

Osservatori transfrontalieri sui cambiamenti globali e sul loro impatto sulla biodiversità

Studio realizzato nel corso dell'azione 3.4 del Progetto Semplice GEBIODIV (PITEM BIODIVALP) "*Gestire gli ambiti di biodiversità armonizzando i metodi di gestione degli spazi protetti alpini*",
nell'ambito del programma di cooperazione transfrontaliera franco-italiana
INTERREG-ALCOTRA 2014-2020

Questo progetto usufruisce di finanziamenti europei nell'ambito di ALCOTRA 2014-2020.

ALLEGATI

Protocolli dei LAGHI DI MONTAGNA

Sommaire

Protocolli realizzati sui laghi Gran Paradiso e Mont Avic3

1. Frequenza di campionamento..... 3
2. Proprietà abiotiche..... 3
3. Indicatori biologici 4
4. References..... 6

Protocolli realizzati sui laghi Alpi Cozie.....8

1. Topographic and bathymetric maps using drones..... 8
2. Selection of sampling sites 9
3. Physicochemical parameters of water, total organic carbon and total nitrogen analysis..... 9
4. Macroinvertebrate sampling..... 10
5. Fish sampling and analyses 11

Protocolli realizzati sui laghi francesi – *Lacs sentinelles*14

1. Trasparenza dell'acqua..... 14
2. Phytoplankton 15
3. Zooplankton 17
4. Clorofilla 18
5. Chimici 19
6. Monitoraggio termico del lago..... 23
7. Monitoraggio termico ed ossigenazione 26

Protocolli realizzati sui laghi Gran Paradiso e Mont Avic

Redazione : Rocco Tiberti

Metodi di campionamento e analisi per laghi alpini italiani

Area di studio

Parco Nazionale Gran Paradiso, Parco Naturale Mont Avic e aree circostanti.

1. FREQUENZA DI CAMPIONAMENTO

La campagna di campionamento dei laghi in Italia, prevede due tipologie di indagine:

- Monitoraggi a lungo termine. Dal 2006 ad oggi, durante la stagione libera dal ghiaccio, presso 12 laghi del Parco Nazionale Gran Paradiso. Questi laghi vengono campionati ogni anno. La frequenza di campionamento cambia -in base alla disponibilità di risorse e agli obiettivi specifici del monitoraggio- da 1 a 8 campionamenti all'anno. Di solito sono disponibili due campioni per anno, il primo raccolto poco dopo la scomparsa della copertura di ghiaccio e il secondo in tarda estate (agosto-settembre) per osservare e ottenere informazioni sulla dinamica stagionale delle proprietà fisico-chimiche e biologiche dei laghi. Nel caso in cui, per ragioni di disponibilità di risorse, sia disponibile un solo campione anno, questo viene raccolto in tarda estate (agosto-settembre).
- Monitoraggi estensivi. Un maggiore numero di laghi (ca. 50) è stato campionato dal 2006 ad oggi con frequenza irregolare o una sola volta per ottenere informazioni ecologiche a una scala spaziale rilevante.

La frequenza di campionamento può inoltre variare in base ai compartimenti ecologici considerati. Ad esempio le variabili morfometriche vengono misurate una sola volta e considerate costanti nel tempo; i campionamenti delle comunità ittiche possono essere effettuati a minore frequenza, in quanto la variabilità interannuale e stagionale delle popolazioni ittiche è probabilmente ridotta.

2. PROPRIETÀ ABIOTICHE

Morfometria dei laghi. Un rilievo a bassa risoluzione della batimetria dei laghi è disponibile per la maggior parte dei laghi campionati. La batimetria viene rilevata in un'unica occasione (normalmente durante il primo campionamento). Il rilievo batimetrico viene effettuato quando il livello idrometrico è massimo. Il rilievo batimetrico viene fatto misurando la profondità con una corda graduata in diversi punti della superficie del lago. Le coordinate dei punti vengono registrate con un apparato GPS. I punti di misura coprono l'intera superficie del lago e sono distribuiti in modo omogeneo. Una maggior densità di punti è necessaria per le zone del lago in cui la conca sommersa ha una morfologia accidentata. Di solito alcune decine-centinaia di punti sono sufficienti a descrivere la conca sommersa del lago. Il rilievo batimetrico permette il calcolo di profondità massima, media e relativa e del volume del lago. La superficie e perimetro del lago vengono misurate tramite analisi di immagini satellitari. Per ulteriori dettagli vedi Tiberti et al. (2019a)

Temperatura: La temperatura superficiale dell'acqua è stata misurata immergendo un termometro direttamente nel lago in corrispondenza del punto di massima profondità. Per alcuni laghi un profilo verticale di temperatura è stato misurato utilizzando una sonda termica. Per alcuni laghi la dinamica

stagionale di temperatura è stata descritta utilizzando sensori termici immersi a una profondità di 3 m e con un intervallo di misura di 12 h (due misure al giorno: alle 07:00 e alle 19:00).

Trasparenza dell'acqua: in corrispondenza del punto di massima profondità del lago, sono stati realizzati profili verticali di intensità luminosa misurando l'intensità della Radiazione Fotosinteticamente Attiva (Photosynthetically Active Radiation; PAR, 400–700 nm) da 1 cm sotto la superficie del lago al fondo del lago a intervalli di 1 m o 0.5 m (i.e., 0.5 m nei laghi profondi meno di 4 m) usando un fotometro LI-COR LI-250 dotato di un sensore impermeabile. Le intensità luminose alle diverse profondità sono state trasformate in percentuali assumendo che la radiazione superficiale corrisponda al 100%. Il coefficiente di attenuazione verticale (k) è stato stimato adattando una curva esponenziale ai dati di radiazione percentuale. I profili luminosi sono stati misurati in condizioni di illuminazione costanti (in piena luce solare o in condizione di nuvolosità costante, evitando cambiamenti di luminosità repentini dovuti, ad esempio, al passaggio di nuvole). Per ulteriori dettagli vedi Tiberti et al. (2014)

Idrochimica: un campione da 1 L di acqua è stato campionato in corrispondenza del punto di massima profondità del lago utilizzando una bottiglia di tipo Van Dorn orizzontale e mescolando uguali aliquote di acqua prelevate a diverse profondità (i.e., campione integrato). Per i laghi poco profondi (<10 m) sono state raccolte 3 aliquote di acqua in prossimità del fondo, in mezzo alla colonna d'acqua e in superficie; per i laghi più profondi, sono state raccolte 5 aliquote di acqua, in corrispondenza del fondo, in superficie e a 3 profondità intermedie. I campioni sono stati conservati al buio a 4 °C e analizzati entro 7 giorni secondo le procedure standard riportate da REF. Le analisi chimiche includono misure di fosforo Totale (TP, tramite spettrofotometria UV-VIS; Valderrama, 1981); azoto totale (TN) e carbonio organico totale (TOC) (combustion catalitica; APHA, 2005); pH, conducibilità elettrica, alcalinità totale (acidimetric titration, Gran's method). Per ulteriori dettagli vedi Tiberti et al. (2019a)

3. INDICATORI BIOLOGICI

Clorofilla-a: la concentrazione di Clorofilla-a è stata misurata utilizzando campioni da 1 o 2 L raccolti utilizzando lo stesso metodo di campionamento e conservazione del campione utilizzato per le proprietà chimiche. La concentrazione di clorofilla è stata misurata tramite spettrofluorimetro FluoroProbe™,bbe-Moldaenke. Per ulteriori dettagli vedi Tiberti et al. (2014)

Zooplankton: Lo zooplankton pelagico è stato campionato utilizzando una rete conica di tipo Apstein (diametro 40 cm, larghezza di maglia 50 μ m). Il campione è stato prelevato in corrispondenza del punto di massima profondità del lago trascinando il retino in verticale e lentamente (ca. 0.2 m s⁻¹), dal fondo alla superficie del lago. Il campione è stato fissato all'etanolo 70% direttamente sul campo. Il biovolume totale del campione è stato misurato tramite coni di decantazione graduati di tipo Imhoff. I campioni sono stati analizzati seguendo Edmondson and Winberg (1971): i campioni sono stati concentrati in un volume noto di acqua e 3–5 subcampioni (volume da 0.05 a 1 mL) sono stati rimossi con una pipette automatica con bocca larga; gli organismi zooplanctonici sono stati identificati e contati usando una camera da conteggio chiusa e un microscopio binoculare (Olympus CH-BI45-3) a 40-400 $\times$ al fine di ottenere dati di densità. Quando alcuni taxa erano molto più abbondanti di altri (di solito alcune specie comuni di rotifero), i taxa ad alta e bassa densità sono stati contati a diluizioni diverse. I crostacei e i rotiferi planctonici sono stati identificati a livello di specie seguendo Alonso (1996), Stella (1984), Krajčůek et al. (2016), e Braioni e Gelmini (1983). Livelli tassonomici meno precisi sono stati utilizzati per indicare un gruppo (gr.) di specie o interi generi, quando gli organismi presenti presentano

tassonomia incerta (e.g. *Keratella* gr. *quadrata*) o quando la determinazione specifica era impossibile (es., a causa delle deformazioni corporee indotte dal liquido di conservazione, e.g., *Synchaeta* sp.).

