₂O, CO₂ e CH₄

Dal momento in cui le acque dei fontanili sono risultate sovrassature in N₂O, CO₂ e CH₄, i flussi calcolati sono risultati tutti positivi e riflettono la stessa variabilità delle concentrazioni rilevate *in situ*. I flussi di N₂O (0.120 ± 0.142 e 0.075 ± 0.114 g N₂O m⁻², rispettivamente), CO₂ (0.0194 ± 0.173 e 0.227 ± 0.336 kg CO₂ m⁻², rispettivamente) e CH₄ (0.008 ± 0.008 e 0.010 ± 0.026 g CH₄ m⁻², rispettivamente) (Equazione 1) non differiscono significativamente nei due periodi di campionamento ($p > 0.05$).

L'equazione 5.5 è stata usata per calcolare le concentrazioni attese dei tre gas considerati nella stazione di valle, assumendo che il solo processo in atto fosse quello diffusivo. Le concentrazioni attese di N₂O e CO₂ (D_E) non sono risultate statisticamente differenti da quelle misurate (D_M, $p > 0.05$) mentre per il metano le concentrazioni misurate sono risultate significativamente più alte rispetto a quelle attese ($p < 0.01$) (Figura 5.1).

5.5. Discussione

5.5.1. Fontanili come sorgenti di gas serra

Le acque in uscita dai fontanili mostrano parametri chimico-fisici costanti tra i due periodi di campionamento, probabilmente a causa del lento tempo di ricambio delle acque sotterranee. Temperature come quelle presenti nei siti di testa (H, 16-17°C) o leggermente minori (14-15°C) sono riportate anche per il periodo invernale, facendo presupporre la presenza di processi microbiologici costanti nel tempo (Rossetti et. al, 2007).

Gli ambienti acquatici localizzati alla stessa latitudine dei fontanili mostrano ampie variazioni stagionali di temperatura dell'acqua (0 - 30°C). Data la dipendenza dei processi microbici dalla temperatura, questi ambienti presentano tassi di produzione di gas serra variabili durante l'anno. In particolare i tassi diffusivi più alti si registrano in estate dove la bassa solubilità dei gas, unita alle temperature elevate e all'aumento dell'attività microbica, favoriscono il rilascio dei gas dall'acqua verso l'atmosfera. Nel periodo di campionamento le concentrazioni di gas serra, in particolare quelle di protossido di azoto, sono risultate elevate nella maggior parte dei fontanili. Dal momento in cui l'N₂O ha un potenziale serra circa 300 volte superiore a quello della CO₂ (Forster and Ramaswamy, 2007), i risultati di questo studio appaiono piuttosto rilevanti. L'accumulo di N₂O nelle acque sotterranee assume particolare rilievo in quanto generalmente rappresenta un gas in traccia nella maggior parte degli ambienti acquatici, dove non si accumula se non in particolari condizioni ambientali (ad esempio, acque ipossiche ed elevate concentrazioni di nitrato) (Blackmer and Bremner, 1978). Il valore medio dei flussi acqua-atmosfera di N₂O dai fontanili (~ 100 mg N₂O m⁻²

d⁻¹) è ~ 100 volte maggiore dei flussi riportati per i suoli presenti nel bacino idrografico del fiume Po (Lugato et al., 2010). Questo risultato mette in evidenza il ruolo di hotspot dei fontanili nell'emissione di N₂O. Al momento, le informazioni disponibili non consentono di valutare la rilevanza di queste emissioni a scala più ampia, come ad esempio regionale e di bacino.

Il processo microbico responsabile delle elevate concentrazioni di protossido di azoto è difficile da inferire. Il protossido d'azoto, infatti, è allo stesso tempo prodotto di scarto della nitrificazione e un prodotto intermedio della denitrificazione. Entrambi i processi, inoltre, possono avvenire sia nei suoli sia nelle acque sotterranee del bacino di ricarica dei fontanili. Una correlazione positiva tra le concentrazioni di nitrato e di protossido di azoto, come quella trovata in questo studio, è tipica del processo di nitrificazione (Mühlherr and Hiscock, 1998). L'acidificazione dell'acqua dovuta alla produzione di protoni durante il processo di nitrificazione potrebbe portare alla dissoluzione dei sedimenti carbonatici presenti nell'acquifero (Semhi et al., 2000; Navarro A. and M. Carbonell, 2008), spiegando in questo modo la relazione positiva tra protossido di azoto e anidride carbonica. La presenza di ossigeno a concentrazioni sempre maggiori di 1-2 mg l⁻¹ sembra essere limitante per il processo di denitrificazione (Rivett et al., 2008) ma non per quello di nitrificazione. Nelle stazioni di testa la concentrazione di ossigeno è risultata generalmente maggiore di questo valore, facendo presupporre condizioni favorevoli alla nitrificazione. Tuttavia, la denitrificazione può avvenire in nicchie anossiche all'interno di un ambiente ossico e, di conseguenza, l'ossigeno non risulta un buon parametro predittivo per inferire i processi che avvengono nell'acquifero.

La denitrificazione in ambiente anossico porta alla completa riduzione del nitrato con la produzione di elevate quantità di azoto molecolare e, in quantità minori, di protossido di azoto. Di conseguenza, la correlazione attesa tra protossido di azoto e nitrato è negativa. Comunque, von der Heide et al. (2008) hanno rilevato elevate concentrazioni di nitrato e protossido nello stesso acquifero, come quelle rilevate in questo studio. Il processo di inibizione della ossido nitroso riduttasi da parte del nitrato (Blackmer and Bremner, 1978; Betlach and Tiedje, 1981) e dell'ossigeno (Nicholls et al. 2007) potrebbe spiegare la correlazione positiva tra la concentrazione di protossido d'azoto e anidride carbonica nelle acque dei fontanili.

Il metano può essere presente nelle acque sotterranee in elevate concentrazioni, in particolare in presenza di potenziale redox basso e di condizioni anossiche. Le caratteristiche chimico-fisiche delle acque sotterranee che alimentano i fontanili sembrano non essere ottimali per la metanogenesi. Elevate concentrazioni di ossigeno, nitrato e protossido di azoto, infatti, sembrano inibire i processi metanogenetici (Klüber and Conrad, 1998). Le concentrazioni di metano tendono a rimanere costanti o addirittura ad aumentare lungo il decorso superficiale dell'acqua. La presenza in alveo di macrofite sommerse e di sedimenti ricchi in materia organica potrebbero spiegare questa tendenza.

La presenza di una correlazione positiva tra le concentrazioni di CO_2 , NO_3^- e N_2O sembra indicare la presenza di un processo comune che lega carbonio inorganico disciolto e azoto inorganico. La sovrassaturazione di anidride carbonica può essere spiegata dalla dissoluzione dei sedimenti carbonatici a seguito dell'acidificazione dell'acqua a causa della produzione di acido nitrico (nitrificazione) o di acido carbonico (respirazione, denitrificazione). La dissoluzione dei sedimenti carbonatici porta alla produzione di DIC (Böhlke, 2002, Hamilton et al. 2007) e al rilascio di ioni Ca^{2+} nell'acqua, portando ad una correlazione positiva con il nitrato (Figura 5.3). A causa delle caratteristiche carbonatiche del bacino di ricarica dei fontanili non sono attese diminuzioni del valore di pH. Questa ipotesi è in accordo con i valori di pH, 7-8.5, misurati nei fontanili in questo studio.

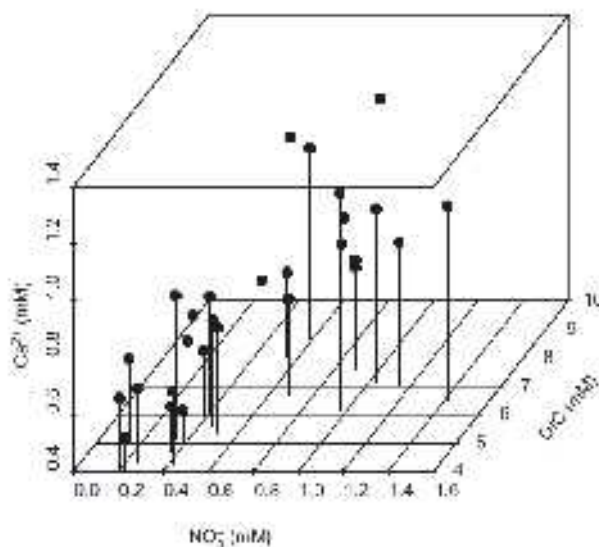


Figura 5.3. Scatterplot tridimensionale che mostra le correlazioni positive tra calcio, nitrato e carbonio inorganico disciolto. NO_3^- e Ca^{2+} ($\rho = 0.67$), NO_3^- e DIC ($\rho = 0.75$) e Ca^{2+} e DIC ($\rho = 0.57$) mostrano correlazioni significative ($p < 0.01$) (da Laini et al., 2011).

5.5.2. Cambiamenti dei flussi durante lo scorrimento superficiale

Nelle acque sotterranee i processi eterotrofici sono dominanti e la probabilità che gas quali CO₂, CH₄ e N₂O si trovino in condizioni di sovrasaturazione è elevata. Prevedere il destino dei gas serra presenti nelle acque sotterranee è abbastanza complicato, in particolar modo negli acquiferi profondi con tempi di ricambio molto lunghi. I prodotti del metabolismo di processi quali nitrificazione e denitrificazione potrebbero essere, ad esempio, a loro volta utilizzati come substrati in altri processi batterici. Le acque presenti nell'acquifero superficiale, però, possiedono tempi di ricambio abbastanza rapidi che non consentono l'instaurarsi di processi biogeochimici di lungo periodo. I fontanili drenano le acque dell'acquifero superficiale e portano in superficie i prodotti dei processi metabolici avvenuti nei campi coltivati del bacino di drenaggio e di quelli avvenuti nell'acquifero. In tal senso i fontanili rappresentano il collegamento tra la parte più superficiale delle acque sotterranee e il reticolo idrografico superficiale. In corrispondenza della fuoriuscita dell'acqua dai tubi di drenaggio le acque sotterranee entrano in contatto con l'atmosfera dove le concentrazioni dei gas serra sono minori. Questa condizione determina la formazione di un forte gradiente di concentrazione che porta all'emissione dei gas dall'acqua verso l'atmosfera. L'emissione è facilitata inoltre dalle caratteristiche idro-morfologiche delle rogge che si originano dai fontanili, in particolare dalla bassa profondità (generalmente < 0.5 m). La presenza di un elevato gradiente di concentrazione e di caratteristiche idro-morfologiche favorevoli determina flussi di N₂O tra i più alti riportati in letteratura per diversi sistemi acquatici e terrestri (Castaldi et al., 2006; Clough et al., 2006; Silvennoinen et al., 2008; Gleason et al., 2009). Per questa ragione i fontanili possono essere definiti come hotspot di emissione di gas serra (N₂O) rispetto all'ambiente circostante.

Le concentrazioni attese di N₂O e CO₂ nelle stazioni di valle, calcolate utilizzando un semplice modello di decadimento esponenziale, non differiscono significativamente da quelle misurate (test di Wilcoxon per dati appaiati, $p > 0.05$) (Figura 5.1). La concentrazione di questi due gas non sembra quindi influenzata dai processi biologici che avvengono all'interno del tratto di roggia considerato (< 1500 m). La diffusione dei gas dall'acqua all'atmosfera appare come il processo dominante che regola la concentrazione di N₂O e CO₂ nei fontanili.

Le concentrazioni attese e misurate di metano, al contrario di quanto avviene per protossido di azoto e anidride carbonica, differiscono significativamente ($p < 0.01$) (Figura 5.1). Il metano presente nella stazione di valle in concentrazioni simili a quelli presenti nella stazione di testa potrebbe derivare dall'ingresso di acque sovrassature dall'acquifero non confinato o da processi che avvengono all'interno dell'alveo. La relazione tra le concentrazioni di metano e protossido nelle stazioni di valle (Figura 5.4) permette di ordinare i fontanili studiati lungo un gradiente di abbondanza di N₂O e CH₄. Il basso rapporto N₂O/CH₄ potrebbe essere dovuto a processi metanogenetici interni all'alveo

oppure alla connessione idraulica con l'acquifero non confinato transitante attraverso substrati ricchi di materiale organico e, di conseguenza, strettamente anossico. Concentrazioni elevate di metano sono state riportate, infatti, per le acque sub-superficiali presenti nelle fasce riparie e nella zona iporreica (Jones and Mulholland, 1998).

5.5.3. Rilevanza delle acque sotterranee nel riciclo dell'azoto verso il reticolo idrografico secondario

Concentrazioni di nitrato molto elevate (oltre 1000 μM) nell'acquifero superficiale dell'area presa in considerazione in questo studio sono state misurate in studi precedenti (Regione Lombardia, 2009). Concentrazioni di nitrato così elevate sono la probabile conseguenza del surplus di N nei suoli agricoli (Palmeri et al., 2011) e delle pratiche irrigue tradizionali, basate principalmente su scorrimento superficiale in suoli altamente permeabili.

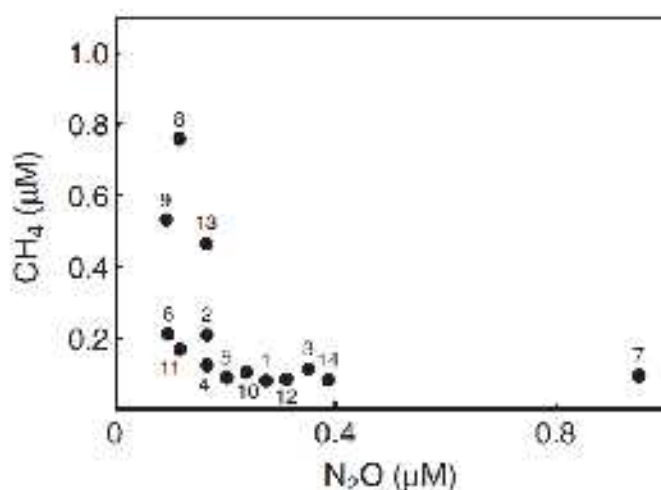


Figura 4.4. Relazione tra le concentrazioni di N_2O e CH_4 misurate nella stazione a valle. I numeri sopra i punti rappresentano i fontanili campionati (da Laini et al., 2011).

Le concentrazioni di nitrato misurate nella stazione di valle non differiscono significativamente da quelle misurate nelle stazioni di testa, probabilmente a causa dei tempi di residenza brevi e delle concentrazioni di nitrato molto elevate. I carichi di nitrato calcolati moltiplicando la concentrazione di nitrato per la portata sono risultati in media 177 $\text{kg N-NO}_3^- \text{d}^{-1}$ con un massimo di 456 $\text{kg N-NO}_3^- \text{d}^{-1}$. Questi risultati sono rilevanti in considerazione del fatto che nella sola regione Lombardia sono stati censiti più di 700 fontanili (ERSAL 1998). L'azoto inorganico riciclato dalle acque sotterranee verso il reticolo idrografico superficiale ad opera dei fontanili ha lo stesso ordine di grandezza del carico calcolato per due tributari del fiume Po, i fiumi Mincio e Oglio (portata media di 30 e 60 m^3

s⁻¹, rispettivamente) (Pinardi et al., 2007; Racchetti et al.; 2008; non pubblicati). La concentrazione di nitrato misurata in molti acquiferi del bacino idrografico del fiume Po e il carico in uscita dai fontanili mette in evidenza il ruolo di sink temporaneo di nitrato degli acquiferi e il loro ruolo nel riciclo dell'azoto utilizzato in agricoltura. In bacini idrografici in cui l'attività agricola è elevata, infatti, una quota consistente di azoto può uscire dal suolo attraverso il percolamento verso le acque sotterranee in forma di nitrato.

6 Erbicidi nelle acque sotterranee: presenza e pattern di dispersione

6.1. Introduzione

Nonostante siano indispensabili per sostenere un'agricoltura intensiva gli erbicidi, e più in generale i pesticidi, possono essere rinvenuti in concentrazioni elevate sia nelle acque superficiali che sotterranee (Tilman et al., 2002). Elevate concentrazioni di erbicidi nei corpi idrici possono rappresentare, come nel caso l'inquinamento da nitrati, una seria minaccia per la salute umana e per le biocenosi acquatiche e terrestri (Kortenkamp et al., 2007; McLaughlin and Mineau, 1995). Tra i micro-inquinanti che possono essere ritrovati in ambiente acquatico gli erbicidi sono usati massicciamente per il controllo delle erbe infestanti. Lo scorrimento superficiale e il drenaggio subsuperficiale sono le vie di dispersione principali degli erbicidi verso il reticolo idrografico secondario e principale. I carichi di erbicidi verso le acque superficiali sono molto intensi nei periodi immediatamente successivi a precipitazioni o irrigazioni e si sono dimostrati maggiori subito dopo il diserbo (Kladivko et al., 2001). La lisciviazione dai suoli verso gli acquiferi è una seconda via di dispersione che va ad influire sulla qualità delle acque sotterranee. Questo processo è influenzato da diverse variabili ambientali, quali la quantità di precipitazioni, la temperatura, le caratteristiche chimico-fisiche del suolo e dalle pratiche agricole quali il tipo di irrigazione (Fait et al., 2010; Müller et al., 2007) e il tipo di fertilizzante utilizzato (Barra-Caracciolo et al., 2005). Le proprietà chimiche degli erbicidi sono un altro fattore che regola la tendenza di un contaminante a raggiungere le acque sotterranee in quanto influenzano l'assorbimento e la cinetica di degradazione dell'inquinante e, di conseguenza, il tempo di ritenzione del contaminante e dei suoi metaboliti nel suolo (Arias-Estévez et al., 2008). La degradazione dell'erbicida originario da origine ad uno o più metaboliti che mantengono la tossicità del composto parentale ma sono generalmente molto più mobili in fase acquosa. Diversi autori, infatti, affermano che negli ambienti acquatici i metaboliti sono presenti in concentrazioni più elevate rispetto ai composti originari (Kolpin et al., 2000). A causa dell'elevata tossicità e mobilità anche i metaboliti rappresentano una seria minaccia per la qualità delle acque sotterranee.

La conoscenza dei pattern di dispersione a scala di bacino idrografico o regionale è di fondamentale importanza per l'implementazione di politiche che consentano di minimizzarne la concentrazione nei corpi idrici. I fontanili, come detto in precedenza, sono localizzati in un'area in cui le attività agro-zootecniche sono molto sviluppate e quindi suscettibili all'inquinamento provocato da un'errata gestione delle colture. L'estensione geografica della fascia dei fontanili li rende inoltre soggetti a diverse colture e pratiche agricole che influenzano in diverso modo la percolazione dei pesticidi verso le acque sotterranee.

6.2. Obiettivi

Gli obiettivi di questo lavoro sono di mappare l'inquinamento da pesticidi nelle acque sotterranee, di evidenziare eventuali correlazioni tra la presenza dei pesticidi e alcune variabili ambientali e di valutare l'eventuale rischio per le comunità animali e vegetali.

6.3. Area di studio

Durante i mesi di Giugno e Agosto 2009 sono stati campionati rispettivamente 22 e 23 fontanili rappresentativi di una buona porzione dell'area di media pianura del bacino idrografico del Po. I fontanili selezionati sono localizzati in Lombardia (n=18) ed Emilia Romagna (n=6). Le sorgenti localizzate in Lombardia possiedono un bacino di ricarica più ampio e sono soggette ad una pressione da attività agro-zootecniche maggiore rispetto a quelle localizzate in Emilia Romagna (Figura 6.1). Il numero di fontanili campionati è variabile tra le due campagne di campionamento in quanto alcuni non sono stati rinvenuti attivi il giorno del campionamento.

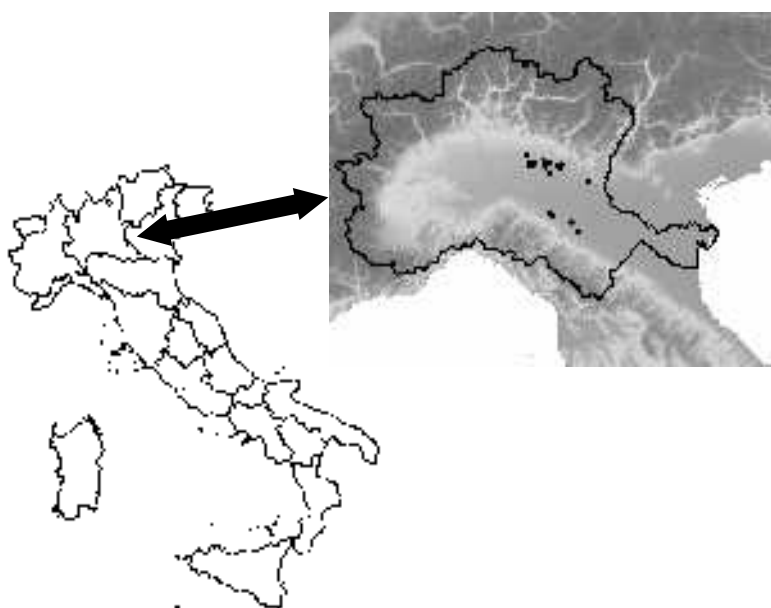


Figura 6.1. Localizzazione geografica dei fontanili campionati.

6.4. Materiali e metodi

6.4.1. Prelievo e analisi dei campioni acquosi

I campioni acquosi sono stati prelevati in corrispondenza dai tubi di drenaggio presenti nelle testre dei fontanili e sono stati analizzati per la determinazione delle principali caratteristiche fisico-chimiche e della concentrazione di nutrienti, gas disciolti ed erbicidi. In questo capitolo verranno riportati solo i dati relativi alla concentrazione di erbicidi, in quanto i dati risultanti dalla caratterizzazione degli altri parametri è riportata nel capitolo 4. Durante il campionamento sono stati annotati il tipo di coltura adiacente alla testa del fontanile (sia in destra che sinistra idrografica) e la larghezza delle fasce riparie eventualmente presenti.

I campioni d'acqua (1000 ml circa di volume) sono stati filtrati su Buchner e successivamente estratti utilizzando cartucce Thermo Scientific C18 500mg/3ml, precedentemente condizionate eluendo 3 ml di metanolo seguito da due volumi di acqua ultrapura (6ml), servendosi di una leggera pressione negativa fornita con un collettore resistente alle depressioni. Gli analiti sono stati recuperati dalle cartucce SPE eluendoli con 10 ml di acetone, e l'estratto eluito, raccolto in provette da 10 ml, è stato portato a secco sotto flusso di azoto. Successivamente, il campione essiccato è stato dissolto in 1 ml di acetone e trasferito in vial per l'analisi in gc-ms.

Le determinazioni sono state eseguite utilizzando un cromatografo gas-liquido (GLC) accoppiato con un rivelatore selettivo di massa. Il GLC è un cromatografo gas-liquido Agilent 6890 Series equipaggiato con un rivelatore di massa Agilent 5973 ed una colonna capillare ZB5-MS (30 m × 0.25 mm I.D. e 0.25 m). Il programma di temperature del forno è il seguente: 70°C mantenuti per due minuti, aumento a 170°C a 10°C/min e mantenuti per 1 minuto, aumento a 240°C a 5°C/min mantenuti per 1 minuto, aumento a 300°C a 20°C/min mantenuti per 4 minuti; la durata dell'analisi è di 35 min. L'iniettore split/splitless è impostato a 250°C e la transfer line a 290°C. Il flusso del gas carrier elio è costante a 1 ml/min. In queste condizioni, i tempi di ritenzione sono i seguenti: desetil-terbutilazina 15.21min, terbutilazina 16.92min, acetoclor 18.65min, alaclor 18.95min, metolaclor 20.3min, isoxaflutole 20.86min e aclonifen 25.64min. Il limite di detection per i primi cinque analiti è di 0.005mg/L mentre per isoxaflutole ed aclonifen era di 0.05mg/L, con una buona risposta di linearità ($R^2 > 0.99$) per tutti gli analiti. Gli analiti sono stati identificati attraverso: (i) confronto tra il tempo di ritenzione dei campioni e degli standard analitici, (ii) confronto tra spettri di massa dei campioni e degli standard analitici, (iii) confronto tra lo spettro nella libreria NIST e quello dei campioni. La quantificazione è stata eseguita in modalità Single Ion Monitoring dove 186m/z, 214m/z, 146 m/z, 160m/z, 162m/z, 279m/z e 264m/z sono stati impostati rispettivamente per desethylterbutilazina, terbutilazina, acetoclor, alaclor, metolaclor, isoxaflutole e aclonifen; le

concentrazioni sono state calcolate con una curva di calibrazione esterna per ogni analita. Considerando il fattore di concentrazione del campione, il limite di quantificazione è stato calcolato come 5ng/L per i primi cinque analiti, mentre per isoxaflutole e aclonifen è risultato di 50ng/L.

6.4.2. *Analisi spaziali*

La dipendenza delle concentrazioni di erbicidi nelle acque dei fontanili dall'uso del suolo e dalle variabili ambientali nel bacino di ricarica è stata valutata per mezzo di analisi GIS. Tali analisi sono state effettuate solamente per il dominio idrogeologico Adda-Oglio, nel quale è presente il maggior numero di fontanili campionati (n=12).

L'area di ricarica è stata definita come la distanza massima dal quale un erbicida può provenire. Tale distanza è stata calcolata basandosi sui tempi di emivita degli erbicidi e sui tempi di transito dell'acqua nella porzione superiore dell'acquifero superficiale. Nei prossimi paragrafi verranno spiegati in dettaglio i metodi ed i calcoli utilizzati per l'analisi GIS.

6.4.3. *Elaborazione della superficie piezometrica*

Il calcolo della superficie piezometrica rappresenta la base di partenza per ogni elaborazione riguardante le acque sotterranee. L'elaborazione della superficie piezometrica dell'acquifero superficiale è stata ottenuta interpolando i dati piezometrici forniti da ARPA. Dei 41 dati a disposizione per il bacino Adda-Oglio ne sono stati selezionati solamente 14, escludendo quelli relativi al secondo e terzo acquifero e quelli palesemente errati. La superficie piezometrica è stata elaborata interpolando i dati su una griglia regolare a maglia 20 x 20 m, corrispondente alla maglia del DTM messo a disposizione dal Geoportale Nazionale attraverso il sistema WCS (www.pcn.minambiente.it). La tecnica di interpolazione utilizzata è quella deterministica dell'inverse distance weighting (IDW), in quanto l'utilizzo di tecniche di interpolazione più sofisticate, come il kriging, non è stato possibile a causa della scarsità dei dati a disposizione.

6.4.4. *Calcolo delle velocità di movimento e tempi di scorrimento delle acque sotterranee*

La velocità delle acque sotterranee è stata calcolata attraverso l'applicazione della legge di Darcy come proposto da vari autori (Kunkel and Wendland, 1997; Fait et al., 2010):

$$V_a = \frac{K_f}{N_f} \times j \quad (6.1)$$

Dove V_a ($m s^{-1}$) rappresenta la velocità a cui si muovono le acque sotterranee, K_f ($m s^{-1}$) la conducibilità idraulica, N_f (%) la porosità effettiva e j ($m m^{-1}$) il gradiente idraulico. La velocità calcolata non è in realtà una vera e propria velocità bensì la portata specifica, definita come la velocità alla quale l'acqua si muoverebbe attraverso un acquifero se l'acquifero fosse un condotto aperto. I valori di conducibilità idraulica dipendono dalla granulometria del substrato e dal volume dei pori effettivamente collegati tra loro (porosità effettiva). Dal momento in cui non è stato possibile reperire informazioni dettagliate circa la composizione granulometrica del terreno presente nell'area di studio la granulometria dei substrati è stata ricavata dallo shapefile dei suoli disponibile presso il portale cartografico della Lombardia (www.cartografia.regione.lombardia.it) considerando una colonna di suolo uniforme per i primi metri dell'acquifero superficiale. I valori di conducibilità e porosità per le diverse classi granulometriche sono stati ricavati dai dati disponibili in letteratura (Freeze and Cherry, 1979) e sono stati associati allo shape dei suoli, successivamente rasterizzato. Il gradiente idraulico è stato invece calcolato a partire dalla superficie piezometrica interpolata. Il tempo (giorni) che le acque sotterranee impiegano ad attraversare una cella è stato calcolato dividendo la lunghezza della cella di 20 m di lato per la velocità ($m d^{-1}$).

6.4.5. Calcolo del bacino di ricarica

Come accennato in precedenza, il bacino di ricarica è stato calcolato a partire dal tempo di emivita degli erbicidi. Il tempo di emivita rappresenta il tempo necessario affinché la quantità di erbicida in acqua si riduca del 50 %. Questo tempo è funzione di diversi fattori come temperatura, caratteristiche chimico-fisiche dei suoli, intensità della radiazione luminosa ed umidità. A questa variabilità si aggiunge quella derivante dalle condizioni sperimentali (ad esempio in laboratorio o in campo). Per questi motivi i dati presenti in letteratura ricoprono una ampio range di valori anche molto diversi tra loro. In questo lavoro è stato considerato il tempo di emivita maggiore trovato in letteratura, in modo da isolare l'area potenziale di influenza dei pesticidi più ampia possibile. Si è fatto ricorso a questa scelta cautelativa in ragione del fatto che in questo lavoro non sono stati stimati i tempi di percolazione dell'erbicida dalla superficie topografica verso l'acquifero e l'eventuale diluizione dovuta alla ricarica dell'acquifero superficiale con acque non contaminate dallo stesso inquinante. In questo modo si è delineato un range massimo dal quale l'inquinamento da erbicidi può provenire.

Il bacino di ricarica è stata calcolato solamente per la terbutilazina (TBA) in quanto è stato l'unico erbicida rinvenuto regolarmente nelle acque dei fontanili, insieme al suo prodotto di degradazione principale desetil-terbutilazina (DET). L'approccio generale seguito per determinare il bacino di ricarica è comunque utilizzabile anche per tutti gli altri erbicidi o contaminanti provenienti dalle

attività agro-zootecniche. Il tempo di emivita della TBA utilizzato è di 366 giorni, valore proposto da Navarro et al. (2004) per la sua degradazione in acque sotterranee. Il tempo di emivita scelto è conservativo in quanto non tiene in considerazione il passaggio della terbutilazina nel suolo dove il tempo di emivita è generalmente minore (da 20 a 200 giorni)([PPDB 2009](#), Barra-Caracciolo et al., 2001). Dal tempo di emivita è stato possibile calcolare il tempo impiegato dalla terbutilazina a raggiungere le concentrazioni rilevate in acqua seguendo una cinetica di decadimento di primo ordine. La concentrazione iniziale della TBA è stata stimata in 0.16 mg l^{-1} a partire dalle dosi di diserbo standard nei più comuni formulati in vendita ($\sim 800 \text{ g ha}^{-1}$, <http://monsanto.it/prodotti/agrofarmaci/bolero/micormix.asp>) e da un valore di ricarica di 0.5 m yr^{-1} (Canepa et al., 2011). Il tempo calcolato, come già detto, è cautelativo in quanto non tiene conto del passaggio della terbutilazina nel suolo e dell'eventuale diluizione dovuta alla ricarica dell'acquifero superficiale con acque non contaminate da terbutilazina. Infine, è stato possibile determinare l'estensione del bacino di ricarica dal quale può provenire la TBA, calcolando un buffer attorno al fontanile basandosi sui tempi di transito nell'acquifero e sui tempi calcolati con i valori di emivita. Attraverso specifici algoritmi è infatti possibile isolare l'insieme di celle in cui la somma dei tempi di transito verso la testa del fontanile sono compresi tra 0 ed il tempo calcolato dai tempi di emivita.

6.4.6. Calcolo delle variabili ambientali nell'area di inquinamento

All'interno del bacino di ricarica sono state determinate la quantità di mais coltivato e la soggiacenza media della falda rispetto al piano campagna che, insieme al tipo di suolo, sono le variabili che più influiscono sulla concentrazione e sulla degradazione della terbutilazina nel tragitto verso i fontanili. La soggiacenza è stata determinata calcolando la differenza tra il DTM (ottenuto dal Geoportale Nazionale) e la superficie piezometrica calcolata, mentre il tipo di suolo è ricavabile dallo shapefile messo a disposizione dalla regione Lombardia. La stima della quantità di mais è stata fatta utilizzando i dati del 5° censimento generale dell'agricoltura (ISTAT, 2000, censagr.istat.it) che riporta dati a livello comunale.

Le analisi spaziali sono state effettuate con diversi software: [GRASS GIS](#), [Quantum GIS](#), ed i pacchetti [gstat](#) (Pebesma, 2004) e [raster](#) (Hijmans & van Etten, 2011) del software statistico R.

6.4.7. Analisi statistiche

Dal momento in cui i dati non sono distribuiti normalmente, le differenze tra le concentrazioni di TBA e DET nelle diverse stazioni e periodi di campionamento sono state valutate con il test di

Wilcoxon per campioni appaiati. Medie e correlazioni sono state calcolate con il pacchetto Nondetects And Data Analysis for environmental data ([NADA package](#); Lee, 2008), plugin del software statistico R (Copyright (C) 2009, R Foundation for Statistical Computing, www.r-project.org).

6.5. Risultati e Discussioni

6.5.1. Concentrazione degli erbicidi nelle acque dei fontanili

Terbutilazina e desetil-terbutilazina sono stati gli unici erbicidi rinvenuti nelle acque dei fontanili (Tabella 6.1). La concentrazione di TBA è risultata in media di 17.13 ± 21.56 ng l⁻¹ nel campionamento di Giugno e 47.92 ± 47.38 ng l⁻¹ nel campionamento di Agosto. La concentrazione di DET è risultata in media di 36.27 ± 43.18 ng l⁻¹ nel campionamento di Giugno e 121.91 ± 87.98 ng l⁻¹ nel campionamento di Agosto. Il numero di fontanili nei quali non sono stati rinvenuti erbicidi è più alto in Giugno (30 %) che in Agosto (45 %) e per la TBA (45 %) rispetto alla DET (29 %). Come mostrato in Figura 5.2, le concentrazioni di erbicidi sono risultate maggiori del limite di potabilità delle acque (100 ng l⁻¹) in 18 fontanili su 132.

Tabella 6.1. Concentrazioni di terbutilazina e desetil-terbutilazina nelle campagne di campionamento di giugno e Agosto. I fontanili dal numero 16 al 24 sono localizzati in Emilia Romagna, caratterizzata da una minor intensità delle attività agricole.

	June 2009		August 2009	
	DET ng l ⁻¹	TBA ng l ⁻¹	DET ng l ⁻¹	TBA ng l ⁻¹
1	19.99	14.25	83.73	40.10
2	-	-	219.15	60.48
3	59.90	2.57	252.26	51.20
4	< 5.00	< 5.00	111.09	32.19
5	155.20	94.06	388.39	196.65
6	8.52	0.00	43.07	< 5.00
7	16.64	20.99	147.40	97.46
8	60.01	25.56	209.99	65.79
9	51.85	11.68	158.99	35.86
10	-	-	89.71	37.86
11	31.32	34.16	153.66	99.89
12	101.37	46.48	144.75	84.79
13	129.24	13.31	-	-
14	45.54	24.14	123.66	77.53
15	50.27	39.25	195.45	115.59
16	23.30	< 5.00	70.27	10.69
17	8.75	< 5.00	98.61	11.31
18	< 5.00	< 5.00	< 5.00	< 5.00
19	< 5.00	< 5.00	85.62	26.71
20	< 5.00	< 5.00	< 5.00	< 5.00
21	< 5.00	< 5.00	< 5.00	< 5.00
22	< 5.00	< 5.00	< 5.00	< 5.00
23	< 5.00	< 5.00	< 5.00	< 5.00
24	< 5.00	< 5.00	< 5.00	< 5.00

I risultati ottenuti sono in linea con i risultati riportati in letteratura (Otto et al., 2007; Guzzella et al., 2006;) in cui TBA e DET risultano gli erbicidi più diffusi negli acquiferi del Nord Italia insieme all'atrazina e ai suoi metaboliti. DET è presente in concentrazioni maggiori rispetto a TBA a causa della sua elevata mobilità e persistenza negli ambienti acquatici (Bottoni et al., 1996). Come suggerito da Guzzella et al. (2006) il rapporto DET:TBA può fornire informazioni sull'entità dell'interazione tra terbutilazina e suolo durante il percorso ambientale dell'erbicida. Più in particolare valori maggiori di 1 sono caratteristici di una intensa interazione TBA-suolo e, di conseguenza, di una probabile sorgente diffusa di inquinamento. Nei campioni di acqua prelevati dai fontanili il rapporto DET:TBA è nella maggior parte dei casi maggiore di 1, ad eccezione di due fontanili nei quali il rapporto è comunque prossimo all'unità. Le maggiori concentrazioni di terbutilazina rinvenute in Agosto rispetto a quelle rinvenute in Giugno potrebbero essere il risultato di un ritardo nella dispersione dell'inquinante dovuta ai tempi di transito necessari per il passaggio dal suolo verso la falda. Tale ritardo è in accordo con i valori di conducibilità idraulica riscontrati nell'acquifero.

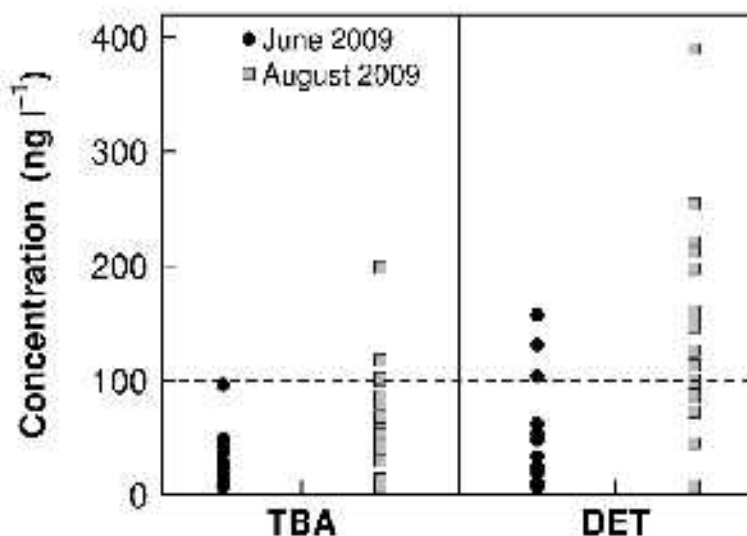


Figura 6.2 Concentrazione di terbutilazina e desetil-terbutilazina nelle acque dei fontanili in Giugno e Agosto 2009. La linea tratteggiata rappresenta il valore limite per la potabilità delle acque (100 ng l⁻¹).