La distribuzione dimensionale delle comunità zooplanctonica e di ogni taxon identificato è stata descritta misurando gli specimens con una lente micrometrica montata nell'oculare del microscopio. La distribuzione dimensionale della comunità zooplanctonica è stata di solito descritta misurando i primi 300 specimens trovati nel campione (il numero di specimens misurati può tuttavia cambiare in base alla composizione e densità della comunità, e essere < di 300 quando la comunità ha densità molto bassa o arrivare a 5000 quando la comunità è dominata da piccoli rotiferi molto abbondanti). Misure aggiuntive sono state raccolte per descrivere la distribuzione dimensionale di ciascun taxon zooplanctonico. Il numero di individui misurati per taxon varia a seconda della loro abbondanza nel campione.

Le misure di lunghezza sono state convertite in biomassa secca sulla base di relazioni lunghezza-massa (Tabella 1). Tuttavia, per alcuni rotiferi con limitata variabilità di taglia (*Keratella cochlearis* Gosso, 1851, *Polyarthra* gr. *vulgaris-dolichoptera*, *Notholca squamula* Müller, 1786, *Notholca labis* Gosse, 1887, *Lecane* gr. *lunaris*, *Lecane* gr. *luna*, *Ascomorpha* sp., *Cephalobdella* sp.) sono stati utilizzati delle masse individuali standard proposte da Ejsmont-Karabin (1998); queste sono biomasse umide e sono state convertite in biomassa secca utilizzando un fattore di conversione uguale a 0.1 (Pace and Orcutt, 1981).

The biomassa media di ogni taxon zooplanctonico è stata moltiplicata per la sua densità per ottenere misure di biomassa per metro cubo.

Tabella 1 Relazioni lunghezza-biomassa (W in μg) e biomasse individuali standard usate per calcolare le biomasse zooplanctoniche. L_1 : lunghezza individuale in μm ; L_2 : lunghezza individuale in mm; References: [1]: Dumont et al. (1975); [2]: Ejsmont-Karabin (1998); [3]: Ruttner-Kolisko, (1977).

Taxon	Equation	SIW	Reference taxon from literature	Ref.
Crustacea				
<i>Acropaerus harpae</i>	$W = 9.05 \times 10^{-3} \times (L_1)^{0.85}$		<i>Acropaerus harpae</i>	[1]
<i>Alona</i> sp.	$W = 15.92 \times (L_2)^{3.84}$		<i>Alona</i> sp.	[1]
<i>Arctodiaptomus alpinus</i>	$W = 7.70 \times (L_2)^{2.33}$		<i>Arctodiaptomus</i> sp.	[1]
<i>Chydorus</i> sp.	$W = 89.43 \times (L_2)^{4.08}$		<i>Chydorus sphaericus</i>	[1]
<i>Cyclops abyssorum</i> and <i>Eucyclops serrulatus</i>	$W = 2.20 \times 10^{-8} \times (L_1)^{2.82}$		Cyclopoids pooled equation	[1]
<i>Daphnia longispina</i> and <i>Daphnia pulex</i>	$W = 1.50 \times 10^{-8} \times (L_1)^{2.84}$		<i>Daphnia</i> sp. pooled equation	[1]
All copepod nauplii	$W = 1.10 \times 10^{-5} \times (L_1)^{1.89}$		Nauplii pooled equation	[1]
<i>Scapholeberis mucronata</i>	$W = 8.9 \times 10^{-8} \times (L_1)^{2.7}$		<i>Scapholeberis mucronata</i>	[1]
Rotatoria				
<i>Ascomorpha</i> sp.		$W = 0.0393$	<i>Ascomorpha ecaudis</i>	[2]
<i>Cephalobdella</i> sp.		$W = 0.0250$	<i>Cephalobdella catellina</i>	[2]
<i>Euchlanis</i> sp.	$W = 0.1 \times (L_2^3) \times 50$		<i>Euchlanis</i> gr. <i>dilatata-parva</i>	[3]
<i>Hexarthra bulgarica</i>	$W = 0.13 \times 10^2 \times (L_2)^3$		<i>Hexarthra</i> sp.	[3]
<i>Keratella</i> gr. <i>quadrata</i>		$W = 0.0444$	<i>Keratella hyemalis</i>	[2]
<i>Keratella cochlearis</i>		$W = 0.0155$	<i>Keratella cochlearis</i>	[2]
<i>Lecane</i> gr. <i>luna</i>		$W = 0.0515$	<i>Lecane luna</i>	[2]
<i>Lecane</i> gr. <i>lunaris</i>		$W = 0.0254$	<i>Lecane lunaris</i>	[2]
<i>Notholca labis</i>		$W = 0.0339$	<i>Notholca labis</i>	[2]
<i>Notholca squamula</i>		$W = 0.0303$	<i>Notholca squamula</i>	[2]
<i>Polyarthra</i> gr. <i>vulgaris-dolichoptera</i>		$W = 0.0421$	<i>Polyarthra dolichoptera</i>	[2]
<i>Synchaeta</i> sp.	$W = 0.10 \times 10^2 \times (L_2)^3$		<i>Synchaeta</i> sp.	[3]

Per ulteriori dettagli vedi Tiberti et al. (2019b)

Macroinvertebrati litorali: campioni semiquantitativi di macroinvertebrate litorali sono stati raccolti in tutti gli habitat accessibili dalle sponde del lago. Sono stati identificati 3 microhabitats in base alla granulometria del substrato: sponde sabbiose (diametro dei sedimenti < 2 mm), sponde ghiaiose ($2\text{ mm} \leq \text{diametro dei sedimenti} < 64\text{ mm}$), e sponde rocciose ($\geq 64\text{ mm}$). In ognuno di questi microhabitats sono state effettuate 10 retinate standard, trascinando un retino standard da zoobenthos (bocca 25 per 20 cm; maglia 0.5 mm) per circa 1 metro per ogni retinata, seguendo Knapp et al (2001). Se un microhabitat era assente o inaccessibile, le retinate mancanti sono state equamente suddivise tra i rimanenti microhabitats. I macroinvertebrate bentonici sono stati separati dal sediment direttamente sul campo e conservati in etanolo 70%. I macroinvertebrati sono stati riconosciuti a livello di famiglia-genere in laboratorio seguendo Campaioli et al., (1994) usando uno stereomicroscopio. Per ulteriori dettagli vedi Tiberti et al. (2019b)

Anfibi: gli anfibi presenti nei laghi oggetto di studio sono stati monitorati evitando manipolazioni e cattura degli animali che possono interferire con il loro stato di salute e facilitare la trasmissione di patologie. La presenza e abbondanza di uova, larve, e adulti è stata monitorata tramite Visual Encounter Surveys (VES) (Crump and Scott, 1994), camminando lungo l'intero perimetro del lago e prendendo nota di quanto osservato. Per ulteriori dettagli vedi Tiberti et al. (2019b).

Pesci: la presenza di fauna ittica è stata rilevata in modo speditivo nel corso degli stessi Visual Encounter Surveys utilizzati per gli anfibi, prendendo nota della presenza e abbondanza dei pesci presenti. Quando possibile i pesci sono stati riconosciuti a livello di specie, ma solitamente il VES permette solo un riconoscimento a livello di famiglia, i.e. Salmonidae o Cyprinidae. I salmonidi sono normalmente presenti a densità compatibili con un conteggio degli individui, perciò l'abbondanza relativa dei salmonidi è stata stimata contando tutti gli individui osservati. I ciprinidi possono talvolta raggiungere densità estremamente alte e sono stati divisi in categorie di abbondanza: 0 (nessun ciprinide osservato), 1 (1-10 ciprinidi), 2 (11-100 ciprinidi), 3 (101-1000 ciprinidi), 4 (1001-10000 ciprinidi), 5 (>10000 ciprinidi). Per il riconoscimento delle specie presenti nei laghi e per una descrizione più dettagliata della loro abbondanza sono stati utilizzati metodi di cattura passiva. Reti branchiali multimaglia (Multi-mesh gillnets) per i salmonidi e trappole a nassa (fyke nets) per i ciprinidi. Vedi Tiberti et al. (2020) per ulteriori dettagli. La ridotta variabilità interannuale e stagionale delle popolazioni ittiche consentono una frequenza di campionamento minore.