6.5.2. *Erbicidi nei fontanili, controllo locale o regionale?*

Per meglio comprendere il processo che regola la concentrazione degli erbicidi nei fontanili sono

stati analizzati diversi pattern spaziali di regolazione. Non è stata individuata nessuna correlazione tra le concentrazioni di terbutilazina e desetil-terbutilazina nelle acque dei fontanili e l'area di influenza dei pesticidi, che rappresenta in questo caso il bacino di ricarica del fontanile stesso. Nessuna correlazione significativa è stata ritrovata anche tra la concentrazione di pesticidi e la soggiacenza media del bacino di ricarica. Le concentrazioni di TBA e DET differiscono tra quelle rinvenute nei fontanili fortemente circondati dai campi di mais rispetto a quelle ritrovate negli altri fontanili (Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$ and $p < 0.01$ in giugno e agosto, per entrambi i pesticidi, Figura 6.3).

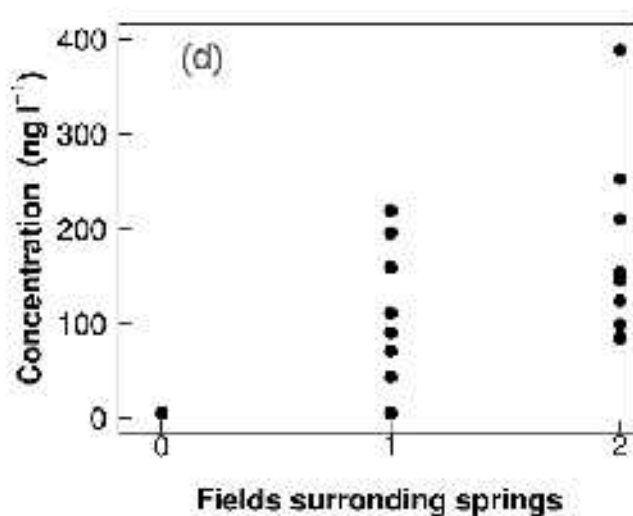


Figura 6.3. Concentrazione di terbutilazina in relazione al numero di campi di mais che circondano il fontanile.

La valutazione del bacino di ricarica dei fontanili basandosi sui tempi di emivita della terbutilazina è un approccio che consente di determinare una distanza massima dalla quale l'erbicida può provenire. I tempi sono risultati in media 4584 ± 461 giorni pari a circa 12 anni. Considerando i tempi di scorrimento delle acque sotterranee la distanza dalla quale proviene la TBA non è superiore ai 4 km in tutti i fontanili (ad esempio, Figura 6.4). Il controllo spaziale che agisce sulla concentrazione di TBA negli acquiferi sembra essere locale, limitato a pochi ettari di distanza dalla testa del fontanile. Probabilmente la fonte di inquinamento principale risulta provenire dai campi circostanti, come indicato dalla correlazione positiva tra concentrazione di TBA e numero di campi di mais adiacenti al fontanile. Alcuni fontanili, distanti fra loro meno di 500 m, mostrano tra loro concentrazioni che differiscono di circa un ordine di grandezza. Ad esempio i fontanili 12 e 16 sono distanti 330 m circa e presentano le stesse caratteristiche ambientali che regolano il processo di

dispersione degli erbicidi (soggiacenza della falda, tipo di suolo, caratteristiche idrogeologiche), ma le concentrazioni in un caso sono inferiori al limite di rivelabilità analitica e nell'altro pari a circa 50 ng l⁻¹. L'assenza di contaminazione sembra escludere un controllo regionale sulla concentrazione di terbutilazina. Sono stati riscontrati altri casi analoghi che per brevità non vengono riportati. Questi risultati fanno presupporre un forte controllo locale della contaminazione da erbicidi. La limitazione dell'inquinamento delle acque in uscita dai fontanili potrebbe essere raggiunta attraverso il rispetto delle buone pratiche agricole e la messa in posto di fasce riparie efficacemente progettate.

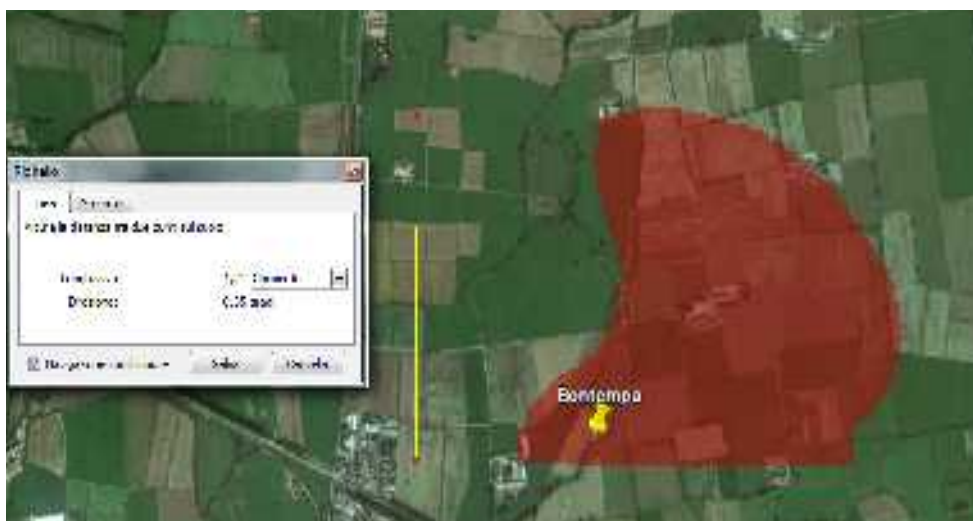


Figura 6.4. Bacino di ricarica di un fontanile, area rossa in trasparenza, e relativa estensione spaziale.

6.5.3. Criticità dell'approccio e possibili miglioramenti

Come detto in precedenza il bacino di ricarica considerato rappresenta una stima conservativa, in quanto non sono stati tenuti in considerazione alcuni fattori che influiscono direttamente sulla concentrazione dell'erbicida. I tempi di transito dal suolo verso la falda non sono stati considerati e, se tenuti in considerazione, riducono l'estensione del bacino di ricarica. La possibile diluizione riduce ancora di più tale estensione in quanto, a parità di concentrazione di TBA rinvenuta nei fontanili, la distanza dalla quale l'erbicida proviene in presenza di diluizione è minore rispetto a un trasporto conservativo in cui la diminuzione di concentrazione è funzione solamente del processo di idrolisi. Il mixing di acque a diversa concentrazione determinerebbe, a sua volta, una estensione del bacino di ricarica minore rispetto a un trasporto conservativo. La maggiore criticità è la stima della concentrazione iniziale di TBA, fortemente influenzata dal tasso di ricarica effettiva che viene preso in considerazione (in questo lavoro 0.5 m yr⁻¹). L'applicazione di modelli di dispersione degli inquinanti (ad esempio MACRO) consentirebbe di valutare in modo più preciso la concentrazione

di erbicida che raggiunge l'acquifero dopo aver attraversato lo spessore insaturo dell'acquifero. La ricostruzione della superficie piezometrica e il calcolo dei tempi di ricarica sono anch'essi dei passaggi cruciali per la stima del bacino di ricarica dei fontanili per ciò che concerne gli erbicidi. La disponibilità di dati di maggior qualità e dettaglio consentirebbe di valutare queste variabili nel migliore dei modi.

6.5.4. Rischi potenziali per le biocenosi acquatiche

I fontanili ospitano biocenosi acquatiche particolari e adattate alle caratteristiche chimico-fisiche delle acque di falda (Rossetti et al., 2005; Minelli, 2001).

La concentrazione di erbicidi nei fontanili è risultata essere minore degli endpoint ecotossicologici di invertebrati acquatici ($EC_{50} = 21 \text{ mg l}^{-1}$, $NOEC = 0.019 \text{ mg l}^{-1}$), pesci ($LC_{50} = 2.2 \text{ mg l}^{-1}$, $NOEC = 0.09 \text{ mg l}^{-1}$) e piante ($EC_{50} = 0.012 \text{ mg l}^{-1}$) (PPDB, 2009). Dal momento in cui la desetil-terbutilazina possiede valori più alti degli endpoint della terbutilazina, l'inquinamento da pesticidi non è una minaccia diretta per la diversità degli organismi acquatici (McLaughlin and Mineau, 1995). La simultanea presenza di molteplici inquinanti, come ad esempio pesticidi e nitrati, può comunque risultare un fattore limitante per la biodiversità nei fontanili. Attraverso un approccio simile a quello utilizzato per definire l'area di influenza degli erbicidi è possibile quantificare, a partire dal tempo di emivita e dagli endpoint ecotossicologici, delle area di tutela più o meno restrittive che consentano di salvaguardare le biocenosi acquatiche. Partendo dall'endpoint tossicologico maggiore ($EC_{50} = 0.012 \text{ mg l}^{-1}$ per le piante acquatiche) è stata calcolata la distanza alla quale la TBA distribuita sul campo potrebbe raggiungere la testa del fontanile. Il tempo è stato stimato in 1368 giorni, corrispondente ad una distanza massima, cautelativa, di circa 1 km.

7 Variabilità spazio-temporale delle caratteristiche chimico-fisiche dei fontanili

7.1. Introduzione

In letteratura le caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili sono considerate costanti nel tempo, con piccole differenze riconducibili alle variazioni stagionali di temperatura e precipitazioni (Minelli et al., 2001). A causa della particolare conformazione geologica ed idrogeologica presente nella fascia dei fontanili, le attività che vengono svolte in superficie si ripercuotono rapidamente sulla qualità delle acque sotterranee, in particolare di quelle degli orizzonti più superficiali. La mancanza di studi di lungo termine non consente però di mettere in evidenza eventuali cambiamenti nel tempo del chimismo delle acque della porzione più superficiale dell'acquifero. Nell'ultimo cinquantennio l'evoluzione tecnologica ha portato a profonde modificazioni delle pratiche irrigue, di diserbo, di concimazione e di gestione del territorio, e, di conseguenza, il disturbo provocato da ognuna di esse si è modificato nel tempo. Per mettere in evidenza tali modificazioni sono necessarie analisi di serie storiche delle caratteristiche chimico-fisiche delle acque di falda. All'interno di queste modificazioni di lungo periodo sono sovrainposte variazioni di breve termine, dei veri e propri cicli che riflettono le variazioni stagionali dell'uso del territorio. Le pratiche strettamente connesse all'agricoltura sono infatti in grado di cambiare radicalmente la gestione della risorsa idrica nel territorio dai mesi autunnali ed invernali (periodo non irriguo) ai mesi primaverili ed estivi (periodo irriguo). INEA (2009) riporta l'estensione temporale della stagione irrigua delle diverse colture, indicando per il mais, la coltura prevalente nella fascia dei fontanili, un intervallo che va dal 15 Maggio al 31 Agosto. Tracciare il percorso dell'acqua in queste aree è abbastanza complicato, ma valutarne gli effetti sulla qualità delle acque sotterranee risulta possibile attuando un disegno sperimentale ripetuto durante l'anno.

Data l'estrema variabilità delle pratiche irrigue è inoltre necessario caratterizzare la presenza degli inquinanti nelle acque di falda ad una scala spaziale adeguata. In particolar modo, l'analisi di elementi cosiddetti conservativi (cloruri, bromuri, ecc) potrebbe aiutare nell'interpretazione delle vie di dispersione degli inquinanti nell'acqua di falda.

7.2. Obiettivi

Scopo di principale di questo lavoro è di mettere in evidenza la variabilità spaziale e temporale delle caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili. Obiettivo secondario è quello di

determinare l'apporto di acque sotterranee al fiume, considerando i fontanili come proxy delle acque di falda.

7.3. Materiali e Metodi

7.3.1. Area di studio

Nei mesi di Giugno 2010 e Febbraio, Aprile, Giugno, Agosto 2011 sono stati campionati circa 30 fontanili in destra e sinistra idrografica del fiume Oglio sublacuale. Il numero dei fontanili campionati è variabile nelle date di campionamento a causa della mancanza d'acqua nel fontanile e del progressivo aumento di siti di campionamento per approfondire situazioni critiche. In particolare 6 fontanili sono localizzati nel dominio idrogeologico Oglio-Mincio (sinistra idrografica) ed i restanti 24 nel dominio idrogeologico Adda-Oglio (destra idrografica) (Figura 7.1). Il numero limitato di fontanili nel dominio Oglio-Mincio è dovuto alla scarsa presenza di fontanili nell'area, per la maggior parte estinti a causa degli eccessivi prelievi di acque sotterranee e per scarsa manutenzione. Inizialmente la scelta della posizione geografica dei fontanili è stata effettuata in modo tale da ottenere una griglia regolare di fontanili, distribuiti su 3 transetti per ognuno dei quali sono stati individuati 3 fontanili sia in destra che in sinistra idrografica del fiume. L'estensione longitudinale della griglia è stata posta a 12 km, mentre quella latitudinale è stata di circa 15 km (pari all'estensione della fascia dei fontanili).

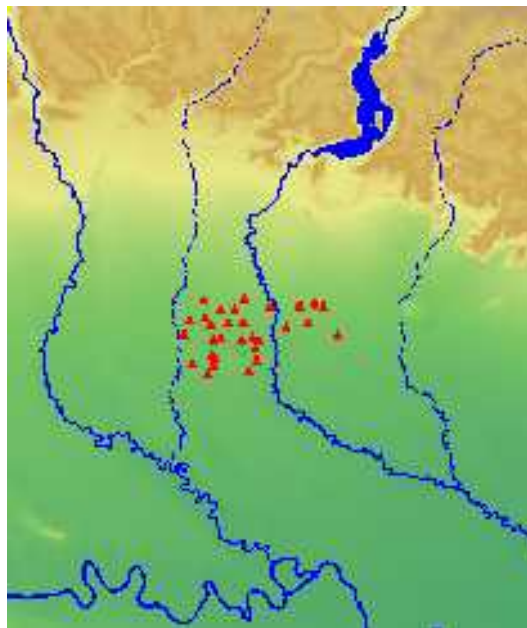


Figura 7.1. Localizzazione geografica dei fontanili campionati. Da sinistra a destra i fiumi rappresentati sono Adda, Serio, Oglio e Mella.

In situ sono stati misurati i valori di conducibilità, temperatura, pH e ossigeno disciolto. I campioni sono stati analizzati per le forme inorganiche dell'azoto (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-), carbonio inorganico disciolto (DIC) e gas disciolti (O_2 , CO_2 , N_2O).

7.3.2. Analisi statistiche

Al fine di determinare differenze stagionali nei parametri chimico-fisici è stata applicata una analisi della varianza. I dati a disposizione, essendo misurazioni in tempi diversi sulle stesse unità statistiche, possono essere definiti come dati longitudinali. Per questo motivo, sono stati effettuati test per l'autocorrelazione temporale e spaziale. Il database presenta fontanili per i quali non sono presenti dati per tutte le date di campionamento. Al fine di rispettare le assunzioni di validità per l'analisi della varianza i valori di conducibilità corretta e CO_2 sono stati trasformati con il logaritmo in base e mentre l' N_2O con la radice quadrata. Per evitare perdita di validità del test sono stati considerati solo quei fontanili per i quali sono a disposizione le misure per tutte le date di campionamento. In attesa di trovare le tecniche di analisi più adatte ai dati a disposizione non sono state effettuate analisi di regressione e analisi sull'intero dataset.

7.4. Risultati

7.4.1. Caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili

Il valore medio, la mediana e la deviazione standard dei parametri analizzati sono presentati in tabella 6.1.

Tabella 7.1. Media, mediana e deviazione standard dei parametri chimico-fisici misurati nei fontanili in tutte le date di campionamento.

	Unità di misura	Media	Mediana	Sd
pH		6.95	6.93	0.24
Temperatura	°C	14.48	14.30	1.36
Conducibilità^o	$\mu\text{S cm}^{-1}$	503.93	485.00	117.71
DIC	mM	6.61	6.62	1.23
NH_4^+	μM	0.71*	< 0.14*	1.92*
NO_2^-	μM	0.25*	< 0.25*	0.76*
NO_3^-	μM	681.47	677.33	249.81
O_2	mg l^{-1}	3.53	3.75	1.86
O_2	%	34.69	36.20	18.22
CO_2	mM	1341.61	1256.18	728.62
CO_2	%	9227.60	8662.90	4882.59
N_2O	nM	394.67	335.55	251.98
N_2O	%	3770.50	3071.90	2496.85

*Valori stimati con la tecnica "Regression on Order Statistics" (ROS), specifica per al di sotto del limite di rivelabilità.

°Conducibilità corretta a 20°C.

Gli andamenti stagionali dei principali parametri chimico-fisici sono presentati nelle Figure 7.2, 7.3 e 7.4.

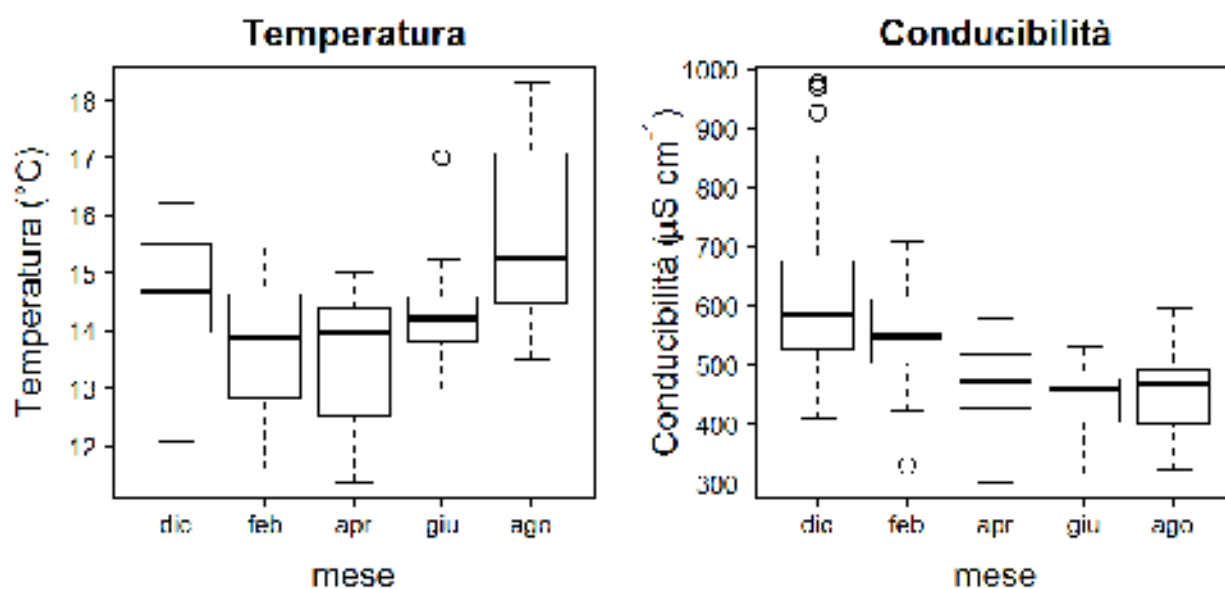


Figura 7.2. Variazioni stagionali di temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e conducibilità ($\mu\text{S cm}^{-1}$).

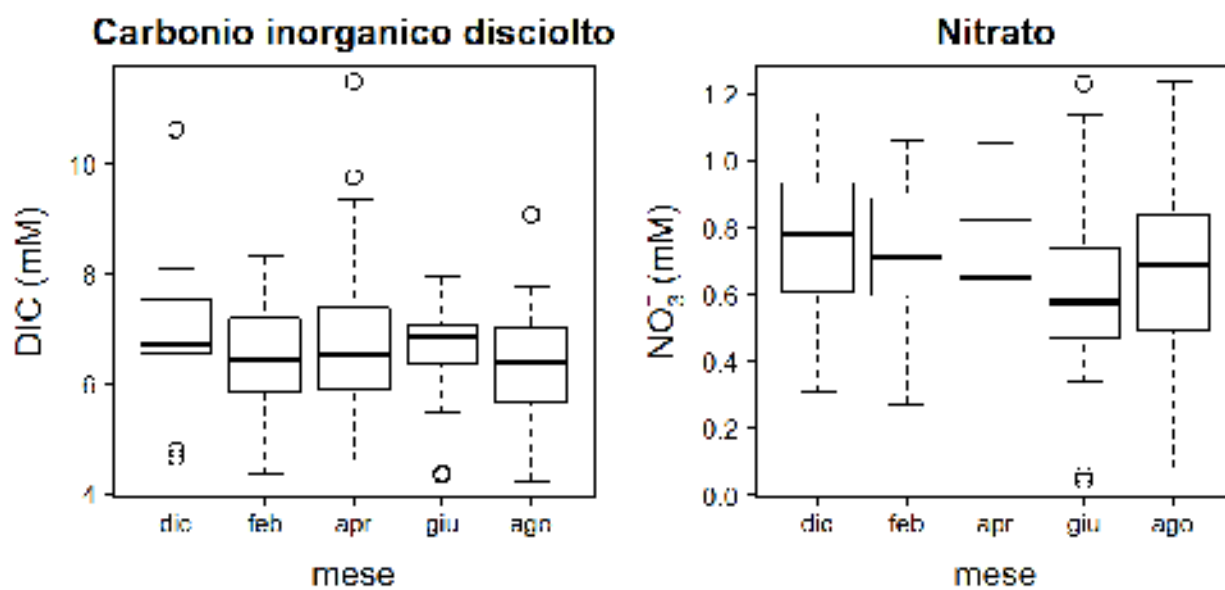


Figura 7.3. Variazioni stagionali di carbonio inorganico disciolto (mM) e nitrato (mM).

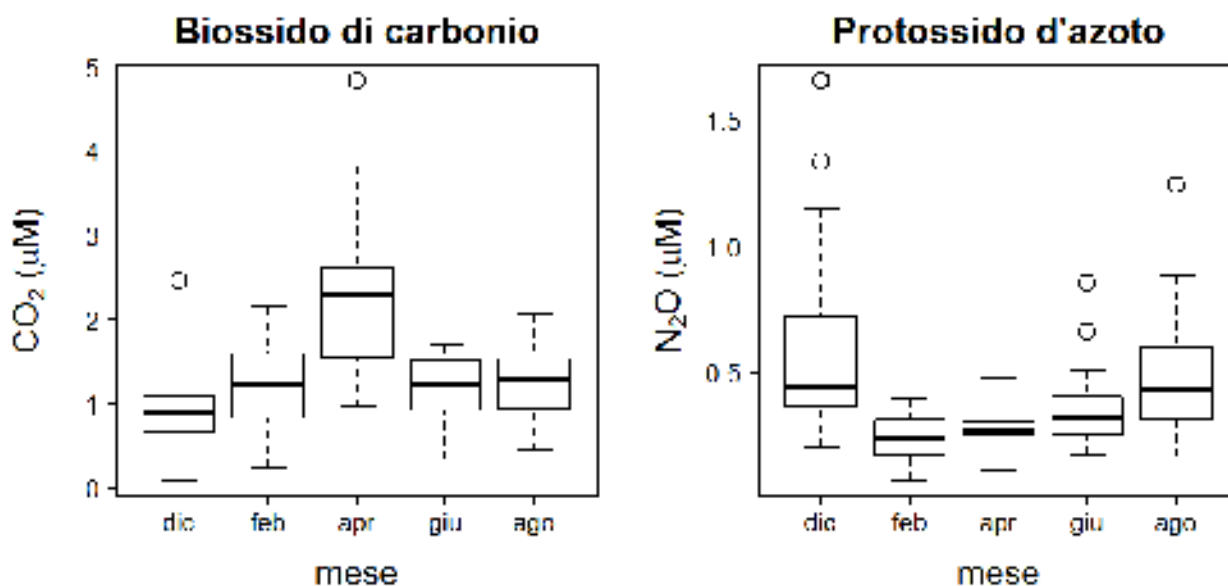


Figura 7.4. Variazioni stagionali di CO₂ (µM) e N₂O (µM).

L'analisi dei residui sembra indicare l'indipendenza temporale e spaziale delle osservazioni tra misure successive. Per questo motivo l'analisi della varianza è stata effettuata non tenendo in considerazione il termine di errore dovuto alle ripetizioni delle analisi nel tempo sullo stesso soggetto statistico. Temperatura ($p < 0.001$), pH ($p < 0.001$) e conducibilità ($p < 0.001$) sono risultati differenti tra i mesi ma non tra i due bacini. Carbonio inorganico disciolto ($p > 0.05$) NO₃⁻ ($p > 0.05$) non mostrano differenze significative tra i mesi e tra i bacini. N₂O ($p < 0.001$) e CO₂ ($p < 0.001$) mostrano differenze significative tra i mesi ma non tra i bacini.

7.5. Discussione

7.5.1. Variabilità spaziale e temporale dei fontanili

Le caratteristiche chimico fisiche dei fontanili sembrano avere un andamento stagionale, ma non omogeneo tra i diversi parametri misurati. La temperatura dell'acqua, ad esempio, tende a seguire la temperatura atmosferica e quella dell'acqua di infiltrazione. Le concentrazioni dello ione nitrato e del carbonio inorganico disciolto non mostrano, invece, forti andamenti stagionali. La situazione idrologica dell'area di studio si presenta molto complessa e aggiunge variabilità alla situazione naturale. Come accennato in precedenza, l'irrigazione è parte integrante dell'agro-ecosistema. Il comprensorio di bonifica della Media Pianura Bergamasca può essere preso come esempio del sistema irriguo che vige nell'area di studio. Tale comprensorio ha una superficie amministrativa di circa 79500 ha, di cui 23000 ha sono irrigati; circa l'88 % del totale della superficie irrigata è

irrigato con la tecnica tradizionale dello scorrimento (INEA, 2009). Annualmente, in questo comprensorio sono mobilitati circa 600 milioni di m³ di acqua, in un periodo di 3-4 mesi. Questi volumi d'acqua condizionano l'idrogeologia del sistema, provocando un innalzamento della superficie piezometrica rispetto agli altri periodi dell'anno. Analizzando le serie storiche della rete di monitoraggio ARPA, i pozzi dell'area di studio presentano infatti altezze piezometriche maggiori nei mesi di Luglio e Agosto (dati non mostrati). Tale situazione sembra influire sulla conducibilità, determinando una diminuzione dei valori nei mesi estivi che, nel clima continentale tipico della pianura padana, sono generalmente quelli meno piovosi. In generale si assiste, quindi, ad una diluizione delle acque. Nonostante questo, l'entità delle variazioni del nitrato è insignificante, risultando probabilmente in carichi di nitrato verso la superficie costanti durante l'anno (anche se l'assenza delle misure di portata non permette un calcolo preciso). I fontanili, di conseguenza, risultano delle sorgenti costanti di nitrato nel medio termine.

La concentrazione di gas ha un forte andamento stagionale, con un picco di CO₂ in Aprile e di N₂O in agosto. La concentrazione di CO₂ è influenzata da molti fattori sia naturali che antropici e, di conseguenza, dovrebbe possedere delle variazioni spaziali e temporali diverse da quelle dell'N₂O. Rispetto al lavoro presentato nel capitolo 5 non ci sono forti evidenze di una correlazione tra NO₃⁻, CO₂ e N₂O. La mancanza di correlazione, però, potrebbe essere spiegata da alcuni elementi che non stati presi in considerazione, in particolar modo la complessa idrologia del sistema. Inoltre, essendo i fontanili nell'area di studio sottoposti a pressioni da attività agro-zootecniche molto simili, è possibile che la variabilità intrinseca dei dati mascheri eventuali trend nei processi microbici. La produzione di N₂O da parte di diversi processi microbici non aiuta nell'interpretazione, sarebbe infatti interessante utilizzare metodi di stima della denitrificazione (come il metodo N₂:Ar) che potrebbero indicare la prevalenza di uno o dell'altro processo.

8 Conclusioni generali

In questo lavoro di tesi le caratteristiche chimico-fisiche dei fontanili sono state utilizzate per quantificare il riciclo di azoto nitrico verso il reticolo idrografico secondario e per inferire i processi che avvengono nella porzione superficiale della falda freatica. Da queste analisi è stato possibile valutare gli effetti di un uso non sostenibile del territorio, ampiamente discusso e documentato nei capitoli precedenti. Dai risultati ottenuti è possibile confermare l'importanza dell'acquifero superficiale come sink di azoto reattivo nel medio periodo, in particolar modo di azoto nitrico e protossido di azoto. La quantità di azoto mancante nei bilanci di massa potrebbe essere spiegata dall'accumulo di nitrato e prodotti del suo metabolismo nelle acque di falda. Gli effetti di politiche mirate alla riduzione dei carichi azotati nell'agro-ecosistema potrebbero risultare inefficaci nel breve termine, in quanto su scala almeno decennale le acque di falda sono in grado di riversare nei reticoli idrografici principale e secondario tonnellate di azoto nitrico. Analizzando i dati ottenuti nelle diverse campagne di campionamento è emersa inoltre la difficoltà di interpretazione dei pattern spaziali e temporali delle caratteristiche chimico-fisiche delle acque dei fontanili e, a scala più ampia, delle acque sotterranee. Il tentativo di utilizzare strumenti analitici adeguati per mettere in evidenza eventuali trend non ha dato risultati congrui e definitivi, ma ha fornito lo spunto per riflessioni di carattere generale sui fattori che regolano il trasporto e la modificazione di micro e macro inquinanti nelle falde acquifere. I numerosi ambiti scientifici implicati, solo marginalmente toccati in questo lavoro di tesi, determinano la necessità di un approccio multidisciplinare per risolvere un problema complesso.

Questa presa di coscienza porta a chiedersi quale sia il ruolo dell'ecologia in tutto ciò. Gli studi ecologici hanno spesso il gap culturale di non considerare in modo integrato gli ecosistemi e, frequentemente, di trascurare la “casa” dentro cui è possibile la “vita”. Ne è la prova tangibile il fiorire di nuove riviste che, già dal titolo, uniscono una o più scienze che, insieme, consentono una migliore interpretazione di fenomeni complessi (ad esempio, Biogeosciences, Ecohydrology, Theoretical Ecology ecc.). L'interazione tra più discipline, quindi, determina l'insorgere di vere e proprie “proprietà emergenti” nell'interpretazione di problemi ecologici. Conoscere a fondo la variabilità spaziale e temporale dell'ambiente fisico e l'interazione reciproca con gli esseri viventi rappresenta forse la sfida più importante per i decenni a venire, sia per l'ecologia come scienza che come genere umano per ottenere uno sfruttamento sostenibile delle risorse naturali.

9 Side project: influenza delle caratteristiche idro-morfologiche sulle comunità di macroinvertebrati bentonici del fiume Oglio sublacuale

9.1. Introduzione

I fiumi e i torrenti sono tra gli ecosistemi più vulnerabili e, allo stesso tempo, più sfruttati sul nostro pianeta (Allan and Castrillo, 2007). I sistemi fluviali possiedono caratteristiche uniche che li ha portati ad essere ampiamente sfruttati dall'uomo per ottenere benefici di diverso tipo, in particolare nei campi dell'energia e del trasporto. Al fine di ottenere tali benefici l'uomo ha modificato la morfologia e l'idrologia di questi sistemi non tenendo in considerazione le funzioni ecologiche ad essi associate. Interruzioni trasversali del flusso, come briglie e dighe, sono tra le cause principali della modificazione delle caratteristiche idrauliche dei fiumi. Ad esempio, la costruzione di dighe è aumentata esponenzialmente nelle ultime decadi, raggiungendo il picco massimo nel trentennio che va dal 1960 al 1990 (Rosenberg et al., 2000). I primi studi ecologici si sono concentrati principalmente sui bacini di accumulo dell'acqua a monte dell'interruzione e solo recentemente l'attenzione è stata rivolta agli effetti sui sistemi lotici a valle (Gore and Petts, 1989). Le alterazioni morfologiche e idrologiche dell'alveo fluviale provocano delle modificazioni indirette di alcune caratteristiche del sistema fluviale naturale. Le modificazioni più importanti si hanno a livello di granulometria e contenuto organico del substrato (Ward and Stanford, 1983, 1987), del regime termico (Olden et al., 2010, Lessard & Hayes, 2003) e delle caratteristiche chimiche dell'acqua (Armitage, 1984). Le alterazioni idro-morfologiche influenzano anche la biodiversità delle biocenosi acquatiche e la competizione con le specie esotiche (Bunn & Arthington, 2002). Tuttavia, studi quantitativi che mettano in relazione l'alterazione del regime idrologico, l'autoecologia delle specie e le funzioni ecologiche del sistema fluviale sono tuttora mancanti. Poff e Zimmerman (2010), infatti, mettono in evidenza la necessità di approcciare questo tema con studi caratterizzati da una ben precisa ipotesi iniziale e metodologie adeguate.

I macroinvertebrati bentonici sono tra gli organismi più utilizzati per evidenziare alterazioni della qualità generale degli ecosistemi acquatici, in particolar modo di quelli di acque correnti. L'eterogeneità della composizione tassonomica, la selettività i alcuni gruppi nei confronti di specifiche alterazioni e l'abbondanza generalmente elevata li rendono, infatti, adeguati ad azioni di biomonitoraggio. A dispetto di tale importanza sono ancora pochi gli studi volti a valutare i cambiamenti delle comunità macrozoobentoniche dettati da importanti variazioni dell'idrologia del sistema fluviale. Alcuni autori riportano cambiamenti a livello delle comunità ittiche (Irz et al., 2006; Copp, 1990) in cui si ha una transizione tra comunità di pesci tipiche di ambienti lotici a

quelle tipiche di ambienti lentici (a monte della diga), ma ci sono pochi studi simili su altri taxa acquatici. Valutare gli effetti di dighe e sbarramenti sulla comunità di macroinvertebrati è necessario in quanto una variazione nella composizione tassonomica delle comunità ha conseguenze dirette sulle funzioni ecologiche (Merritt et al., 1984, Merritt & Lawson, 1992, Cuffney et al., 1990). Statzner & Higler (1986) suggeriscono che le caratteristiche fisiche del flusso (“stream hydraulics”) sono i fattori che più di altri sono in grado di modellare i pattern di zonazione degli invertebrati bentonici.

9.2. Obiettivi

Gli obiettivi di questo lavoro sono valutare gli effetti della bacinizzazione sulle comunità macrozoobentoniche presenti nel fiume Oglio, di identificare i parametri idrologici che più influenzano la struttura di comunità, di identificare uno più taxa da utilizzare come indicatori precoci degli effetti della bacinizzazione e di valutare la correlazione tra caratteristiche fisiche dell'ecosistema e tratti ecologici degli organismi.

9.3. Materiali e metodi

9.3.1. Area di studio

Il fiume Oglio sublacuale ha origine dal lago di Iseo ed una lunghezza di 154 km, misurata dalla diga di Sarnico (197 s.l.m) da cui ha origine fino alla confluenza con il fiume Po. I maggiori tributari sono il fiume Chiese e il fiume Mella, entrambi localizzati in sinistra idrografica.

Il tratto di fiume analizzato ospita sei centrali per la produzione di energia idroelettrica e numerosi canali per l'irrigazione. Il fiume Oglio sublacuale può essere definito come un tipico fiume potamale caratterizzato dalla perdita di eterogeneità ambientale dovuta alla eccessiva regolazione a scopi energetici, irrigui e di trasporto. Il bacino idrografico del fiume Oglio sublacuale presenta, inoltre, severe criticità dovute alla presenza di attività agro-zootecniche particolarmente intensive.

9.3.2. Campionamento dei macroinvertebrati e parametri idrologici

I macroinvertebrati sono stati raccolti stagionalmente a partire dall'estate 2009 fino alla primavera 2010 in 18 siti localizzati nel fiume Oglio sublacuale (Figura 9.1). Il campionamento è stato di tipo quantitativo (0.5 m^{-2}), utilizzando un retino surber per i siti guadabili e i substrati artificiali per i siti non guadabili. I siti guadabili, localizzati generalmente a valle delle dighe, sono stati campionati attraverso il metodo multi-habitat proporzionale proposto da Buffagni & Erba (2007a). Ad ogni sito

sono stati prelevati un totale di 10 repliche (area del surber pari a 0.05 m²) in proporzione alla quantità ed estensione dei microhabitat presenti in alveo.

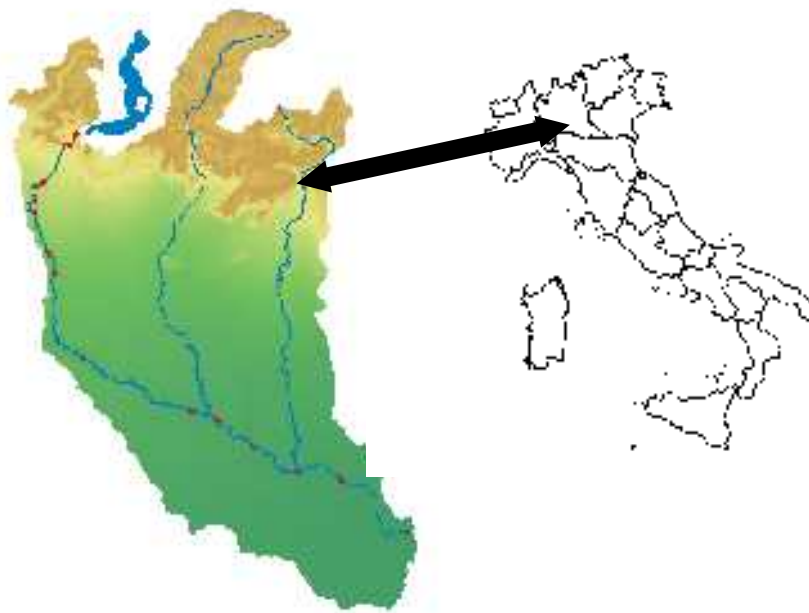


Figura 9.1. Localizzazione geografica delle stazioni di campionamento. La freccia indica l'inizio del tratto di fiume non regolato da sbarramenti.