4. REFERENCES

- Alonso M. 1996. Crustacea, Branchiopoda. Fauna Iberica, Vol. 7. Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Madrid, Spain.
- APHA. 2005. Standard Methods for the examination of water and wastewater (Method 4110 B). American Public Health Association, Washington DC, USA.
- Bernini F, Razzetti E. 2006. *Rana temporaria*. In: Sindaco R, Doria G, Razzetti E, Bernini F. (eds). Atlas of Italian amphibians and reptiles. Edizioni Polistampa, Firenze, Italy: pp. 362-367.
- Braioni MG, Gelmini D. 1983. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane No 23. Rotiferi Monogononti (Rotatoria: Monogononta). Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma, Italy.
- Campaioli S, Ghetti PF, Minelli A. 1994. Manuale per il riconoscimento dei macroinvertebrati delle acque dolci italiane. Provincia autonoma di Trento, Trento, Italy.
- Crouch WB, Paton PWC. 2000. Using egg-mass counts to monitor wood frog populations. Wildlife Society Bulletin 28:895-901.

- Crump, M.L., Scott, N.J. (1994): Visual encounter surveys. In: Heyer WR, Donnelly MA, McDiarmid RW, Hayek LC, Foster MS (eds). *Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington, USA: pp. 84- 92.
- Dumont HJ, Van de Velde I, Dumont S. 1975. The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. *Oecologia* 19:75–97.
- Edmondson WT, Winberg GG. 1971. *A Manual on Methods for the Assessment of Secondary Productivity in fresh Waters*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Ejsmont-Karabin J. 1998. Empirical equations for biomass calculation of planktonic rotifers. *Polskie Archiwum Hydrobiologii/Polish Archives of Hydrobiology* 45:513-522.
- Knapp RA, Matthews KR, Sarnelle O. 2001. Resistance and resilience of alpine lake fauna to fish introductions. *Ecological Monographs* 71:401-421.
- Krajiček M, Fott J, Miracle MR, Ventura M, Sommaruga R, Kirschner P, Černý M. 2016. The genus *Cyclops* (Copepoda, Cyclopoida) in Europe. *Zoologica Scripta*, 45:671–682.
- Lanza B, Andreone F, Bologna MA, Corti C, Razzetti E. 2007. *Fauna d'Italia, Amphibia*. Calderini, Bologna, Italy.
- Ruttner-Kolisko A. 1977. Suggestions for biomass calculations of plankton rotifers. *Archiv für Hydrobiologie–Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 8:71–76.
- Stella E. 1984. *Fauna d'Italia. Copepoda: Calanoida (d'acqua dolce)*. Edizioni Calderoni Bologna, Bologna, Italy.
- Tiberti R**, M Rogora, G Tartari, C Callieri. 2014. Ecological impact of transhumance on the trophic state of alpine lakes in Gran Paradiso National Park. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 415: 05.
- Tiberti R**, L Nelli, G Tartari, E Wienckowski, A Marchetto, M Rogora. 2019a. Multi-year trends and determinants of the hydrochemistry of high mountain lakes from the western Italian Alps. *Aquatic Sciences*, 81:54.
- Tiberti R**, G Bogliani, S Brighenti, R Iacobuzio, K Liautaud, M Rolla, A von Hardenberg, B Bassano. 2019b. Recovery of high mountain Alpine lakes after the eradication of introduced brook trout *Salvelinus fontinalis* using non-chemical methods. *Biological Invasions* 21:875-894.
- Valderrama JC. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10:109–122.

Protocolli realizzati sui laghi Alpi Cozie

Redazione : Paolo Pastorino

ALPLA - ALPine LAKes, indicators of global change – Balma Lakes (Cottian Alps) **Technical protocol**

PARTNER

- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Coordinator
- Università di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita
- Ente di Gestione delle Aree Protette delle Alpi Cozie
- Geostudio RC
- Club Alpino Italiano – Coazze (TO)

AIMS

1. obtain topographic and bathymetric maps of the lakes using new technologies (drones);
2. characterize the lake hydrochemistry to get information about nutrient loading and trophic status;
3. characterize the macroinvertebrates since typical biological components of Alpine lakes and widely used to assess ecological status of freshwater;
4. investigate changes in chironomids composition over time based on paleolimnological analysis;
5. characterize fish communities, obtaining information about their biological and sanitary condition.

1. TOPOGRAPHIC AND BATHYMETRIC MAPS USING DRONES

The activity began with the study of the area planning the flight of the unmanned aerial vehicle (UAV). The main settings were: i) the flight height, ii) the flight speed, iii) the overlap between images and consequently iv) the shooting position for each image. Similar planning was also done for the boat navigation path identifying the waypoints and the frame rate of the depth data acquisition.

The second step was the survey on the field:

1. the UAV-photogrammetric acquisition;
2. the bathymetry survey using an equipped boat;
3. the topographic survey (total station survey and Global Navigation Satellite System-GNSS) to support and integrate together all the different acquisitions.

For the photogrammetric acquisition eight photogrammetric cross-targets were positioned on the ground around the lakes in order to cover all the areas. The use of targets is mandatory in order to constrain the photogrammetric acquisition and avoid uncontrolled geometric deformation, and ii) to scale the DTM properly. The network was measured with a total station (LeicaTS15) in order to achieve an overall accuracy < 1 cm on the positioning determination of the points in a local reference system. An additional GNSS acquisition was performed to georeference the area in the cartographic coordinate system (Gauss Boaga) using 3 points around the lakes in order to materialize a triangle containing all the other measurements inside. The UAV flight was planned in order to achieve a mean GSD (Ground Sample Distance) of 2 cm and a mean overlap of 80 %. The flight was controlled manually by the operator. A total-station acquisition also supported the bathymetric acquisition in order to measure

the 3D position of the boat at each acquired depth measurement. The total station was used in tracking-mode following a 360° Leica prism. Prism was mounted on the boat vertically respect to sonar head in a calibrated distance of 455 mm. For the water depth measurements, circa 300 points were collected materializing a virtual grid of acquired points of circa 5x5 meters.

2. SELECTION OF SAMPLING SITES

In order to characterize hydrochemistry and biotic components, five littoral sites at each lake were selected while walking the perimeter of each lake to identify the sampling sites along the shore (depth range 25-60 cm) with different habitats (grain size of the vegetation substrate) and tributaries or emissaries.

Three sites for deep sampling in each lake were chosen based on bathymetric investigations and substrate grain size (sand and mud).

3. PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF WATER, TOTAL ORGANIC CARBON AND TOTAL NITROGEN ANALYSIS

Physicochemical parameters of water, Total Organic Carbon and Total Nitrogen analysis

During summer and autumn, the main physicochemical and nutrients features were monitored at each sampling site (littoral and deep). Water temperature (°C), dissolved oxygen (mg L⁻¹), oxygen saturation (% saturation), conductivity (μS cm⁻¹), and pH were recorded using field meters (HI 9033 conductivity meter, HI 9125 pH/ORP meter, HI 9147 oximeter, Hanna Instruments Inc. Woonsocket, RI, USA). At the deep sites, depth and transparency were also measured using a graduated rope and Secchi disk. Water samples were collected at each site in sterile containers, taking care not to include sediment particles, and then brought to the laboratory for analysis. Concentrations of NH₄⁺ (mg L⁻¹), NO₃⁻ (mg L⁻¹), and PO₄³⁻ (mg L⁻¹) were measured on a multi-parameter benchtop photometer (HI 83200-02 (Hanna Instruments Inc.). Concentration of NO₃⁻ (mg L⁻¹) was obtained by measuring the absorbance at 525 nm via adaptation of the cadmium reduction method (APHA et al., 1998); concentration of NH₄⁺ (mg L⁻¹) was obtained by measuring the absorbance at 420 nm (ASTM, 2015) via adaptation of the Nessler method; PO₄³⁻ (mg L⁻¹) concentration was obtained by measuring absorbance at 610 nm via adaptation of the ascorbic acid method (APHA et al., 1998). Analyses were carried out on a multi-parameter spectrophotometer (HI83200-02, Hanna Instruments Inc.) and three replicates for each parameter.