I siti non guadabili, corrispondenti generalmente ai siti bacinizzati e a quelli strettamente potamali, sono stati campionati con substrati artificiali a causa delle difficoltà tecniche di raccolta del substrato in condizioni di elevata portata e torbidità (Cairns & Dickson, 1971, Buffagni et al., 2007b). I substrati artificiali (SA) utilizzati sono composti da 10 lamelle di 10 x 10 cm impilate tra loro. Cinque substrati artificiali di questo tipo rappresentano un'unità di campionamento e consentono la raccolta quantitativa degli organismi in un'area pari a 0.5 m². L'unità di campionamento viene calata in acqua, ancorata a substrati fissi e lasciata in posto per un mese ad una profondità di due terzi della colonna d'acqua. I substrati artificiali vengono colonizzati dagli organismi entro un mese dalla loro messa in posto (Solimini et al., 2000).

I macroinvertebrati raccolti con entrambi i metodi sono stati preservati in alcol 90° al 70 % e sono stati esaminati attraverso l'utilizzo di uno stereomicroscopio in laboratorio. Gli individui sono stati identificati a livello di genere o famiglia ad eccezione di Idracari e Hydrobioidea.

Portata, velocità della corrente e profondità sono stati forniti dal consorzio dell'Oglio e, laddove non disponibili, calcolati attraverso una regressione lineare specifica per ogni sito di campionamento tra

portata e parametro da stimare (Tabella 9.1).

Non tutte le stazioni presentano tutti i campioni stagionali, in seguito alla perdita dei substrati artificiali dovuta ad atti di vandalismo o a eventi di piena.

Tabella 9.1. Valori di portata, velocità e profondità per i gruppi di siti individuati a priori. I valori sono medie dei dati relativi al mese precedente il campionamento.

Variabili idrologiche	Siti bacinizzati	Siti a valle della diga	Siti potamali	p-value
Portata (m ³ s ⁻¹)	42.88 ± 27.72	21.23 ± 14.33	86.23 ± 54.53	***
Profondità (m)	3.10 ± 0.75	1.13 ± 0.49	1.96 ± 0.84	**
Velocità (m s ⁻¹)	0.23 ± 0.22	0.51 ± 0.32	0.95 ± 0.31	***

9.3.3. Analisi dei dati

Per mettere in evidenza l'influenza delle variabili idrologiche sulla struttura di comunità, le stazioni sono state classificate “a priori” in base alle caratteristiche ambientali del sito. Più in specifico, sono state identificate 3 tipologie di sezioni: tratti bacinizzati (a monte di dighe o briglie), tratti sottesi (subito a valle dei bacinizzati) e tratti potamali (a corrente libera dopo il tratto interessato dalle bacinizzazioni). Questa suddivisione “a priori” si è resa necessaria per via della variabilità idrologica dei sistemi fluviali che non permette semplici classificazioni basate su tecniche di ordinamento quali cluster analysis o analisi delle componenti principali.

Dal momento in cui la risoluzione tassonomica utilizzata per la classificazione non è omogenea si è ritenuto opportuno condurre le analisi statistiche considerando solamente il livello tassonomico di famiglia. Le informazioni riguardanti il genere sono state utilizzate per ottenere migliori risultati nelle analisi statistiche che riguardano i tratti ecologici degli organismi. Le analisi sono state effettuate considerando i dati di presenza/assenza, in modo tale da evitare qualsiasi influenza del tipo di campionamento sull'abbondanza degli organismi (Buffagni & Erba, 2007). I dati di presenza/assenza, infatti, non influiscono oltremodo sulla determinazione della struttura di comunità (Fenoglio et al., 2002).

L'effetto della stagione, del tipo di sezione e del tipo di campionamento sulla ricchezza in famiglie è stato testato utilizzando un'ANOVA a tre vie sui valori trasformati con $\log(x+2.5)$. Dal momento in cui il disegno sperimentale non è bilanciato, è stato scelto il modello migliore utilizzando un selezione “stepwise” (Venables and Ripley, 2002).

Le curve di accumulazione sono state calcolate al fine di determinare se il numero di famiglie ottenuto attraverso i campionamenti sia rappresentative dell'intera comunità presente nel fiume Oglio. Oltre che per l'intero fiume, le curve sono state calcolate per le tre sezioni individuate con la suddivisione a priori dei tre gruppi di stazioni (bacinizzato, a valle della bacinizzazione e potamale). Dal momento in cui la ricchezza in taxa è la variabile principale che descrive la diversità delle biocenosi, le curve di accumulazione sono uno strumento per standardizzare le stime di ricchezza ottenute nei vari campioni. Questo metodo è ampiamente utilizzato per valutare la qualità dei database (Soberón and Llorente 1993) e rappresenta il valore cumulato del numero di taxa trovato all'interno di un'area geografica in funzione dello sforzo di campionamento (Colwell and Coddington, 1994). La pendenza della curva diminuisce con l'aumentare dello sforzo di campionamento e raggiunge un valore ipotetico di 0 quando tutti i taxa presenti in un'area geografica sono stati campionati. Sono state testate diverse curve proposte in letteratura (esponenziale negativa, Clench, Weibull, Morgan–Mercer–Flodin) al fine di trovare quella che si adattasse meglio alla curva sperimentale. La bontà dell'adattamento è stata valutata calcolando l'Akaike Information Criteria (AIC). La funzione che meglio si adatta alle curve sperimentali calcolate per il fiume Oglio è quella di Weibull. In generale, la funzione di Weibull è un buon compromesso tra il numero di parametri da calcolare e il risultato che si ottiene (Jimenez-Valverde et al., 2006; Tjørve 2003). La ricchezza in famiglie attesa è data dal valore asintotico della curva adattata alla curva sperimentale. Il rapporto tra ricchezza osservata e ricchezza attesa è stato utilizzato come misura della completezza dell'inventario (per i tre segmenti individuati a priori e per l'intero fiume).

Il metodo di ordinamento nMDS (nonmetric multidimensional scaling) è stata utilizzato al fine di identificare eventuali relazioni tra le comunità di macroinvertebrati bentonici rinvenute nei diversi siti campionati in tutte le date di campionamento. La misura di distanza utilizzata è stata Bray-Curtis, comunemente utilizzata nelle applicazioni ecologiche, e il valore di stress è stato utilizzato come misura della bontà dell'adattamento, con un valore soglia del 0.2 al di sopra del quale l'ordinamento non è ritenuto affidabile. Vettori e superfici dei parametri idrologici (velocità e profondità dell'acqua, portata) sono stati adattati all'output dell'nMDS, in modo da identificare quali fattori ambientali influenzino maggiormente la struttura delle comunità macrozoobentoniche. Prima dell'analisi multivariata le variabili idrologiche sono state trasformate con il logaritmo in base e in modo da migliorare la relazione lineare tra le variabili e per ridurre l'asimmetria della distribuzione. L'analisi IndVal (Indicator Value) è stata eseguita al fine di individuare la/le famiglie indicatrici per ogni sezione individuata a priori (Dufrene & Legendre, 1997). Questa analisi fornisce un valore indicatore (IV) per ogni taxon sull'affinità di ogni singolo taxon per un gruppo d'appartenenza scelto

a priori, basandosi sulla differenza nelle frequenze di ritrovamento del singolo taxon in ogni gruppo. Dal momento il numero di campioni per ogni gruppo identificato a priori è diverso è stato utilizzato l'algoritmo per campioni non bilanciati (De Cáceres and Legendre, 2009).

Il calcolo avviene determinando le quantità A (la frequenza relativa delle specie nel gruppo target diviso per la somma delle frequenze relative in tutti i gruppi) e B (frequenza relativa delle abbondanze). La significatività del valore indicatore con il test di Monte-Carlo (999 volte), per il quale è stato settato un valore di alpha pari a 0.05.

Il “4th Corner method” (Legendre et al., 1997) è stato utilizzato per valutare le differenze tra le caratteristiche ecologiche delle comunità macrozoobentoniche nei diversi tratti e nelle diverse condizioni ecologiche. La matrice dei tratti ecologici è stata costruita utilizzando i dati proposti da Usseglio-Polatera et al. (2000) e Tachet et al. (2002). In totale sono state considerate 10 caratteristiche ecologiche con un totale di 50 sottogruppi. L'obiettivo di questo metodo è quello di mettere in relazione le caratteristiche ecologiche delle specie con le caratteristiche fisiche dell'habitat in cui vivono. Il calcolo prevede l'utilizzo delle matrici dei tratti ecologici, di presenza/assenza delle famiglie per ogni stazione e della matrice dei parametri ambientale. Tra i 5 modelli proposti da Dray e Legendre (2008) si è ricorso al modello 2: “controllo ambientale sull'insieme di specie”. Dal database dei tratti ecologici (Usseglio-Polatera et al., 2000; Tachet et al. (2002) sono state estratte solamente le famiglie presenti in Italia, selezionate consultando la checklist della fauna italiana e il [database](#) dei taxa e dell'autoecologia degli organismi di acqua dolce (Schmidt-Kloiber & Hering, 2011). Per le famiglie per cui sono presenti dati a livello di genere sono stati considerati solo i generi ritrovati nel fiume Oglio nella costruzione del database dei tratti ecologic per il fiume Oglio. L'ultimo passaggio necessario per la creazione di un corretto database delle caratteristiche ecologiche è stato quello di calcolare le frequenze relative di ogni sottogruppo (ad esempio acque dolci e salmastre) appartenente a ogni categoria (ad esempio preferenza per condizioni saline). La somma delle frequenze di ogni sottogruppo appartenente a una categoria è pari a 1.

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite attraverso il software R (R-Development core-team, 2010) e i pacchetti [vegan](#) (Oksanen et al., 2011), [ade4](#) (Chessel et al., 2004) e [indicspecies](#) (De Cáceres and Legendre, 2009).

9.4. Risultati

9.4.1. Fattori che influenzano la ricchezza in specie

L'ANOVA a tre vie a messo in evidenza come i fattori stagione ($p < 0.05$), tipo di sezione ($p < 0.01$) e

l'interazione Stagione:Sezione ($p < 0.05$) siano statisticamente significative e regolino la ricchezza in famiglie. Il fattore tecnica di campionamento, invece, non è risultato significativo. Possiamo perciò ritenere che comparare i dati ottenuti con le diverse tecniche di campionamento, a livello di famiglia e di presenza/assenza, non sia una forzatura.

9.4.2. Valutazione del database degli organismi rinvenuti

Durante lo studio sono stati analizzati più di 40000 organismi a livello tassonomico di genere o famiglia per un totale di 75 famiglie identificate. Le sezioni a valle della diga e potamali sono risultate quelle con maggior ricchezza in famiglie, rispettivamente pari a 59 e 62. La sezione con il minor numero di famiglie è risultata quella a monte della diga, con un numero di famiglie pari a 40. Le curve di accumulazione mettono in evidenza come lo sforzo di campionamento sia stato sufficiente per ottenere un dataset rappresentativo, sia a livello di singola sezione che a livello dell'intero fiume. La percentuale delle famiglie rinvenute rispetto a quelle attese è maggiore di 75 % nelle 3 sezioni (Figura 9.2, Tabella 9.2), mentre per il fiume Oglio si attesta ad un valore pari al 94.9 % (75 famiglie rinvenute su 79 attese). La pendenza della curva di accumulazione è maggiore per i siti a valle della diga rispetto alle altre sezioni.

Tabella 9.2. Numero di famiglie attese (F_{att}), osservate (F_{oss}) e grado di completezza dell'inventario nelle diverse sezioni identificate a priori e nel fiume Oglio. Il numero di famiglie atteso è stato calcolato attraverso la funzione di Weibull.

	F_{att}	F_{oss}	% Compl
Sezioni bacinizzate	48	40	83.3
Sezioni sottese	64	62	96.8
Sezioni potamali	77	59	76.6
Fiume Oglio (totale)	79	75	94.9

9.4.3. Importanza delle caratteristiche idromorfologiche nella strutturazione delle comunità macrozoobentoniche

L'ordinamento a 3 dimensioni effettuato con la nMDS mette in evidenza una suddivisione in 3 gruppi, corrispondenti a quelli individuati a priori (Figura 9.3). Il valore di stress è risultato pari a 0.16. Le correlazioni positive e statisticamente significative tra i valori dell'nMDS e le variabili idrologiche suggeriscono una forte importanza dell'idrologia nello strutturare le comunità

macrozoobentoniche. Più in dettaglio (Figura 9.3) la velocità elevata è caratteristica delle stazioni a valle delle dighe e di quelle potamali, mentre la profondità è caratteristica di quelle a monte della bacinizzazione e di quelle potamali. Le sezioni potamali sono risultate essere caratterizzate anche da elevate portate. Il fitting lineare è risultato statisticamente significativo ($p < 0.001$) per i 3 parametri idrologici considerati.

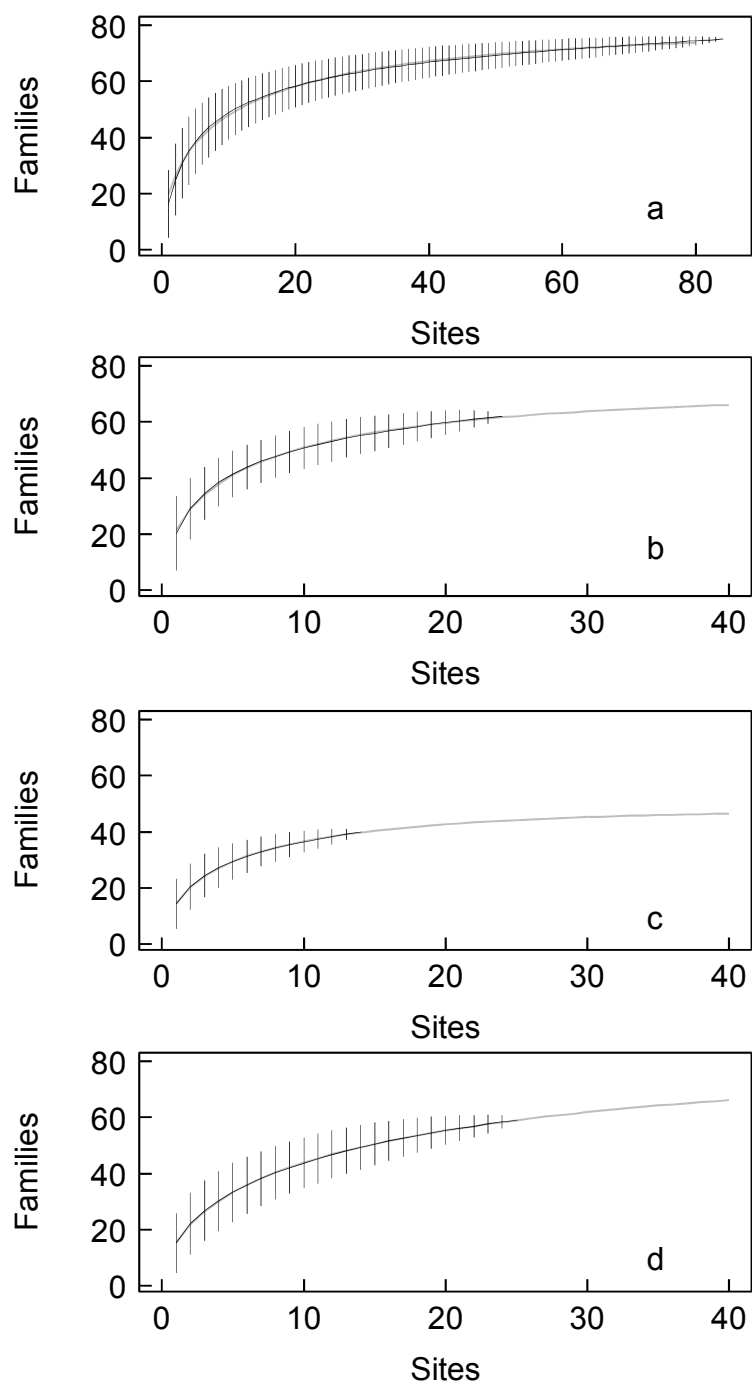


Figura 9.2. Curve di accumulazione a) del fiume oglio sublacuale , b) sezioni sottese, c) sezioni bacinizzate e d) sezioni potamali. La linea grigia rappresenta la funzione di Weibull adattata ai dati sperimentali.

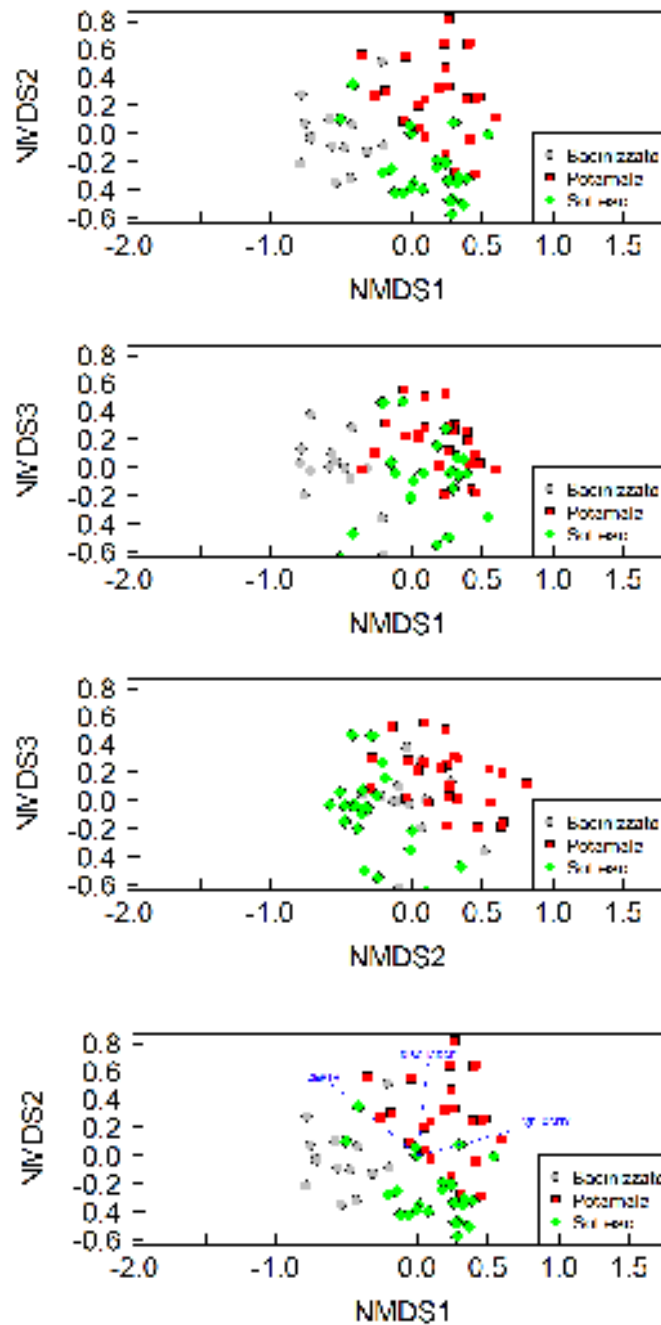


Figura 9.3. Grafici del non-metric multidimensional scaling effettuato sui dati di presenza-assenza. Le prime 3 figure si riferiscono alle 3 dimensioni considerate, che consentono di ridurre lo stress dell'adattamento a 0.16. Nell'ultima figura sono stati adattati i dati diidrologici trasformati logaritmicamente.

9.4.4. Famiglie indicatrici e analisi sulle caratteristiche ecologiche

L'analisi IndVal ha individuato diversi taxa indicatori per le 3 diverse sezioni (Tabella 9.3). Sette famiglie sono risultate indicatrici ($p < 0.05$) per le stazioni bacinizzate e tra queste Ecnomidae (82.2),

Coenagrionidae (70.6) e Lymnaeidae (65.5) presentano i valori di significatività più alti ($p < 0.001$). Le stazioni a valle della diga presentano 7 famiglie indicatrici, tra cui Psychomyidae con il valore indicatore più alto (82.9; $p < 0.001$). I tratti potamali presentano 4 famiglie indicatrici, tra cui Heptageniidae con il valore indicatore maggiore (74.1; $p < 0.001$.)

Le famiglie indicatrici presentano delle caratteristiche biologiche ed ecologiche selettive che ne determinano la presenza in frequenze molto alte in alcune sezioni piuttosto che in altre. Per evidenziare eventuali differenze tra i caratteri ecologici a livello di comunità si è proceduto all'analisi del "4th corner method". I risultati di tale analisi mostrano dei pattern distinti tra le diverse sezioni individuate (Tabella 9.4).

Tabella 9.3. Famiglie indicatrici ottenute attraverso l'analisi IndVal nelle tre sezioni identificate a priori.

Stazioni bacinizzate		
Famiglie	I.V.	<i>p</i>-value
Ecnomidae	82.2	0.001
Coenagrionidae	70.6	0.001
Physidae	68.5	0.005
Lymnaeidae	65.5	0.001
Viviparidae	53.5	0.002
Planariidae	42.5	0.019
Acroloxidae	37.8	0.044
Stazioni sottese		
Famiglie	I.V.	<i>p</i>-value
Psychomyidae	82.9	0.001
Limonidae	68.0	0.001
Ephemerellidae	62.9	0.005
Lumbricidae	62.5	0.003
Hydroptilidae	61.5	0.001
Neritidae	61.2	0.002
Empididae	54.6	0.004
Stazioni potamali		
Famiglie	I.V.	<i>p</i>-value
Heptageniidae	74.1	0.001
Calopterygidae	63.4	0.002
Gomphidae	51.7	0.033
Platycnemididae	47.2	0.020

Tabella 9.4. Risultati dell'analisi “4th corner method” effettuata utilizzando le matrici ambientale, di presenza-assenza degli organismi e dei tratti ecologici.

Tratti ecologici	F-test	p-value		bacinizzati		sottesi		potamali	
				r-value		r-value		r-value	
<i>Distribuzione trasversale</i>									
fiume	14,873	0,001	***	-0,16	0,003	0,06	0,028	0,07	0,028
rive	18,345	0,001	***	-0,18	0,003	0,11	0,004	0,03	0,168
stagni_pozze	35,094	0,001	***	0,25	0,003	-0,10	0,02	-0,10	0,020
paludi	2,131	0,044	*	0,04	0,084	0,02	0,181	-0,06	0,024
pozze temporanee	3,361	0,005	**	0,03	0,163	0,06	0,024	-0,08	0,003
laghi	5,958	0,001	***	0,09	0,003	-0,09	0,003	0,02	0,159
acque sotterranee	3,177	0,002	**	0,04	0,036	-0,08	0,003	0,04	0,036
<i>Distribuzione longitudinale</i>									
crenon	6,807	0,001	***	-0,10	0,003	0,09	0,004	-0,01	0,324
epirithron	19,908	0,001	***	-0,19	0,003	0,11	0,004	0,04	0,143
metarithron	22,158	0,001	***	-0,19	0,003	0,03	0,19	0,12	0,003
hyporithron	8,946	0,001	***	-0,13	0,003	0,05	0,044	0,05	0,044
epipotamon	3,506	0,010	**	0,07	0,026	-0,07	0,012	0,02	0,245
metapotamon	15,256	0,001	***	0,17	0,003	-0,07	0,022	-0,06	0,029
estuari	10,139	0,001	***	0,05	0,022	0,09	0,003	-0,14	0,003
esterno al sistema fluviale	16,098	0,001	***	0,16	0,003	-0,12	0,003	-0,01	0,375
<i>Altitudine</i>									
pianura	10,113	0,001	***	0,14	0,003	-0,06	0,04	-0,05	0,040
collina	10,846	0,001	***	-0,14	0,003	0,03	0,136	0,08	0,006
montagna	5,692	0,001	***	-0,09	0,003	0,08	0,003	-0,01	0,292
<i>Substrato (preferendum)</i>									
massi	3,413	0,002	**	0,00	0,484	0,07	0,006	-0,08	0,006
ghiaia	6,560	0,001	***	-0,09	0,003	-0,01	0,345	0,09	0,004
sabbia	11,318	0,001	***	-0,13	0,003	0,00	0,503	0,11	0,004
argilla	10,729	0,001	***	-0,06	0,012	-0,09	0,003	0,14	0,003
macrofite	6,017	0,001	***	0,10	0,003	-0,02	0,265	-0,07	0,020
microfite	10,505	0,001	***	0,14	0,003	-0,05	0,044	-0,06	0,044
radici	3,742	0,001	***	-0,04	0,011	0,08	0,003	-0,05	0,010
detrito organico	0,757	0,213		0,03	0,244	-0,04	0,159	0,02	0,244
fango	2,614	0,045	*	0,03	0,133	-0,07	0,015	0,05	0,068
<i>Velocità della corrente (preferendum)</i>									
nulla	30,247	0,001	***	0,23	0,003	-0,09	0,024	-0,10	0,016
lenta	5,173	0,001	***	0,09	0,003	-0,02	0,239	-0,06	0,008
media	34,545	0,001	***	-0,24	0,003	0,06	0,084	0,14	0,003
veloce	16,884	0,001	***	-0,18	0,003	0,09	0,016	0,05	0,047
<i>Stato trofico (preferendum)</i>									
oligotrofico	10,095	0,001	***	-0,13	0,003	0,08	0,01	0,03	0,192

mesotrofico	3,165	0,006	**	0,05	0,042	-0,08	0,003	0,04	0,061
eutrofico	9,577	0,001	***	0,13	0,003	-0,04	0,059	-0,06	0,012
<i>Salinità (preferendum)</i>									
acque dolci	30,001	0,001	***	-0,21	0,003	0,01	0,431	0,17	0,003
Acque salmastre	30,001	0,001	***	0,21	0,003	-0,01	0,431	-0,17	0,003
<i>Temperatura</i>									
psicrofilo	3,561	0,001	***	-0,08	0,003	0,03	0,12	0,04	0,120
termofilo	0,225	0,628		0,01	0,590	0,01	0,59	-0,02	0,549
euritermi	1,824	0,046	*	0,06	0,009	-0,03	0,188	-0,01	0,261
<i>Saprobietà</i>									
xenosaprobico	6,735	0,001	***	-0,11	0,003	0,06	0,04	0,03	0,158
oligosaprobico	10,258	0,001	***	-0,14	0,003	0,08	0,012	0,03	0,136
b_meso	1,347	0,043	*	0,04	0,062	0,01	0,316	-0,04	0,048
a_meso	14,730	0,001	***	0,15	0,003	-0,13	0,003	0,01	0,414
polisaprobico	0,190	0,690		0,02	0,540	-0,01	0,686	-0,01	0,686
<i>pH (preferendum)</i>									
< 4	1,273	0,011	*	0,05	0,006	-0,03	0,028	-0,002	0,447
4-4.5	2,037	0,013	*	0,06	0,003	-0,02	0,175	-0,03	0,158
4.5-5	0,515	0,224		-0,03	0,201	0,03	0,201	0,00	0,420
5- 5.5	14,723	0,001	***	-0,14	0,003	-0,02	0,243	0,13	0,003
5.5-6	0,354	0,627		-0,02	0,624	0,02	0,624	0,00	0,624
> 6	2,016	0,013	*	0,05	0,021	0,01	0,369	-0,05	0,021

9.5. Discussione

I campionamenti effettuati hanno consentito di rinvenire un buon numero di famiglie, in modo tale da poter considerare l'inventario rappresentativo dell'intero numero di famiglie probabilmente presente nel fiume Oglio sublacuale. Il tipo di campionamento utilizzato, anche se statisticamente non influisce sulla ricchezza in famiglie, ha sicuramente determinato l'impossibilità di campionare alcune famiglie. In particolare bivalvi di grandi dimensioni (*Unio*, *Anodonta*), gamberi (*Austropotamobius*, *Procambarus*, *Orconectes*), alcuni eterotteri (*Gerris*, *Nepa*, ecc.), sicuramente presenti nel fiume Oglio sublacuale, non sono mai o quasi stati rinvenuti. Questa mancanza non influisce sull'analisi dei dati, in quanto l'eventuale ritrovamento di questi organismi accentuerebbe ulteriormente le differenze tra le diverse sezioni identificate.

La presenza di sbarramenti lungo l'asta del fiume Oglio sub-lacuale determina delle alterazioni nella comunità macrozoobentonica. In particolare la bacinnizzazione determina la presenza di taxa tipici di ambienti lentic, pozze e ambienti laterali. Nei tratti bacinnizzati la comunità macrozoobentonica è costituita prevalentemente da gasteropodi, generalmente associati ad acque stagnanti o debolmente correnti. L'IndVal e l'analisi dei tratti ecologici forniscono risultati simili, che dimostrano ulteriormente il passaggio verso comunità tipiche di ambienti lentic. Anche la presenza di

Ecnomidae come famiglia indicatrice è sintomatica di ambienti di tipo lacustre. Le comunità macrozoobentoniche rinvenute a valle degli sbarramenti sono di più complessa interpretazione. La moderata velocità della corrente, la profondità ridotta e il tipo di substrato (principalmente mesolithal) fanno supporre un ritorno della comunità ad ambienti di tipo ritrale. Questa ipotesi è sostenuta dal fatto che i tratti ecologici e alcune famiglie indicatrici (ad esempio Psychomyidae, Ephemeroptera e Hydroptilidae) sono tipici di ambienti di tipo ritrale. La presenza di Neritidae come famiglia indicatrice è invece segnale di ambiente di tipo iporitrato o strettamente potamale. La presenza di *Dreissena* nei tratti sottesi indica, invece, un'influenza dei tratti bacinizati sulle comunità a valle, probabilmente a seguito di un semplice effetto di drift. I tratti sottesi agli sbarramenti sono probabilmente quelli dalle condizioni idrologiche più instabili che, di conseguenza, non permettono l'instaurarsi di comunità stabili e ben definite. Il tratto definito potamale, specialmente nelle stazioni prossime alla confluenza con il fiume Po, presenta comunità dominate da famiglie tipiche di ambienti potamali. Gli efemerotteri Heptageniidae (principalmente del genere Heptagenia) sono tipici dei tratti di fiume epipotamali e, nel fiume Oglio sublacuale, quasi esclusivo delle sezioni non regolate (potamali).

In conclusione, la comunità macrozoobentonica del fiume Oglio sublacuale risulta fortemente disturbata dalla presenza di sbarramenti che influiscono sulle caratteristiche idrauliche del sistema fluviale. L'idrologia, come evidenziato dall'analisi nMDS sembra la forzante principale che regola la struttura di comunità. Tale struttura è probabilmente determinata da effetti indiretti fortemente dipendenti dall'idrologia del sistema quali tipo di substrato, vegetazione e cicli biogeochimici connessi a tali alterazioni.

Bibliografia

- Allan J.D. & Castillo M.M. (2007), *Stream Ecology: structure and function of running waters*. 2nd ed. Springer, Dordrecht, Holland.
- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation (Eds.) (1981), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Am. Publ. Healt. Ass., Washington.
- An S.M. & W.S. Gardner, *Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) as a nitrogen link, versus denitrification as a sink in a shallow estuary (Laguna Madre/Baffin Bay, Texas)*, Mar. Ecol. Prog. Ser., 237(2002), pp. 41–50.
- Anderson L.G., Hall P.O.J., Iverfeldt A., van der Loeff M.M.R., Sundby B. & S.F.G.Westerlund, *Benthic respiration measured by total carbonate production*, Limnol. Oceanogr. 31(1986), pp. 319–329.
- Aravena R., Evans M.L. & J.A. Cherry, *Stable isotopes of oxygen and nitrogen in source identification of nitrate from septic systems*, Ground Water, 31(1993), pp. 180–186.
- Arias-Estévez M., López-Periago E., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., Mejuto J.C. & L. García-Río, *The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources*, Agr. Ecosyst. Environ. 123(2008), pp. 247–260.
- Armitage P.D. (1984), *Environmental changes induced by stream regulation and their effect on lotic macroinvertebrate communities*. In *Regulated Rivers*, (Eds Lillehammer A, Saltveit SJ), Oslo University Press, Oslo, Norway.
- ARPA Lombardia (Agenzia Regionale per la Protezione dell'ambiente) (Eds.): *Rapporto Stato Ambiente Lombardia 2008–2009*, Milano, Italy, 2009.
- Asman W.A.H., *Factors influencing local dry deposition of gases with special reference to ammonia*, Atmos. Environ., 32(1998), pp. 415–421.
- Balestrini R., C. Arese., C.A. Delconte, A. Lotti & F. Salerno, *Nitrogen removal in sub surface water by narrow buffer strips in the intensive farming landscape of the Po River watershed*, Italy, Ecol. Eng., 37(2011), pp. 148–157.
- Barra Caracciolo A., Giuliano G., Grenni P., Cremisini C., R. Ciccioli & C. Ubaldi, *Effect of urea on degradation of terbuthylazine in soil*. Env. Chem. 24(2005), pp. 1035– 1040.
- Barra-Caracciolo A., Giuliano G., Di Corcia A., Crescenzi C., Silvestri, C., *Microbial degradation of terbuthylazine in surface soil and subsoil at two different temperatures*, B.Environ. Contam. and Tox. 67 (6), pp. 815-820.
- Bartoli M., Racchetti E., Delconte C.A., Sacchi E., Soana E., Laini A., Longhi D., Viaroli P., *Nitrogen balance and fate in a heavily impacted watershed (Oglio River, Northern Italy): In quest*

of the missing sources and sinks, Biogeoscience discussion, 8(2011), pp. 9201–9234.

Batjes N.H., *Total carbon and nitrogen in soils of the world*, Eur. J. Soil Sci. 47(1996), pp 151–163.

Bennett J.P. and R.E. Rathbun, *Reaeration in open channel flow*, USGS Professional Paper 737 (1972).

Betlach M.R. and J.M. Tiedje, *Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification*, Appl. Environ. Microb. 42(1981), pp.1074–1084.

Blackmer A.M. and J.M. Bremner, *Inhibitory effect of nitrate on reduction of N₂O to N₂ by soil micro-organisms*, Soil Biol. Biochem. 10(1978), pp. 187–191.

Böhlke J.K., *Groundwater recharge and agricultural contamination*, Hydrogeol. J. 10(2002), pp. 153–179.

Böhlke J.K., Verstraeten I.M. & T.K. Kraemer, *Effects of surface-water irrigation on sources, fluxes and residence times of water, nitrate, and uranium in an alluvial aquifer*, Appl. Geochem., 22(2007), pp. 152–174.

Boon P.I. & S.E. Bunn, *Variations in the stable isotope composition of aquatic plants and their implications for food web analysis*. Aquat. Bot., 48(1994), pp. 99–108.

Bottoni P., Keizer J. & E. Funari, *Leaching indices of some major triazine metabolites*, Chemosphere 32(1996), pp. 1401-1413.

Boyer E., Goodale C.L., Jaworski N.A. & R. Howarth, *Anthropogenic nitrogen sources and relationships to riverine nitrogen export in the northeastern U.S.A*, Biogeochemistry 57/58(2002): pp. 137–169.

Brouwer F., *Nitrogen balances at farm level as a tool to monitor effects of agri-environmental policy*, Nutr.Cycl.Agroecos., 52(1998), pp. 303–308

Buffagni A. & Erba S., *Macroinvertebrati acquatici e Direttiva 2000/60/EC (WFD). Parte A. Metodo di campionamento per i fiumi guadabili*, IRSA-CNR Notiziario dei Metodi Analitici, Marzo 2007 (1).

Buffagni A., Erba S., Aquilano G., Armanini D., Beccari C., Casalegno C., Cazzola M., Demartini D., Gavazzi N., Kemp J.L., Mirolo N. & Rusconi M., *Macroinvertebrati acquatici e Direttiva 2000/60/EC (WFD)*, IRSA-CNR Notiziario dei Metodi Analitici, Marzo 2007 (1).

Bunn S.E. & A.H. Arthington , *Basic principles and ecological consequences of altered flow regimes for aquatic biodiversity*, Environ. Manage., 30(2002), pp. 492-507.

Burgin A.J. & S.K. Hamilton, *NO₃⁻ Driven SO₄²⁻ Production in Freshwater Ecosystems: Implications for N and S Cycling*, Ecosystems 11(2008), pp. 908–922.

Bussink D.W. and O. Oenema, *Ammonia volatilization from dairy farming systems in temperate areas: a review*, Nutr. Cycl. Agroecosys., 51(1998), pp. 19–33.

- Cabana G. & J.B. Rasmussen, *Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes*, Proc. Natl. Acad. Sci., 93(1996) pp. 10844–10847.
- Cairns J.J.R. & K. L. Dickson, *A simple method for the biological assessment of the effects of waste discharges on aquatic bottom-dwelling organism*, J. Water Pollut. Control Fed., 43(1971), pp. 755-772.
- Canepa P., *Il bilancio delle acque sotterranee nella pianura lombarda in relazione agli effetti del cambiamento climatico*. Dottorato di ricerca in Scienze Ambientali Ciclo XXIII, Università degli Studi di Milano – Bicocca, 2011.
- Caraco N.F. & J.J. Cole, *Human impact on nitrate export: an analysis using major world rivers*, Ambio, 28(1999), pp. 167–170.
- Carcano C. & A. Piccin (Eds.), *Geology of Po Plain aquifers, Lombardy Region*, ENI – Agip division, S.E.L.C.A., Firenze, 2002.
- Cassman K.G., *Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management*, Ambio, 31(2002), pp. 132–140.
- Castaldelli G., Vincenzi F., Mantovani S., Lanzoni M., Zavatta M. & E.A. Fano, *Abbattimento dei carichi inquinanti e miglioramento della qualità delle acque superficiali delle reti di canali nella zona del Parco del Delta del Po*, Regione Emilia-Romagna, Ed. Greentime, Bologna, pp. 70, 2008.
- Castaldi S., Ermice A. & S. Strumia, *Fluxes of N₂O and CH₄ from soils of savannas and seasonally-dry ecosystems*, J. Biogeogr. 33(2006), pp. 401–415.
- Cebrián J., Williams M., McClelland J. and I. Valiela, *The dependence of heterotrophic consumption and C accumulation on autotrophic nutrient concentration in ecosystems*, Ecol. Lett. 1(1998), pp. 165–170.
- Chessel D., ade4 package. Version 1.4-17. *Analysis of Ecological Data : Exploratory and Euclidean methods in Environmental sciences*, Documentation for R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<http://www.r-project.org>), 2011.
- Christensen P.B., Nielsen L.P., Sorensen J. & N.P. Revsbech, *Denitrification in nitrate-rich streams: diurnal and seasonal variations related to benthic oxygen metabolism*, Limnol. Oceanogr., 35(1990), pp. 640–651.
- Christensen P.B., Rysgaard S., Sloth N.P., Dalsgaard T. & S. Schwaerter, *Sediment mineralization, nutrient fluxes, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in an estuarine fjord with sea cage trout farms*. Aquat. Microb. Ecol. 21(2000), pp. 73–84.
- Churchill M.A., Elmore H.L. & R.A. Buckingham, *The prediction of stream reaerations rates*, J. Sanit. Eng. Div. 88(1962), pp. 1–16.