Surface sediment (0-2 cm) was collected at each littoral and deep site in both lakes to determine the total organic carbon (TOC, %) and total nitrogen (TN, %). For analysis, 15 mg bulk samples were obtained for each site manually powdered with an agatha mill, and oven-dried at 105 °C for 24 h. The samples were then acidified in HCl, increasing the concentration up to 18%, and then processed by frontal chromatography on a CHN Analyzer (model ECS 4010 CHNSO, Costech Analytical Technologies Inc., Valencia, CA, U.S.A) (Hedges and Stern, 1984).

Sediment core sampling and TOC and TN analysis

A coring campaign was conducted at each lake using a 50 mm gravity Kajak-type sediment corer (Kajak et al., 1965; Renberg, 1991; Brooks et al., 2007). The core samples were sealed in a sampling tube, brought to the laboratory and stored at 4 °C until further analyses. Subsamples were obtained by cutting each core in transverse sections of 2 cm to chironomid head capsule identification. The choice

of section thickness was dictated by the need to obtain a sample suitable for analysis with a minimum volume equal to 30 cm³ of wet sediment, as indicated for mountain lakes due to their high sedimentation rates (Heiri and Lotter, 2003; Heiri et al., 2003; Brooks et al., 2007). Total organic carbon (TOC, %) and total nitrogen (TN) were also measured in each core section for both lakes.

Sediment core samples dating

Bulk sediment samples were used for AMS ¹⁴C carbon analyses, which were performed at the Poznan Radiocarbon Laboratory (Poznan, Poland). Analysis of bulk sediment sample for dating was performed because no vegetal remains were found in the core samples. In addition to radiocarbon dating, sediment dating was investigated using non-radiocarbon data. In particular, the total lead (208Pb) concentration in core sections was determined by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry (ICP-MS). Following an adaptation from EPA Method 3052, freeze dried samples were manually powdered using an agatha mill. Then, 0.300 g aliquots were solubilized with a mixture of 5 mL of nitric acid (69%) and 1 mL of hydrogen peroxide (30%) and subjected to microwave digestion for 55 minutes using a Multiwave PRO Anton Paar reaction system (Anton Paar, Graz, Austria). Samples were then centrifuged to remove residue, transferred to flasks, and filled to the mark with MilliQ water (25 mL final volume). Samples were diluted to 1:20 and analyzed by ICP-MS NEXION 350X (manufactured by Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, U.S.A.). Lead concentrations were determined using the calibration curve method obtained from the analysis of five standard solutions (range 0 - 100 ppb). Age-depth model for each lake was obtained using RStudio Package Clam 2.3.2 (Blaauw, 2010) through smooth interpolation function, using ¹⁴C AMS dates and total Pb peak as non-carbon datum.

4. MACROINVERTEBRATE SAMPLING

Modern community

Macroinvertebrate sampling was carried out during two campaigns: one in summer and one in autumn. The choice of these periods was dictated by the need to exploit the time in which the lake is accessible (generally from June to early November), with the intent to study the macrobenthic community in seasons when the abundance and biomass of these organisms are greatest (Fjellheim et al., 2000, 2009). A Surber net (mesh 250 µm; 0.1 m² subtended area) was used for sampling the macrobenthic communities at 5 sites of the littoral zone (depth 25 to 60 cm), and 3 subsamples were collected at each site with a different microhabitat and presence of tributaries or emissaries (Boggero et al., 2014; Dumnicka et al., 2015). Single samples were collected from the deep sites using a Van Veen grab (2 liters, 260 cm² sampling surface) and sieved through a net with a mesh size of 250 µm (Boggero et al., 2014).

To standardize the sampling procedure, all substrates were disturbed for at least 2 min (Fjellheim et al., 2009). After collection, the littoral and deep samples were stored *in situ* with 70% ethanol solution and brought to the laboratory. The organisms were counted and determined where possible to the species level with the help of dichotomous keys.

Microscopic preparations of the Diptera Chironomids were set up such that the head of each larva was separated from the body by positioning the head ventrally and the body dorsally; the sample was dissected at the stereomicroscope to avoid damaging the specimens and with the aid of dissecting needles (Lencioni et al., 2007). Slides were prepared using a semi-permanent preservation technique involving the use of Faure liquid. The slides were analyzed by transmission optical microscopy at magnifications from 60x to 100x. Microscopic preparations of Oligochaeta were set up by mounting

the specimens on temporary slides and applying a drop of distilled water to identify them under an optical microscope.

Chironomid head capsule identification

Head capsule (HC) extraction from sediment core was performed following the indications reported by Lang et al. (2003) and Brooks et al. (2007). Samples were deflocculated in distilled water warmed at 40°C for 20 min and then sieved using a 100 µm mesh. The sieve residues were then sorted, and chironomid HC was extracted under the stereomicroscope (at least x 25 magnification). Samples were processed in order to obtain at least 100 HC for each section, to produce significant statistical results (Brooks et al., 2007). HC were then progressively dehydrated in 80% and 100% ethanol (5 min for each step) and mounted on microscope slides, ventral side up, in Euparal essence.

The collected HC were identified to genus or species level (when possible) using an optical microscope at x 60 to x 100 magnification. For each core section, three subsamples were considered in order to perform statistical analyses, with each subsample containing a higher number of HC than the minimum value ($n > 50$) for representative samples (Brooks et al., 2007).

5. FISH SAMPLING AND ANALYSES

A fish sampling campaign was performed on summer at each lake following the protocol used to assess the Lake Fish Index (Volta, 2009). The protocol was developed from a standardized method for fish sampling in European lakes EN 14757:2005 (CEN, 2005) that requires the use of benthic and pelagic gillnets in relation to the lake typology, surface area, and depth. Benthic gillnets were 30 m long and 1.5 m high (total surface: 45 m²) and were composed of 12 panels (2.5 m length) with variable mesh size, from 5 to 55 mm. The pelagic gillnets were 27.5 m long and 6 m high (165 m²) and had the same sequence of panels as the benthic gillnets but without panel 5 (11 panels in total). Gillnets placement was based on the lake bathymetry profile. In the shallower zone, only benthic gillnets were used, while in the deeper zone both pelagic and benthic gillnets were placed. Gillnets were placed at 6 p.m. and recovered 12 hours later. Fish sampling was performed by permission of competent authorities, as required by local laws.

Stomach content analysis

Stomach content analysis was performed to obtain information about brook trout diet and diet preferences. The stomachs were sampled, preserved in 70% alcohol, and then identified in the laboratory using both a stereomicroscope and an optical microscope. We identified the ingested prey at the order or family level because a more precise identification was often impossible due to the digestion status of the prey. In order to describe the diet, frequency of occurrence (Fi) was calculated for the prey items (Tiberti et al., 2016). Relative abundance (Ai) was also calculated (Tiberti et al., 2016) as follow:

$$A_i = S_i / S_t \times 100$$

where S_i is the sum of the number of prey i in all the stomachs and S_t is the total sum of all the counted prey.

Sanitary evaluation

For sanitary evaluation, fish were necropsied and evaluated for possible pathological alterations. For parasitological exam, tissue scrapings from skin and gill filaments were prepared with a drop of water, covered with a clean cover slip (wet mount preparation) and examined under a microscope at 10x to

40x magnification. The bacteriological exam was performed from kidney, brain and eye (vitreous humor) and the inoculum was directly plated out on first isolation media as Columbia Blood Agar or Tryptic Soy Agar. This procedure was performed immediately after fish recovery from gillnets. The colonies, eventually grown after 24-72 hours of incubation at 22 ± 2 °C, have been cloned and identified by Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) technology on VITEK MS system (bioMérieux, France). Finally, Pb, Cd, and Hg level were detected in fish muscle to determine whether the concentration exceeded the maximum limit for human consumption established by the European Commission (EU Regulation 1881/2006).

Pb and Cd concentrations in muscle of fish were determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS Xseries II, Thermo Scientific, Bremen, Germany) after microwave digestion, following the protocol described by Squadrone et al. (2016). Hg concentration was also determined by direct mercury analyzer (DMA-80 Analyzer from Milestone, Shelton, CT, USA). Samples were homogenized with an electric mill and divided into two sub-samples: one to determine mercury, the other to determine cadmium and lead. The limit of quantification (LOQ) was 0.010 mg kg^{-1} for Hg and 0.020 mg kg^{-1} for both Cd and Pb.

Biometric measures

Catch per unit effort (CPUE) and biomass per unit effort (BPUE) were calculated for both benthic and pelagic gillnets. CPUE was calculated as the number of fish per square meter of net per 12 hours (Cavalli et al., 1997). BPUE was determined as the weight (g) of fish per square meter of net per 12 hours (Alexander et al., 2015). Furthermore, the number and weight of each fish captured per net were also reported. Total length (L_t ; cm) and total weight (W ; g) were recorded for each specimen. Five scales above the lateral line were collected from each specimen to determine age. The relationship between total length and total weight was determined by non-linear regression for males and females (Ricker, 1975).

$$W = a L_t^b$$

where: W = fish weight (g); a = intercept on the x-axis; L_t = total fish length (cm); b = exponent of the arithmetic form of the weight-length relationship and the slope of the regression line in the logarithmic form. Coefficient of determination (r^2) value was obtained by curve interpolation and used to assess whether the curve values fit the data (Treer et al., 2008). Fish health condition was checked using the mean condition factor (K_{mean}), which is the average condition factor for a given length obtained from the respective weight-length relationship (Froese, 2006), making it suitable for comparison of different populations of the same species. The mean condition was calculated as follows:

$$K_{\text{mean}} = 100 a L_t^{b-3}$$

where K_{mean} = mean condition factor; L_t = total length (cm); a = coefficient of the arithmetic weight-length relationship and the intercept of the logarithmic form; b = exponent of the arithmetic form of the weight-length relationship and the slope of the regression line in the logarithmic form.

References

- APHA, AWWA, WEF. (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edition. American Public Health Association, Washington DC.
- ASTM (2015). Manual of Water and Environmental Technology, D1426-92, Nessler method.
- Hedges, J., Stern, J. (1984). Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnology and Oceanography*, 29, 657-663.
- Kajak, Z., Kacprzak, K., Polkowski, R. (1965). Chwytnacz rurowy do pobierania prób dna. *Ekologia polska seria*, 11, 159-165.

- Renberg, I. (1991). The HON-Kajak sediment corer. *Journal of Paleolimnology*, 6, 167-170.
- Brooks, S.J., Langdon, P.G., Heiri, O. (2007). The identification and use of the Palearctic Chironomidae Larvae in Palaeoecology. Quaternary Research Association, London.
- Heiri, O., Lotter, A.F. (2003). 9000 years of Chironomid assemblage dynamics in an Alpine lake: long-term trends, sensitivity to disturbance, and resilience of the fauna. *Journal of Paleolimnology*, 30, 273-289.
- Heiri, O., Lotter, A.F., Hausmann, S., Kienast, F. (2003). A chironomid-based Holocene summer air temperature reconstruction from the Swiss Alps. *The Holocene*, 13, 477-484.
- Blaauw, M. (2010). Methods and code for 'classical' age-modelling of radiocarbon sequences. *Quaternary Geochronology*, 5, 512-518.
- Fjellheim, A., Raddum, G.G., Schnell, Ø.A. (2000). EMERGE - Protocol for the sampling of contemporary invertebrates - European Mountain lake Ecosystems: Regionalisation, diagnostics & socio-economic Evaluation (EMERGE), protocol 06. University College London, London.
- Fjellheim, A., Raddum, G.G., Vandvik, V., Cogălniceanu, D., Boggero, A., Brancelj, A., Galas, J., Sporka, F., Vidinova, Y., Bitusik, P., Dumnicka, E., Gâldean, N., Kownacki, A., Krno, I., Preda, E., Rîșnoveanu, G., Stuchlik, E. (2009). Diversity and distribution patterns of benthic invertebrates along alpine gradients. A study of remote European freshwater lakes. *Advances in Limnology*, 62, 167-190.
- Boggero, A., Zaupa, S., Rossaro, B., Lencioni, V., Marziali, L., Buzzi, F., Fiorenza, A., Cason, M., Giacomazzi, F., Pozzi, S. (2014). Protocollo di campionamento ed analisi dei macroinvertebrati negli ambienti lacustri. Manuali e linee guida 111/2014. CNR-IRSA, Roma (in Italian)
- Dumnicka, E., Steingruber, S., Colombo, L., Zaupa, S., Boggero, A. (2015). Oligochaete assemblages of Swiss Alpine lakes. *Italian Journal of Zoology*, 82, 112-123.
- Lencioni, V., Marziali, L., Rossaro, B. (2007). I Ditteri Chironomidi, morfologia, tassonomia, ecologia, fisiologia e zoogeografia. MUSE-Museo delle Scienze, Trento.
- Lang, B., Bedford, A.P., Richardson, N., Brooks, S.J. (2003). The use of ultra-sound in the preparation of carbonate and clay sediments for chironomid analysis. *Journal of Paleolimnology*, 30, 451-460.
- Volta, P. (2009). Indice per l'analisi dello stato di qualità della fauna ittica finalizzato alla valutazione dello stato ecologico dei laghi italiani: Lake Fish Index (LFI). Indici per la valutazione della Qualità ecologica dei laghi. CNR, Istituto per lo Studio degli Ecosistemi. Verbania Pallanza.
- CEN, (2003). Water Quality. Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. EN 13946. Comité Européen de Normalisation, Geneva, 14 pp.
- Tiberti, R., Brighenti, S., Canedoli, C., Iacobuzio, R., Rolla, M. (2016). The diet of introduced brook trout (*Salvelinus fontinalis*; Mitchell, 1814) in an alpine area and a literature review on its feeding ecology. *Journal of Limnology*, 75(3), 488-507.
- Squadrone S., Brizio, P., Stella, C., Prearo, M., Pastorino, P., Serracca, L., Ercolini, C., Abete, M.C. (2016). Presence of trace metals in aquaculture marine ecosystems of the northwestern Mediterranean Sea (Italy). *Environmental Pollution*, 215, 77-83.
- Alexander, T.J., Vonlanthen, P., Periat, G., Degiorgi, F., Raymond, J. C., Seehausen, O. (2015). Estimating whole-lake fish catch per unit effort. *Fisheries Research*, 172, 287-302.
- Cavalli, L., Chappaz, R., Bouchard, P., Brun, G. (1997). Food availability and growth of the brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), in a French Alpine lake. *Fisheries Management and Ecology*, 4(3), 167-177.
- Ricker, W.E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations (Vol. 191, pp. 1-382). Ottawa: Department of the Environment, Fisheries and Marine Service.
- Treer, T., Sprem, N., Torcu-Koc, H., Sun, Y., Piria, M. (2008). Short communication Length-weight relationships of freshwater fishes of Croatia. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 626-628.
- Froese, R. (2006). Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 241-253.

Protocolli realizzati sui laghi francesi – *Lacs sentinelles*

Redazione : Réseau Lacs sentinelles – Raphaëlle Napoleoni

Traduzione : Maria Daubrée

1. TRASPARENZA DELL'ACQUA

La profondità alla quale scompare e riappare il disco di Secchi alla vista dell'osservatore è una misura della trasparenza dell'acqua. La trasparenza dipende fortemente dalla capacità dell'acqua di trasmettere la luce. Sono diversi i fattori che possono ridurre la trasparenza dell'acqua di un lago. Oltre all'intensità luminosa, la quantità e la natura delle materie e sostanze presenti in acqua rivestono un ruolo importante. Tali materie possono essere di origine minerale (sabbia, limo, argilla e composti chimici inorganici) oppure organica (alghe microscopiche, residui di organismi e composti chimici organici). Tali materie e sostanze possono essere presenti in acqua sotto forma di particelle o disciolte. Anche se vi sono vari fattori che possono influenzare la trasparenza dell'acqua, si osserva che questa diminuisce con l'aumentare del quantitativo di alghe in sospensione. Poiché la quantità di alghe aumenta con la concentrazione di materie nutrienti, vi è un legame fra la trasparenza dell'acqua e lo stato di avanzamento dell'eutrofizzazione del lago (il suo livello trofico).



Photo 5. Disque de Secchi. (Source : CRE Laurentides.)

Realizzazione

- Un disco di Secchi formato standard. Si tratta di un disco di plexiglas o di metallo, di 20 centimetri di diametro. E' suddiviso in quattro parti, alternativamente bianche e nere.
- Una fune (metrata o meno) ed un metro (sistema metrico) una pinza (molletta da biancheria o altro) ed una zavorra da legare al disco di Secchi in caso di necessità.
- Una carta batimetrica del lago, se disponibile.

Localizzazione della stazione

Si realizza la misura della trasparenza dell'acqua con disco di Secchi in corrispondenza del punto di massima profondità del lago. Usare la carta batimetrica per localizzare tale area.