- Cinnirella S., Buttafuoco G. & N. Pirrone, *Stochastic analysis to assess the spatial distribution of groundwater nitrate concentrations in the Po catchment (Italy)*, Environ. Pollut., 133(2005), pp. 569–580.
- Clark I. and P. Fritz, (Eds.), *Environmental Isotopes in Hydrogeology*, Lewis Publishers, Boca Raton, 328, 1997.
- Clément J.C., Holmes R.M., Peterson B.J. & G Pinay Isotopic investigation of denitrification in a riparian ecosystem in western France. *Journal of Applied Ecology* 40(2003), pp. 1035-1048.
- Clough T.J., Bertram J.E., Sherlock R.R., Leonard R.L. & B.L. Nowicki, *Comparison of measured and EF5-derived N₂O fluxes from a spring-fed river*, Glob. Change Biol. 12(2006), pp. 477–488.
- Cole C.V. , Duxbury J., Freney J., Heinemeyer O., Minami K., Mosier A., Paustian K., Rosenberg N., Sampson N., Sauerbeck D. and Q. Zhao, *Global estimates of potential mitigation of greenhouse gas emissions by agriculture*, Nutr. Cycl. Agroecosys. 49(1997), pp. 221–228.
- Colwell R.K. & JA. Coddington, *Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation*, Philos. T. Roy. Soc., 345(1994), pp. 101–118.
- Copp G.H., *Effect of regulation on 0+ fish recruitment in the Great Ouse, a lowland river*, Regul. River., 5(1990), pp. 251–263.
- Cuffney T.F., Wallace J.B. & G.J. Lugthart, *Experimental evidence quantifying the role of benthic invertebrates in organic matter dynamics of headwater streams*, Freshwater Biol., 23(1990), pp. 281-299.
- Dalsgaard T., *Benthic primary production and nutrient cycling in sediments with benthic microalgae and transient accumulation of macroalgae*, Limnol. Oceanogr., 48(2003), pp. 2138–215.
- Dalsgaard T., Nielsen L.P., Brotas V., Viaroli P., Underwood G.J.C., Nedwell D.B., Sundbäck K., Rysgaard S., Miles A., Bartoli M., Dong L., Thornton D.C.O., Ottosen L. D. M., Castaldelli G. & Risgaard-Petersen N. (Eds.), *Protocol handbook for NICE-nitrogen cycling in estuaries: a project under the EU research programme*, Marine Science and Technology (MAST III), National Environmental Research Institute, Silkeborg, 2000.
- Danovaro R., Gambi C., Manin E. & M. Fabiano, *Meiofauna response to a dynamic river plume front*, Mar. Biol., 137(2000), pp. 359–370.
- Davidson E. A., *Contribution of manure and fertilizer nitrogen to increasing atmospheric nitrous oxide since 1860*, Nat. Geosci., 2(2009), pp. 659–662.
- De Cáceres M. & P. Legendre, *Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference*, Ecology, 90(2009), pp. 3566–3574.
- De Cáceres M., *Indicspecies package. Version 1.5.2. Functions to assess the strength and*

significance of relationship of species site group associations. Documentation for R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<http://www.r-project.org>), 2011.

Delconte C.A., Sacchi E., Allais E. & E. Racchetti, *Evaluation of nitrate sources and transformation in the Oglio River watershed*, in: Proceedings International Symposium on Isotopes in Hydrology, Marine Ecosystems, and Climate Change Studies, Oceanographic Museum, Principality of Monaco, 27 March–1 April 2011, IAEA-CN-186-073, in stampa, 2011a.

Delconte C.A., Sacchi E., Racchetti E., Bartoli M. & E. Allais, *Origin and dynamics of dissolved nitrate in the lower Oglio River*, in: Proceedings of the Symposium Geoitalia 2011, VIII Italian Forum of Earth Science, Turin, Italy, 19–23 September 2011, in press, 2011b.

Dell'Anno A., Pusceddu A., Langone L. & R Danovaro, *Biochemical composition and early diagenesis of organic matter in coastal sediments of the NW Adriatic Sea influenced by riverine inputs*, Chem. Ecol., 24(2008), pp. 75–85.

Dray S. & P. Legendre, *Testing the species traits-environment relationships: the fourth-corner problem revisited*, Ecology, 89(2008), pp. 3400–3412.

Dufrêne M. & P. Legendre, *Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach*, Ecological Monographs, 67(1997), pp. 345–366.

Ehleringer J.R. & C.B. Osmond, *Stable isotopes*, In: Pearcy R.W., Ehleringer J.R., Mooney H.A. & P.W. Rundel (Eds). Plant Physiological Ecology, Chapman and Hall, New York, pp. 457, 1989.

Feuerstein T.P., Ostrom P.H. & N.E. Ostrom, *Isotopic biogeochemistry of dissolved organic nitrogen: a new technique and application*, Org. Geochem., 27(1997), pp. 363–370.

Elmore H.L. & W.F. West, *Effect of water temperature on stream reaeration*, J. Sanit. Eng. Div. Am. Soc. Civ. Eng. 87 (1961), pp. 59–71.

Eriksson P.G., *Interaction effects of flow velocity and oxygen metabolism on nitrification and denitrification in biofilms on submersed macrophytes*, Biogeochemistry, 55(2001), pp. 29–44

ERSAF Lombardia (Ente Regionale per i Servizi all'Agricoltura e alle Foreste) (Eds.): *Attuazione della Direttiva Nitrati in Lombardia*, Milano, Italia, November, 2009.

ERSAL, Fontanili attivi 1998, Direzione Generale Territorio e Urbanistica UO Infrastruttura per l'informazione territoriale UOO Sistemi informativi per la pianificazione territoriale, Regione Lombardia, disponibile presso www.cartografia.regione.lombardia.it.

Fait G., Balderacchi M., Ferrari F., Ungaro F., Capri E. & M. Trevisan, *A field study of the impact of different irrigation practices on herbicide leaching*, Eur. J. Agron. 32(2010), pp. 280–287.

Fenoglio S., Agosta P., Bo T. & Cucco M., *Field experiments on colonization and movements of stream invertebrates in an Apennine river (Visone, NW Italy)*, Hydrobiologia, 474(2002), pp. 125–

130.

Fetter C.W., 2001. *Applied Hydrogeology (4th ed.)*, Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 598p.

Forster P. and V. Ramaswamy, *Changes in atmospheric constituents and radiative forcing, in Climate Change 2007: The Physical Science Basis*, S. Solomon, ed., Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2007, pp. 131–234.

Franco P. and A. Michelato, *Northern Adriatic Sea: oceanography of the basin proper and of the western coastal zone*, in: *Science of the Total Environment supplement, Marine Coastal Eutrophication*, edited by: Vollenweider, R. A., Marchetti, R., and Viviani, R., Elsevier, Amsterdam, 35–62, 1992.

Freeze R.A. & J. A. Cherry, *Groundwater*, 604 pp., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1979.

Galloway J.N., Townsend A.R., Erismann J.W., Bekunda M., Cai Z., Freney J.R., Martinelli L.A., Seitzinger S. P. & M. A. Sutton, *Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions*, *Science*, 320(2008), pp. 889–892.

Gandolfi C., Bischetti G.B., Facchi A., Ortuani B, Bassi L., Chiaradia E.A. & Mauro M., *Ricerca sui consumi irrigui e le tecniche di irrigazione in Lombardia*, Piano della ricerca e sviluppo 2001, Scheda di progetto n° 40, Milano 2003.

Garcia-Ruiz R., Pattinson S.N. & Whitton B.A., *Denitrification in river sediments: relationship between process rate and properties of water and sediment*, *Freshwater Biol* 39(1998), pp. 467–476.

Genereux D.P. and H.F. Hemond, *Determination of gas exchange rate constants for a small stream on Walker Branch Watershed*, Tennessee, *Water Resour. Res.* 28 (1992), pp. 2365–2374.

Gleason R.A., Tangen B.A., Browne B.A. & N.H.J. Euliss, *Greenhouse gas flux from cropland and restored wetlands in the Prairie Pothole Region*, *Soil Biol. Biochem.* 41(2009), pp. 2501–2507.

Gore J.A. & G.E. Petts, *Alternative in river regulated river management*, CRC Press, pp. 3-24. Boca Raton, USA, 1989.

Guzzella L., Pozzoni F. & G. Giuliano, *Herbicide contamination of surficial groundwater in Northern Italy*, *Environ. Pollut.* 142(2006), pp. 344-353.

Hamilton S.K., Kurzman A.L., Arango C., Jin L. & P. Robertson, *Evidence for carbon sequestration by agricultural liming*, *Global Biogeochem. Cy.* 21(2007), GB2021.

Hijmans R.J. & J. van Etten, *raster Geographic analysis and modeling with raster data. R package version 1.9-5*, 2011

Hinkle S.R., Duff, J.H., Triska F.J., Laenen A., Gates E.B., Bencala K.E., Wentz D.A. & S.R.Silva, *Linking hyporheic flow and nitrogen cycling near the Willamette River – a large river in Oregon*,

- USA, *J. Hydrol.*, 244(2001), pp. 157–180.
- Hiscock K.M., Bateman A.S., Mühlherr I.H., Fukada T., Dennis P.F., *Indirect emissions of nitrous oxide from regional aquifers in the United Kingdom*, *Envir. Sci. Tech* 37 (2003), pp. 3507–3512.
- Hofstra N. & Bouwman AF, *Denitrification in agricultural soils: summarizing published data and estimating global annual rates*. *Nutr. Cycl. Agroecosys.*, 72(2005), pp. 267–278.
- Howarth R.W., Billen G., Swaney D., Townsend A.T., Jaworski N., Lajtha K., Downing J.A., Elmgren R., Caraco N., Jordan T., Berendse E., Freney J., Kudeyarov V., Murdoch P. & Z. Zhao-Liang, *Regional nitrogen budgets and riverine N & P fluxes for the drainages to the North Atlantic Ocean: Natural and human influences*, *Biogeochemistry*, 35(2002), pp. 75-139.
- Howarth R.W., Swaney D., Billen G., Garnier J., Hong B., Humborg C., Johnes P., Mörth C.M. & R. Marino, *Nitrogen fluxes from the landscape are controlled by net anthropogenic nitrogen inputs and by climate*, *Front. Ecol. Environ.*, doi:10.1890/100178, 2011.
- Huxel G.R., *On the influence of food quality in consumer-resource interactions*, *Ecol. Letter.* 2(1999), pp. 256–261.
- INEA (Istituto Nazionale di Economia Agraria), *Rapporto sullo stato dell'irrigazione in Lombardia*, 2009, Stilgrafica srl, Roma.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), *Climate change 2001: The scientific basis. contribution of working group I to the third assessment report*, Houghton, J.T., Y. Ding, D.J. Griggs, M. Noguer, P.J. van der Linden, X. Dai, K. Maskell, and C.A. Johnson (eds.), Cambridge University Press, Cambridge (2001).
- Irz P., Odion M., Argillier C. & D. Pont, *Comparison between the fish communities of lakes, reservoirs and rivers: can natural systems help define the ecological potential of reservoirs?*, *Aquat. Sci.*, 68(2006), pp. 109–116.
- Isaac W.P. and A.F. Gaudy, *Atmospheric oxygenation in a simulated stream*, *J. Sanit. Eng. Div.* 94 (1968), pp. 319–344.
- ISTAT (Istituto nazionale di statistica), *Agricoltura e produzioni animali*, disponibile presso <http://agri.istat.it/>, 2009
- ISTAT (National Institute of Statistics), *Censimento generale dell'agricoltura*, disponibile <http://censagr.istat.it/>, 2000.
- Jimenez-Valverde A., Mendoza S., Cano J. & M. Munguira, *Comparing relative model fit of several species-accumulation functions to local Papilionoidea and Hesperioidea butterfly inventories of Mediterranean habitats*, *Biodivers. Conserv.*, 1(2006), pp. 163-176.
- Johnson B.J., Richardson W.B. & T.J. Naimo, *Past, present, and future concepts in large river ecology*, *Bioscience*, 45(1995), pp. 134–141.

- Jones Jr B.J. and P.J. Mulholland, *Methane input and evasion in a hardwood forest stream: effects of subsurface flow from shallow and deep pathways*, Limnol. Oceanogr. 43(1998), pp. 1243–1250.
- Junk W.J., Bayley P.B., Sparks R.E., *The flood pulse concept in river floodplain systems*, Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 106(1989), pp. 110-127.
- Kendall C., Elliott, E.M. & Wankel S. D., *Tracing anthropogenic inputs of nitrogen to ecosystems*, in: Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science, edited by: Michener, R. and Lajtha, K., Blackwell Publishing, Oxford UK, 375–449, 2008.
- Kendall C., *Tracing nitrogen sources and cycling in catchments*, in: Isotope Tracers in Catchment Hydrology, edited by: Kendall, C. and McDonnell, J. J., Elsevier, Amsterdam, 519–576, 1998.
- Kladivko E.J., Brown L.C. & J.L. Baker, *Pesticide transport to subsurface tile drains in humid regions of North America*, Crit. Rev. Environ. Sci. Tech. 31(2001), pp. 1–62.
- Klüber H.D. & R. Conrad, *Effects of nitrate, nitrite, NO and N₂O on methanogenesis and other redox processes in anoxic rice field soil*, Microb. Ecol. 25 (1998), pp. 301–318.
- Kolpin D.W., Thurman E.M. & S.M. Linhart, *Finding Minimal Herbicide Concentrations in Ground Water? Try Looking for Their Degradates*, Sci. Total Environ. 248(2000), pp. 115-122.
- Kortenkamp A., Faust M., Scholze M. & T. Backhaus, *Low-Level Exposure to Multiple Chemicals – Reason for Human Health Concerns?*, Environ. Health. Persp. 115(2007), pp. 106-114.
- Kunkel, R. & F. Wendland, *WEKU—a GIS-supported stochastic model of groundwater residence times in upper aquifers for the supraregional groundwater management*, Environ. Geol. 30, (1997), pp. 1-9.
- Laini A., M. Bartoli, S. Castaldi, P. Viaroli, E. Capri, & M. Trevisan, *Greenhouse gases (CO₂, CH₄ and N₂O) in lowland springs within an agricultural impacted watershed*, Chem. Ecol., 27(2011), pp. 177 - 187.
- Langbein W.B. & W.H. Durum, *The aeration capacity of streams*, USGS Survey Circular 542 (1967).
- Laursen A.E. & S.P. Seitzinger, *Measurement of denitrification in rivers: an integrated, whole reach approach*, Hydrobiologia 485(2002), pp. 67–81.
- Laursen AE & S.P. Seitzinger, *Limitations to measuring riverine denitrification at the whole reach scale: effects of channel geometry, wind velocity, sampling interval, and temperature inputs of N₂-enriched groundwater*, Hydrobiologia 545(2005), pp. 225–236.
- Lee, L., *NADA: Nondetects and Data Analysis for Environmental Data. R package version 1.5–1*, 2008.
- Legendre P. & M.J. Anderson, *Distance based redundancy analysis: testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments*, Ecol. Monogr., 69(1999), pp. 1–24.

- Lessard J.L. & D.B. Hayes, *Effects of elevated water temperature on fish and macroinvertebrate communities below small dams*, River. Res. Appl., 19(2003), 721-732.
- Liu, C., Watanabe, M., and Wang, Q.: *Changes in nitrogen budgets and nitrogen use efficiency in the agroecosystems of the Changjiang River basin between 1980 and 2000*, Nutr. Cycl. Agroecosys., 80, 19–37, 2008.
- Lugato E., Zuliani M., Alberti G., Delle Vedove G., Gioli B., Miglietta F. & A. Peressotti, *Application of DNDC biogeochemistry model to estimate green house gas emissions from Italian agricultural areas at high spatial resolution*, Agr. Ecosyst. Environ. 139(2010), pp. 546–556.
- Mander U., Kuusemets V., Lohmus K. & Muring, T., *Efficiency and dimensioning of riparian buffer zones in agricultural catchments*, Ecol. Eng., 8(1997), pp. 299–306.
- Marchetti R. & N. Verna, 1992, *Quantification of the phosphorus and nitrogen loads in the minor rivers of the Emilia-Romagna coast (Italy)*, A methodological study on the use of theoretical coefficients in calculating the loads. In: Vollenweider RA, Rinaldi A, Montanari G, (eds), *Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system: results of ten-years monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea)*. Science of the Total Environment, Supplement on Marine Coastal Eutrophication: pp. 315–336, 1992.
- Marchetti R., *Problematiche ecologiche del sistema idrografico padano*, Acqua e Aria, 6-7(1993).
- Mariotti A., Landreau A. & B. Simon, *¹⁵N isotope biogeochemistry and natural denitrification process in groundwater: application to the chalk aquifer of northern France*, Geochim. Cosmochim. Acta, 52(1988), pp. 1869–1878.
- McAuliffe C., *Gas chromatographic determination of solutes by multiple phase equilibrium*, Chem. Technol. 1(1971), pp. 46–51.
- McClain M.E., Boyer E.W., Dent C.L., Gergel S.E., Grimm N.B., Groffman P.M., Hart S.C., Harvey J.W., Johnston C.A., Mayorga E., McDowell W.H. & G. Pinay, *Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems*, Ecosystems, 6(2003), pp. 301–312.
- McLaughlin A. & P. Mineau, *The impact of agricultural practices on biodiversity*, Agr. Ecosyst. Environ., 55(1995), pp. 201-212.
- Merritt R. W. & D.L. Lawson, *The role of leaf litter macroinvertebrates in stream-floodplain dynamics*, Hydrobiologia, 248(1992), pp. 65-77.
- Merritt R.W., Cummins K.W. & Burton T.M., *The role of aquatic insects in the cycling of nutrients*. In *The Ecology of Aquatic Insects* (Eds Resh VH, Rosenberg DM) pp. 134-163. Praeger Publishers, New York, USA, 1984.
- Minelli A., Ruffo S., Stoch F., Cosentino A., La Posta A., Morandini C., Muscio G., Lapini L.,