ATTENZIONE!

La trasparenza dell'acqua può variare notevolmente in funzione delle condizioni meteorologiche e degli osservatori. Rispettare le consegne per la realizzazione delle misure; possibilmente, non cambiare osservatore. Se ci deve essere più di un osservatore, assicurarsi che il modus operandi sia simile e che le misure siano paragonabili.

Realizzazione delle misure

1. **Posizionare l'imbarcazione** sopra la stazione di misura. Attendere cinque minuti.
2. **Far scendere lentamente il disco di Secchi** in acqua fino a non vederlo più. Farlo risalire per vederlo riapparire, quindi farlo scendere nuovamente per trovare il punto esatto in cui scompare. Ripetere l'operazione 3 volte e fare una media delle tre misure realizzate.
3. **Indicare la profondità** alla quale il disco scompare con una pinza posizionata sulla corda al livello del pelo dell'acqua.

- Misurare la lunghezza della fune tra la pinza ed il disco di Secchi con una precisione di +/- 10 cm.

Operatività del protocollo

Competenze richieste: nessuna

Durata e risorse umane: 10 minuti in 2 persone (per stabilizzare l'imbarcazione).

Costo del materiale: Disco e fune circa 95 € + IVA.

Consegne per la realizzazione delle misure

Provare ad avere sempre le stesse condizioni per fare le misure. Queste vanno realizzate tra le ore 10 e le ore 15 per avere un'illuminazione costante. Evitare le condizioni di vento e pioggia, e girare le spalle al sole in modo che la vostra ombra e quella dell'imbarcazione fermino i riflessi accecanti del sole sull'acqua. E' sconsigliabile indossare occhiali da sole.

2. PHYTOPLANKTON

Tematica: Conoscere la biodiversità dei laghi di alta quota.

Realizzazione

Materiale occorrente

- Una bottiglia campionatrice
- Una fune metrata
- Una bocchetta da 500 ml
- Soluzione di Lugol
- Un secchio da 6 l almeno

A che cosa serve il Lugol ?

Il Lugol è una soluzione di potassio ioduro. Non mettere sulle dita. Serve a fermare i processi biologici ed a fissare le alghe conservandone la forma originale.

Localizzazione della stazione

Effettuare i prelievi in corrispondenza del punto di massima profondità del lago.

Realizzazione delle misure

1. Posizionare l'imbarcazione sopra la stazione di misura.
2. Risciacquare il secchio con acqua del lago.
3. Con la bottiglia campionatrice e la fune metrata, prelevare 1 L di acqua (da svuotare a mano a mano nel secchio) a 6 livelli di profondità: sub-superficiale, 0.25 Secchi, 0.5 Secchi, Secchi, 2 Secchi e 2.5 Secchi. A seconda della profondità di Secchi misurata durante la rilevazione, si possono trovare i valori delle profondità da cui prelevare nella tabella sottostante. Se la profondità del Secchi e/o dello strato eufotico (2.5 Secchi) è superiore a quella del lago, realizzare 6 misure a intervalli regolari nella colonna d'acqua (se la profondità del Secchi è inferiore a quella del lago, prelevare una volta al suo livello).

Tableau 1 : Profondeur de prélèvement dans la zone euphotique selon la mesure du Secchi

Secchi misurato durante la campagna (profondità in m)	Prelievo di un litro di acqua (profondità in m) ^x					
	1	2	3	4	5	6
	Sub-superficiale	0.25 Secchi	0.5 Secchi	Secchi	2 Secchi	2.5 Secchi
1	Sub-superficiale	0.25	0.50	1	2	2.5
1.5	Sub-superficiale	0.38	0.75	1.5	3	3.75
2	Sub-superficiale	0.50	1.00	2	4	5
3	Sub-superficiale	0.75	1.50	3	6	7.5
4	Sub-superficiale	1.00	2.00	4	8	10
5	Sub-superficiale	1.25	2.50	5	10	12.5

6	Sub-superficiale	1.50	3.00	6	12	15
7	Sub-superficiale	1.75	3.50	7	14	17.5
8	Sub-superficiale	2.00	4.00	8	16	20
9	Sub-superficiale	2.25	4.50	9	18	22.5
10	Sub-superficiale	2.50	5.00	10	20	25
11	Sub-superficiale	2.75	5.50	11	22	27.5
12	Sub-superficiale	3.00	6.00	12	24	30
13	Sub-superficiale	3.25	6.50	13	26	32.5
14	Sub-superficiale	3.50	7.00	14	28	35
15	Sub-superficiale	3.75	7.50	15	30	37.5

^x I valori di profondità forniti sono indicativi; la misura non necessita di una precisione al centimetro.

- Omogeneizzare i 6 prelievi nel secchio, quindi riempire la boccetta con l'acqua del secchio. Non riempire completamente, lasciare un po' d'aria per la procedura in laboratorio.
- Tornare a riva.
- Versare alcune gocce di Lugol nella bottiglia (il risultato deve assumere il colore di un vecchio whisky).

Analisi di laboratorio

I campioni di acqua fissati con il Lugol vanno portati in laboratorio. Ogni campione viene lasciato a sedimentare. Le analisi qualitative e quantitative si fanno con il microscopio invertito, seguendo la tecnica UTERMÖHL (1958), metodo ormai normalizzato a livello francese ed europeo (AFNOR, 2006). I risultati delle biomasse algali sono espressi in $\mu\text{g}\cdot\text{L}$.

Il dettaglio dei protocolli è stabilito da DRUART et RIMET (2008), scaricabile sul sito www.dijon.inra.fr/thonon.

Si possono calcolare varie metriche a partire dalle liste floristiche:

- la biomassa delle classi algali (BOURELLY, 1972, 1981, 1985)
- la biomassa dei taxa dominanti
- la biomassa delle classe dimensionali (micro e nanofitoplancton)
- i gruppi funzionali di REYNOLDS et al. (2002) (o gilde)
- la diversità fitoplanctonica (indice di Shannon)
- un indice di qualità trofica (Indice di Brettum modificato da KAIBLINGER et al., 2009).



Operatività del protocollo

Competenze richieste

Necessità di collaborazione con un laboratorio specializzato nel conteggio del fitoplancton.

Durata e risorse umane

Prelievo : in media 15 minuti.

Costo del materiale

- Bottiglia campionatrice da 1 litro con 20 m di fune metrata: 319 € + IVA (SDMO Quiniou).
- Boccette (polietilene, collo largo) da 500 ml: 104 € + IVA per 140 boccette

Costo delle analisi

- 250 € + IVA, per un campione per ogni lago.

3. ZOOPLANKTON

Tematica: Conoscere la biodiversità dei laghi di alta quota.

Realizzazione

Materiale occorrente

- Un retino da plancton (maglia 50 μm , diametro 30 cm)
- Una fune metrata
- Una bocchetta da 200 ml
- Lugol o etanolo

A che cosa serve il Lugol ?

Il Lugol è una soluzione di potassio ioduro. Non mettere sulle dita. Serve a fermare i processi biologici ed a fissare le alghe conservandone la forma originale.

Localizzazione della stazione

Effettuare i prelievi in corrispondenza del punto di massima profondità del lago.

Realizzazione delle misure:

1. Posizionare l'imbarcazione sopra la stazione di misura.
2. Risciacquare il retino con l'acqua del lago.
3. Immergere il retino, dopo aver controllato che il rubinetto sia ben chiuso, fino in fondo al lago, senza toccare il substrato, per evitare di mettere i sedimenti in sospensione, e realizzare una retinata verticale dal fondo fino alla superficie, tirando lentamente su il retino (1 m/s).
4. Riempire la bocchetta con il contenuto del retino.
5. Tornare a riva.
6. Versare alcune gocce di Lugol nella bottiglia (il risultato deve assumere il colore di un vecchio whisky).



Analisi di laboratorio

I campioni di acqua fissati con il Lugol o con l'etanolo devono essere portati in laboratorio.

Gestione dei dati

Nel rapporto di missione (inserimento online sul sito internet della rete), indicare se il prelievo è stato realizzato o meno.

Dopo le analisi di laboratorio, i dati devono essere inseriti nel SI SOERE con il file di scambi dati.

Operatività del protocollo

Competenze richieste

Necessità di collaborazione con un laboratorio specializzato nel conteggio dello zooplancton.

Durata e risorse umane

Prelievo : in media 15 minuti.