- Paradisi S., Sburlino G., Solari M., *Risorgive e fontanili. Acque sorgenti di pianura dell'Italia Settentrionale*. Ministero Dell'Ambiente, Museo Friulano di Storia Naturale, Comune di Udine, 2001.
- Mühlherr I.H. & K.M. Hiscock, *Nitrous oxide production and consumption in British limestone aquifers*, J. Hydrol. 52 (1998), pp. 126–139.
- Mulholland P.J., Helton A.M., Poole G.C., Hall R.O., Hamilton S.K., Peterson B.J., Tank J.L., Ashkenas L.R., Cooper, L.W., Dahm C.N., Dodds W.K., Findlay S.E.G., Gregory S.V., Grimm N.B., Johnson S.L., McDowell W.H., Meyer J.L., Valett H.M., Webster J.R., Arango G.P., Beaulieu J.J., Bernot M.J., Burgin, A.J., Crenshaw C.L., Johnson L.T., Niederlehner B.R., O'Brien J.M., Potter J.D., Sheibley R.W., Sobota D. J. & S. M. Thomas, *Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading*, Nature, 452(2008), pp. 202–205.
- Müller K., G.N. Magesan & N.S. Bolan, *A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil*, Agr. Ecosyst. Environ. 120(2007), pp. 93–116.
- Navarro A. & M. Carbonell, *Evaluation of groundwater contamination beneath an urban environment: the Besòs river basin (Barcelona, Spain)*, J. Environ. Manage., 85(2007), pp. 259–69.
- Navarro S., Vela N., Giménez M.J., Navarro G., *Effect of temperature on the disappearance of four triazine herbicides in environmental waters*, Chemosphere,; 57(2004), 5pp. 1–59.
- Newbold, J. D., Elwood J.W., O'Neill R.V., and W.V. Winkle, *Measuring nutrient spiralling in streams*, Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38(1981), pp. 860–863.
- Nicholls J.C., Davies C.A. & M. Trimmer, *High-resolution profiles and nitrogen isotope tracing reveal a dominant source of nitrous oxide and multiple pathways of nitrogen gas formation in the central Arabian Sea*, Limnol. Oceanogr. 52 (2007), pp. 156–168.
- Nielsen, L. P., *Denitrification in sediment determined from nitrogen isotope pairing*, FEMS (Federation of European Microbiological Societies), Microb. Ecol., 86(1992), pp. 357–362.
- Nixon S.W., *Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns*, Ophelia, 41(1995), pp. 199–219.
- Nizzoli D., Welsh D.T., Fano E.A. & P. Viaroli, *Impact of clam and mussel farming on benthic metabolism and nitrogen cycling, with emphasis on nitrate reduction pathways*, Mar. Ecol. Prog. Ser., 315(2006), pp. 151–165.
- O'Connor D.J. & W.E. Dobbins, *Mechanism of reaeration in natural streams*, Am. Trans. Civ. Eng. 123 (1958), pp. 641–684.
- Oenema O., Kros H., and W. De Vries, *Approaches and uncertainties in nutrient budgets: implications for nutrient management and environmental policies*, Eur. J. Agron., 20(2003), pp. 3–16.

- Oksanen J., *The Vegan package. Version 1.17–11. Community Ecology Package*. Documentation for R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<http://www.r-project.org>), 2011.
- Olden J.D. & R.J. Naiman Incorporating thermal regimes into environmental flows assessments: modifying dam operations to restore freshwater ecosystem integrity. *Freshwater Biology*, 55(2010), pp. 86–107.
- Otto S., Altissimo L. & G. Zanin, *Terbuthylazine contamination of the aquifer north of Vicenza (north-east Italy)*, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 14(2007), pp. 109–113.
- Owens M., Edwards R.W. & J.W. Gibbs, *Some reaeration studies in streams*, *Int. J. Air Water Pollut.* 8(1964), pp. 469–486.
- Padovani, L., Trevisan, M., 2002. I nitrati di origine agricola nelle acque sotterranee. Un indice parametrico per l'individuazione di aree vulnerabili. Pitagora Ed., Bologna, pp. 120
- Pagnotta, R. & G. Barbiero, *Stima dei carichi inquinanti nell'ambiente marino-costiero*, *Annali ISS*, 39(1), 3–10, 2003.
- Palmeri L., Bendoricchio G. & Y. Artioli, *Modelling nutrient emissions from river systems and loads to the coastal zone: Po River case study*, Italy. *Ecol. Model.*, 184(2005), pp. 37–53
- Parris K., *Agricultural nutrient balances as agri-environmental indicators: an OECD perspective*, *Environ. Pollu.*, 102(1998), pp. 219–225.
- Pebesma E.J., *Multivariable geostatistics in S: the gstat package*, *Computers & Geosciences*, 30(2004), pp. 683-691.
- Peterson B.J. & B. Fry, *Stable isotopes in ecosystem studies. Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1987), pp. 293–320.
- Pind A., Risgaard-Petersen N. & N.P. Revsbech, *Denitrification and microphytobenthic NO₃⁻ consumption in a Danish lowland stream: diurnal and seasonal variation*, *Aq. Microb. Ecol.*, 12(1997), pp. 275–284
- Poff N.L. & J.H. Zimmerman, *Ecological responses to altered flow regimes: a literature review to inform the science and management of environmental flows*, *Freshwater Biol.*, 55(2010), pp. 194–205.
- Portielje R. and L. Lijklema, *Carbon dioxide fluxes across the air–water interface and its impact on carbon availability in aquatic systems*, *Limnol. Oceanogr.* 40(1995), pp. 690–699.
- PPDB, The Pesticide Properties Database (PPDB) developed by the Agriculture & Environment Research Unit (AERU), University of Hertfordshire, funded by UK national sources and the EU-funded FOOTPRINT project (FP6-SSP-022704), 2009.
- Provini A., Crosa G. & R. Marchetti, *Nutrient export from the Po and Adige river basins over the*

- last 20 years*, In: Vollenweider R.A., Rinaldi A., Montanari G., (eds). Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system: results of ten-years monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea), Science of the Total Environment; Supplement on Marine Coastal Eutrophication, 291–314, 1992.
- Puckett L.J., *Identifying the major sources of nutrient water pollution*, *Envir. Sci. Tech.*, 29(1995), pp. 408–414.
- Puckett L.J., Tesoriero A. J. & N. M. Dubrovsky, *Nitrogen contamination of surficial aquifers – a growing legacy*, *Env. Sci. Tech.*, 45(2011), 839–844.
- Pusceddu A., Gambi C., Manini E. & R. Danovaro, *Trophic state, ecosystem efficiency and biodiversity of transitional aquatic ecosystems: analysis of environmental quality based on different benthic indicators*, *Chem. Ecol.*, 23(2009), pp. 505–515.
- Racchetti E., Bartoli M., Soana E., Bolpagni R., Laini A., Longhi D., Mancini M., Dalmiglio A., Buizza M., & P. Viaroli, *Verso la definizione del deflusso minimo vitale del fiume Oglio sublacuale*, Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università di Parma e il Consorzio dell'Oglio, Brescia, Italia, 2010.
- Racchetti E., Bartoli M., Soana E., Longhi D., Christian R. R., Pinardi M., & P. Viaroli, *Influence of hydrological connectivity of riverine wetlands on nitrogen removal via denitrification*, *Biogeochemistry*, 103(2011), pp. 335–354.
- Racchetti E., Soana E., Longhi D., Bartoli M., & P. Viaroli, *Sperimentazione per la definizione del deflusso minimo vitale del fiume Oglio*, Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università di Parma e Parco Oglio Sud, 2008.
- Ravishankara A.R., Daniel J.S. & R.W. Portmann, *Nitrous oxide (N₂O): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century*, *Science*, 326(2009), pp. 123–125.
- Regione Lombardia, *Programma di tutela e uso delle acque - Relazione di sintesi*, 2006
- Regione Lombardia, *Qualità delle acque in regione Lombardia*, Report tecnico, 2009.
- Regione Lombardia: *Programma di tutela ed uso delle acque, Classificazione dello stato quantitativo dei corpi idrici sotterranei di pianura*, 2006.
- Revesz, K., Böhlke, J.K. & T. Yoshinari, *Determination of ¹⁸O and ¹⁵N in nitrate*, *Anal. Chem.*, 69(1997), pp. 4375–4380.
- Rivett M.O., Buss S.R, Morgan P., Smith J.W.N. & C.D. Bemment, *Nitrate attenuation in groundwater: a review of biogeochemical controlling processes*, *Water Res.*, 42(2008), pp. 4215–4232.
- Ronen D., Magaritz M. & E. Almon, *Contaminated aquifers are a forgotten component of the global N₂O budget*, *Nature*, 335 (1988), pp. 57 – 59.

- Rosenberg D.M., McCully P. & C.M. Pringle, *Global-Scale Environmental Effects of Hydrological Alterations: Introduction*, *BioScience*, 50(2000), 746–751.
- Rossetti G., Pieri V. & K. Martens, *Recent ostracods (Crustacea, Ostracoda) found in lowland springs of the provinces of Piacenza and Parma (Northern Italy)*, *Hydrobiologia* 542(2005), pp. 287–296.
- Rotz C.A., *Management to reduce nitrogen losses in animal production*, *J. Anim. Sci.*, 82(2004), pp. 119–137.
- Rysgaard S., Risgaard-Petersen N., Sloth N.P., Jensen K. & L.P. Nielsen, *Oxygen regulation of nitrification and denitrification in sediments*, *Limnol. Oceanogr.* 39(1994), pp. 1643–1652.
- Sacchi E., Delconte C. A., Pennisi M. & E. Allais, *Stable isotopes of dissolved nitrate and boron as indicators of the origin and fate of nitrate contamination in groundwater: results from the Western Po plain (Northern Italy)*, in: *Proceedings International Symposium on Isotopes in Hydrology, Marine Ecosystems, and Climate Change Studies*, Oceanographic Museum, Monaco, 27 March–1 April 2011, IAEA-CN-186–070, 2011.
- Sacchi E., Pilla G., Guffanti S., Allais E. & C.A. Delconte, *Stable isotopes of dissolved nitrate as indicators of the origin and mechanisms of transport to removal from groundwater: results from the Western Po plain*, in: *Proceedings of the 16th Nitrogen Workshop*, Turin, Italy, 28 June–1 July 2009, 495–496, 2009.
- Schaller J.L., Royer T.V., David M.B. & J.L. Tank, *Denitrification associated with plants and sediments in an agricultural stream*, *J. North Am. Benth. Soc.* 23(2004), pp. 667–676.
- Schlesinger W.H., *On the fate of anthropogenic nitrogen*, *PNAS*, 106(2009), pp. 203–208.
- Schmidt-Kloiber A. & D. Hering (eds.), *www.freshwaterecology.info - the taxa and autecology database for freshwater organisms, version 5.0*, 2011.
- Schröder J.J., Aarts H.F.M., ten Berge H.F.M., van Keulen H. & J.J. Neeteson, *An evaluation of whole-farm nitrogen balances and related indices for efficient nitrogen use*, *Europ. J. Agronomy* 20(2003), pp. 33–44
- Scott J., McCarthy M., Gardner W. & R. Doyle, *Denitrification, dissimilatory nitrate reduction to ammonium, and nitrogen fixation along a nitrate concentration gradient in a created freshwater wetland*, *Biogeochemistry*, 87(2008), pp. 99–111.
- Sebilo M., Billen G., Grably M. & A. Mariotti, *Isotopic composition of nitrate-nitrogen as a marker of riparian and benthic denitrification at the scale of the whole Seine River system*, *Biogeochemistry*, 63(2003), pp. 35–5.
- Seitzinger S., Harrison J.A., Böhlke J.K., Bouwman A.F., Lowrance R., Peterson B., Tobias C. & G. Van Drecht, *Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis*, *Ecol. Appl.*, 16(2006),

pp. 2064–2090.

Semhi K., Suchet P.A., Clauer N. & J.L. Probst, *Impact of nitrogen fertilizers on the natural weathering-erosion processes and fluvial transport in the Garonne basin*, Appl. Geochem. 15(2000), pp. 865–878.

Silva S.R., Kendall C., Wilkison D.H., Ziegler A.C., Chang C.C.Y. & R.J. Avanzino, *A new method for collection of nitrate from fresh water and analysis of the nitrogen and oxygen isotope ratios*, J. Hydrol., 228(2000), pp. 22–36.

Silva S.R., Kendall C., Wilkison D.H., Ziegler A.C., Chang, C.C.Y. & R.J. Avanzino, *A new method for collection of nitrate from fresh water and the analysis of nitrogen and oxygen isotope ratios*, J. Hydrol., 228(2000), pp. 22–36.

Silvennoinen H., Liikanen A., Rintala J. & P.J. Martikainen, *Greenhouse gas fluxes from the eutrophic Temmesjoki River and its estuary in the Liminganlahti Bay (the Baltic Sea)*, Biogeochemistry 90 (2008), pp. 193–208.

Soana E., Racchetti E., Laini A., Bartoli M. & P. Viaroli, *Soil budget, net export and potential sinks of nitrogen in the lower Oglio River watershed (Northern Italy)*, CLEAN 39(2011), pp. 956-965.

Soberón J. & J. Llorente, *The use of species accumulation functions for the prediction of species richness*, Conserv. Biol. 7(1993), pp. 480–488

Solimini A.G., Gulia P., Monfrinotti M. & G. Carchini, *Performance of different biotic indices and sampling methods in assessing water quality in the lowland stretch of the Tiber River*, Hydrobiologia, 422-423(2000), pp. 197-208.

Spoelstra J., *Nitrate sources and cycling at the Turkey Lakes Watershed: A stable isotope approach*, PhD thesis, University of Waterloo, 165 pp, (2004).

Statzner B. & B. Hügler, *Stream hydraulics as major determinant of benthic invertebrate zonation patterns*, Freshwater Biol., 16(1986), pp. 127-139.

Tachet H., Richoux P., Bournaud M. & P. Usseglio-Polatera, *Invertébrés d'Eau Douce: systématique, biologie, écologie*. CNRS éditions, Paris, France, 2002.

Teissier S. & M. Torre, *Simultaneous assessment of nitrification and denitrification on freshwater epilithic biofilms by acetylene block method*, Water Res., 36(2002), pp. 3803–3811.

Tilman D., Cassman K.G., Matson P. A., Naylor R. & S. Polasky, *Agricultural sustainability and intensive production practices*, Nature, 418(2002), pp. 671–677 .

Tjørve E., *Shapes and functions of species–area curves: a review of possible models*, J. Biogeogr., 30(2003), 827–835.

Usseglio-Polatera P., Bournaud M., Richoux P. & Tachet H., *Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates : relationships and definition of groups with similar traits*,

- Freshwater Biol., 43(2000), pp. 175-205.
- Valiela I., Collins G., Kremer J., Lajtha K., Geist M., Seely B., Brawley J. & C.H. Sham, *Nitrogen loading from coastal watersheds to receiving estuaries. New method and application*, Ecol Appl., 7(1997), pp. 358–380
- Vannote R.L., Minshall G.W., Cummins K.W., Sedell J.R. & C. E. Cushing, *The River Continuum Concept*, Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37(1980), pp. 130–137.
- Venables W.N. & B.D. Ripley, *Modern Applied Statistics with S*, 4th edn. Springer, New York, 2002.
- Ventura M., Scandellari F., Ventura F., Guzzon B., Rossi Pisa P. & M. Tagliavini, *Nitrogen balance and losses through drainage waters in an agricultural watershed of the Po Valley (Italy)*, Europ. J. Agronomy, 29(2008), pp. 108–115.
- Viaroli P., Azzoni R., Bartoli M., Giordani G., Naldi M. & D. Nizzoli, *Primary productivity, biogeochemical buffers and factors controlling trophic status and ecosystem processes in mediterranean coastal lagoons: A synthesis*, Adv. Oceanogr. and Limnol., 1(2010), pp. 271–293.
- Viaroli P., Bartoli M., Giordani G., Naldi M., Orfanidis S. & J.M. Zaldivar, *Community shifts, alternative stable states, biogeochemical controls and feedbacks in eutrophic coastal lagoons: a brief overview*. Aq Conserv Freshwat Mar Ecos., 18(2008), pp. 105–117.
- Vitousek P.M., Aber J.D., Howarth R.W., Likens G.E., Matson P.A., Schindler D.W., Schlesinger W.H. & D.G. Tilman, *Alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences*, Ecol. Appl. 7(1997), pp. 737–750.
- Vollenweider R.A., Rinaldi A. & G. Montanari, *Eutrophication, structure and dynamics of marine coastal system: results of ten-year monitoring the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea)*, Sci. Total Environ., SUP (1 p. 1/2)(1992), pp. 63–106.
- von der Heide C., J. Böttcher, M. Deurer, D. Weymann, R. Well, and W.H.M. Duijnisveld, *Spatial variability of N₂O concentrations and of denitrification-related factors in the surficial groundwater of a catchment in Northern Germany*, J. Hydrol. 360(2008), pp. 230–241.
- Wall G.L., Tank J.L., Royer T.V. & Bernot M.J., *Spatial and temporal variability in sediment denitrification within an agriculturally influenced reservoir*, Biogeochemistry, 76(2005), pp. 85–111.
- Ward J.V. & Stanford J.A. The serial discontinuity concept of lotic ecosystems. In *Dynamics of Lotic Ecosystems* (Eds Fontaine TD, Bartell SM) pp. 29-42. Ann Arbor Science: Ann Arbor Michigan, USA, 1983.
- Ward J.V. & Stanford J.A., *The ecology of regulated streams: Past accomplishments and directions for future research*. In *Regulated Streams Advances in Ecology* (Eds Craig JF, Kemper JB) pp. 391-

409. Plenum Press, New York, USA, 1983.

Ward J.V., *The four-dimensional nature of lotic ecosystems*, J. N. Benthol. Soc. 8 (1989), pp. 2–8.

Ward M.H., deKok T.M., Levallois P., Brender J., Gulis G., Nolan B.T. & J. Van Derslice, *Workgroup report: drinking water nitrate and health-recent findings and research needs*, Environ. Health. Presp., 113(2005), pp. 1607–1614.

Welsh D.T., *It's a dirty job but someone has to do it: the role of marine benthic macrofauna in organic matter turnover and nutrient recycling to the water column*, Chem. Ecol. 19(2003), pp. 321–342.

Weymann D., Well R., Flessa H., von der Heide C., Deurer M., Meyer K., Konrad C. and W. Walther, *Denitrification and nitrous oxide accumulation in nitrate-contaminated aquifers estimated from dissolved nitrate, dinitrogen, argon and nitrous oxide*, Biogeosciences 5(2008), pp. 299–312.

Winter C.T., Harvey J.W., Franke O.L. & W.M. Alley, *Groundwater and surface water a single resource*, USGS Circular 1139.

Yoshida N. and S. Toyoda, *Constraining the atmospheric N₂O budget from intramolecular site preference in N₂O isotopomers*, Nature, 405(2000), pp. 330–334.

Zoppini A., Pettine M., Totti C., Puddu A., Artegiani A., and R. Pagnotta, *Nutrients, standing crop, and primary production in western coastal waters of Adriatic Sea*, Estuar. Coast. Shelf. S., 41(1995), pp. 493–513.