Costo del materiale

- Retino, maglia 50 μm , diametro 30 cm: 295 € + IVA (SDMO Quiniou).
- Bocchette (polietilene, collo largo) da 250 ml: 90 € + IVA per 145 unità

Costo delle analisi: Analisi di un campione per un lago: 300 € + IVA.

4. CLOROFILLA

Tematica: La clorofilla è un indicatore della biomassa fitoplanctonica del lago. Un eccesso di clorofilla può essere un'indicazione di eutrofizzazione dell'ambiente.

Realizzazione

Materiale occorrente

- Una bottiglia campionatrice
- Una fune metrata
- Una pompa del vuoto (unità di filtrazione)
- Filtri da 1,2 μm
- Una pinzetta
- Spatola inox
- Acqua distillata
- Carta alluminio
- Pennarello indelebile
- Mattonelle di ghiaccio
- Un piccolo contenitore termico morbido
- Un secchio (6 l minimo; l'acqua prelevata utilizzata è la stessa che per i protocolli fitoplancton e chimico)
- Acetone (per conservare il filtro se non risulta possibile portarlo in laboratorio entro le 24 ore). Prevedere anche guanti di lattice ed un flaconcino per mettere acetone e filtro.



Localizzazione della stazione

Effettuare i prelievi in corrispondenza del punto di massima profondità del lago.

Realizzazione delle misure

7. Posizionare l'imbarcazione sopra la stazione di misura.
8. Risciacquare il secchio con acqua del lago.
9. Con la bottiglia campionatrice e la fune metrata, prelevare 1 L di acqua (da svuotare a mano a mano nel secchio) a 6 livelli di profondità: sub-superficiale, 0.25 Secchi, 0.5 Secchi, Secchi, 2 Secchi e 2.5 Secchi. A seconda della profondità di Secchi misurata durante la rilevazione, si possono trovare i valori delle profondità da cui prelevare nella *tabella 1 pagina 15*. Se la profondità del Secchi e/o dello strato eufotico (2.5 Secchi) è superiore a quella del lago, compiere 6 misure regolari nella colonna d'acqua (se la profondità del Secchi è inferiore a quella del lago, prelevare una volta al suo livello).
10. Tornare a riva, omogeneizzare l'acqua del secchio con la spatola inox risciacquata con acqua del lago.
11. Filtrare a vuoto con l'unità di filtrazione, senza usare filtro ed usando acqua distillata. Risciacquare accuratamente i bordi delle parti alti e basse con acqua distillata.
12. Inserire un filtro da 1.2 μm nell'unità di filtrazione con la pinzetta (risciacquata con acqua distillata).
13. Versare l'acqua omogeneizzata dal secchio nell'unità di filtrazione.

Attenzione!

Tutto il volume di acqua filtrata va quantificato, in quanto determinerà la proporzione di clorofilla nel lago. A seconda dei laghi, sarà necessario utilizzare diversi filtri; vanno conservati insieme nell'alluminio.

14. Pompate e filtrare almeno 1L di acqua, in ogni caso segnare il volume di acqua filtrata. Sono i filtri che interessano, si può buttare via l'acqua.
15. Aprire l'unità di filtrazione e ritirare il filtro con la pinzetta, ripiegare il filtro su se-stesso (particelle all'interno) e metterlo nella carta alluminio (ripetere l'operazione per eventuali altri filtri). Segnare il volume filtrato sul filtro stesso, con la data ed il luogo di campionamento (con il pennarello indelebile). Se non si può portare il filtro in laboratorio entro le 24 ore, inserirlo in una boccetta riempita di acetone (manipolare con cura).
16. Inserire il tutto nel contenitore termico con le mattonelle di ghiaccio.
17. All'arrivo: mettere in filtri in congelatore.

Analisi di laboratorio

I filtri vanno portati in laboratorio il giorno stesso oppure vanno congelati in attesa dell'analisi.

Operatività del protocollo

Competenze richieste

Necessità di collaborazione con un laboratorio specializzato.

Durata e risorse umane

Prelievo 15 minuti in media – Filtrazione: dai 10 ai 20 minuti.

Costo del materiale

- Bottiglia campionatrice da 1 litro con 20 m di fune metrata: 319 € + IVA (SDMO Quiniou).
- Unità di filtrazione (unità in Nalgene in polisulfone (PSF)) : 200 €
- Filtri da 47 mm, 1.2µm: 197 € + IVA per 100 unità.

Costo delle analisi: 60 € + IVA per ogni lago.

5. CHIMICI

Realizzazione

Materiale occorrente

- Una bottiglia campionatrice da 1 litro
- Una fune metrata
- Una pompa del vuoto (unità di filtrazione)
- Filtri da 45 µm
- Due boccette da 200 ml
- Un piccolo imbuto
- Una pinzetta
- Spatola inox
- Acqua distillata
- Un secchio (minimo 6 l; l'acqua prelevata utilizzata è la stessa che per il protocollo fitoplancton e clorofilla-a)
- Un contenitore termico con mattonelle di ghiaccio

Localizzazione della stazione

Effettuare i prelievi in corrispondenza del punto di massima profondità del lago.

Realizzazione delle misure

1. Posizionare l'imbarcazione sopra la stazione di misura.
2. Prelevare 1 L in fondo al lago con la bottiglia campionatrice, avendo cura di non toccare il fondale.
3. Svuotare il prelievo di fondo direttamente dalla bottiglia in una delle boccette da 200 ml con l'ausilio di un imbuto (risciacquato con l'acqua del lago); riempire completamente la boccetta, senza lasciare aria.
4. Risciacquare il secchio con acqua del lago.
5. Con la bottiglia campionatrice e la fune metrata, prelevare 1 L di acqua (da svuotare a mano a mano nel secchio) a 6 livelli di profondità: sub-superficiale, 0.25 Secchi, 0.5 Secchi, Secchi, 2 Secchi e 2.5 Secchi. A seconda della profondità di Secchi misurata durante la rilevazione, si possono trovare i valori delle profondità da cui prelevare nella tabella 1 pagina .15. Se la profondità del Secchi e/o dello strato eufotico (2.5 Secchi) è superiore a quella del lago, compiere 6 misure regolari nella colonna d'acqua.
6. Tornare a riva.
7. Omogeneizzare l'acqua nel secchio con la spatola inox.
8. Filtrare a vuoto con l'unità di filtrazione, senza usare filtro ed usando acqua distillata. Risciacquare accuratamente i bordi delle parti alti e basse con acqua distillata. Ripetere questa operazione 3 volte.
9. Inserire un filtro da 0.45 μm nell'unità di filtrazione con la pinzetta (risciacquata con acqua distillata).
10. Versare l'acqua omogeneizzata dal secchio nell'unità di filtrazione.
11. Pompare e buttare i primi ml di acqua (risciacquo).
12. Riempire l'altra boccetta con l'acqua filtrata; riempire completamente senza lasciare aria.

Nota Bene: Vanno filtrati soltanto i prelievi sub-superficiali o sull'inizio della colonna d'acqua.

Le boccette vanno inserite nel contenitore termico contenente una mattonella di ghiaccio, prima di essere disposti in frigorifero.

Analisi di laboratorio

Le boccette vanno portate in laboratorio il giorno stesso, o possono essere conservate al massimo 2 giorni in frigorifero prima di essere analizzate.

Operatività del protocollo

Competenze richieste

Necessità di collaborazione con un laboratorio specializzato.

Durata e risorse umane

Prelievo: 20 minuti in media – Filtrazione: dai 10 ai 20 minuti.

Costo del materiale

- Bottiglia campionatrice da 1 litro con 20 m di fune metrata: 319 € + IVA (SDMO Quiniou).
- Unità di filtrazione (unità in Nalgene in polisulfone (PSF)) : 200 €
- Filtri da 45 μm : 76 € + IVA per 100 unità.

Costo delle analisi: 500 € + IVA per ogni lago (con 2 campioni, fondo e superficie)

Parametri	Determinazioni		Unità	Metodo	Metodi alternativi	Norma	Interessi della misura
Parametri globali	pH			Elettrometria		NF T 90-008	Il pH influisce direttamente su metabolismo e fisiologia degli organismi viventi (in particolare su riproduzione e sviluppo) ma occorre prestare attenzione perché è fortemente legato all'attività di fotosintesi su scala giornaliera/stagionale (interessante quindi proprio per questo).
Parametri globali	Conducibilità a 25 °C		μS/cm	Correzione automatica di temperatura		NFEN2788/ISO7888	La conducibilità esprime la quantità di sali ionizzabili disciolti in acqua e costituisce un indicatore del grado di mineralizzazione: questa è detta molto debole se la conducibilità delle acque è inferiore ai 50 uS / cm e debole/moderata tra i 50 ed i 200 uS / cm. Un aumento di quel parametro globale può essere un indice di inquinamento (Nisbet et Verneaux, 1970). Può dare un'idea del potenziale di produttività primaria (se la conducibilità è debole, la produzione primaria sarà necessariamente debole; invece, non è vero il contrario).
Parametri globali	Titolo alcalimetrico completo	TAC	meq/l	Titolazione con HCl fino al punto di equivalenza		NFEN ISO 9963-1	Consente di ottenere un'indicazione sul grado di ossidazione dei composti organici. Può fornire un'indicazione sul carattere oligotrofico dei laghi. Fornisce un'idea del potere tampone delle acque di un lago => la capacità a "subire" piogge acide senza che gli altri parametri chimici siano influenzati. Permette anche di avere idea del rapporto CO ₂ /HCO ₃ e quindi della fonte di carbonio disponibile per la produzione primaria.
Parametri globali	Carbonio organico totale	COD	mg/l	Mineralizzazione: persolfato caldo 80°C, rilevamento IR		FDT 90-102	Somma carbonio organico naturale ed antropico. Indicatore della produzione biologica dell'ambiente.
Nutrienti	Azoto Ammonio	NH ₄ ⁺	mg/l	Determinazione spettrofotometrica all'indofenolo		NF T90-015	Informa sull'anossia dell'ambiente. Può risultare della mineralizzazione della materia organica naturale oppure provenire dalle acque piovane, o anche indicare un inquinamento umano. Può anche rivelare una riduzione dei nitrati a causa di batteri autotrofi o ioni ferrosi.
Nutrienti	Azoto Nitriti	NO ₂ ⁻	mg/l	Determinazione spettrofotometrica con reazione di diazotazione	Cromatografia ionica NF EN ISO 10304-1	NF EN ISO 13395	Tenore associato a degradazione della qualità microbiologica dell'acqua. Informa sul livello di anossia. Possono essere presenti in quantità rilevanti nel momento dello scioglimento delle nevi (inquinamento atmosferico da ossidi di azoto). Tossicità accertata per piante ed organismi acquatici. Ione donatore di ossigeno durante il periodo estivo (permette di evitare anaerobiosi).
Nutrienti	Azoto Nitrati	NO ₃ ⁻	mg/l	Colorimetria flusso continuo con riduzione Cadmio	Cromatografia ionica NF EN ISO 10304-1 Spettroscopia UV	NF EN ISO 26777	Inquinamento di origine essenzialmente atmosferica. Possono anche risultare dalla mineralizzazione della materia organica. Contributo essenziale dell'eutrofizzazione. Una parte di azoto minerale è necessaria alla futura potenziale produttività primaria (macrofita utilizza praticamente solo NO ₃).
Nutrienti	Azoto totale	N totale	mg/l	Chemiluminescenza		XP ENV 12260	Permette di dedurre il tenore di azoto organico facendo la differenza con i valori misurati di NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ e NH ₄ ⁺ .
Nutrienti	Ortofosfati	P ortho	mg/l	Colorimetria Murphy et Riley (Molibdato Sb)	Cromatografia ionica NF EN ISO 10304-1	NF EN 1189	Il fosfato è la forma sotto la quale gli esseri viventi, in particolare le alghe, possono assimilare il fosforo. Dal punto di vista chimico, il fosfato è una combinazione di atomi di fosforo ed ossigeno. Le alghe utilizzano questo fosforo minerale sotto forma di ortofosfati, assorbendolo direttamente oppure degradando diversi fosfati organici. Il fosforo minerale partecipa alla

				tartrato e rid. acido ascorbico)			potenziale futura produttività primaria (= fosforo disponibile direttamente al momento della misura).
Nutrienti	Fosforo totale	P totale	mg/l	Mineralizzazione al perossidisolfato in ambiente acido		NF EN 1189	Elementi nutritivi assimilabili, indispensabile per la vita; quando in eccesso nelle acque, provoca eutrofizzazione.
Nutrienti	Silicio	SiO ₂	mg/l	Colorimetria a flusso continuo		NF T09-007	Essenziale per la crescita delle diatomee e del plancton.
anioni e cationi maggiori	Cloruro	Cl ⁻	mg/l	Cromatografia ionica con soppressore chimico		NF EN ISO 10304-1	Tracciante antropico di inquinamento.
anioni e cationi maggiori	Solfato	SO ₄ ²⁻	mg/l				Proviene essenzialmente dalla dissoluzione delle rocce, ma la frazione dovuta ad inquinamento atmosferico sta diventando non trascurabile.
anioni e cationi maggiori	Calcio	Ca ²⁺	mg/l	Spettrometria di assorbimento atomico a fiamma		NF T90-005	Elemento indispensabile per gli organismi lacustri. Proviene per la maggior parte dalla dissoluzione delle rocce (legate al substrato).
anioni e cationi maggiori	Magnesio	Mg ²⁺	mg/l		ICP NF EN ISO 11 885		A che cosa sono legate le variazioni? Questa importante domanda scientifica non ha risposta al momento. In Canada, si è notato che i tenori di calcio diminuiscono regolarmente con un impatto sulla biodiversità lacustre (si sospettano fortemente le piogge acide di "ripulire" il calcio ed il magnesio...)
anioni e cationi maggiori	Sodio	Na ⁺	mg/l			NF T90-020	Nutriente essenziale per la vita acquatica.
anioni e cationi maggiori	Potassio	K ⁺	mg/l		ICPNF EN ISO 11 885		Nutriente essenziale per la vita acquatica.
catione minore	Ferro	Fe ²⁺ /Fe ³⁺	mg/L	Spettrometria di assorbimento atomico a fornello di grafite			Oligoelemento per la vita acquatica: indispensabile in piccole dosi, tossico a dosi superiori (soprattutto sotto forma di Fe ²⁺). Può formare ossidi di ferro che si depongono sulle branchie dei pesci (dipende dal potenziale di redox). Interviene in numerosi processi fotochimici (agente catalizzatore di degradazione di composti organici naturali od antropici).
catione minore	Manganese	Mn ²⁺	mg/L	Spettrometria di assorbimento atomico a fornello di grafite			Interviene in numerosi meccanismi enzimatici (come pure il ferro).

6. MONITORAGGIO TERMICO DEL LAGO

Principi del protocollo

Il cambiamento climatico è causa di importanti modifiche degli ecosistemi su scala mondiale, ed in particolare della temperatura dei sistemi lacustri. Ora, la temperatura è un elemento essenziale del rimescolamento dei livelli delle acque, che condiziona il funzionamento chimico e biologico. Si tratta quindi di eseguire un monitoraggio continuo durante l'anno dell'evoluzione della temperatura dell'acqua in superficie e al fondo dei laghi, con un sistema di misurazioni ricorrenti.

Realizzazione

Materiale occorrente:

- Data logger (minimo 2: fondo e superficie)
Tipo Tinytag modello TG 4100'
 - Temperatura da -40 a +70°C
 - Risoluzione di lettura: 0.01°C
 - Precisione: 0.01°C a 20°C
 - Memoria: 32 000 registrazioni
 - Pila sostituibile dall'utente
 - Intervallo di registrazione: da 1 secondo a 10 giorni



O, per alcuni siti già attrezzati con il Tynitag 4017 o con il modello « HOBO WATER TEMP PRO V2/U22-001 »:

- durata di vita delle batterie: 6 anni in condizioni di uso normale;
- durata della memoria: 2.5 anni con una misura ogni mezz'ora;
- programmazione differita in UTC (Tempo coordinato universale)



Ancoraggio:

1 boa legata ad un corpo morto (pietre trovate sul posto) con una fune (o cavo d'acciaio). Un'ulteriore fune (o cavo di acciaio rivestito) facente da supporto ai data logger ed una zavorra.

- Un sistema induttivo, un PC da campo ed il software

Permette di rilevare i dati del data logger tramite un cavo USB collegato ad un PC sul quale è caricato il software di stoccaggio e trattamento dati.

Il software deve essere installato sul computer prima di recarsi sul campo.

Localizzazione della stazione

La catena di data logger sarà installata in corrispondenza del punto di massima profondità del lago.

Installazione del dispositivo: i data logger sono fissati regolarmente lungo la colonna d'acqua, almeno uno in superficie (a 2 m) ed uno in fondo (a 2 m dal fondale).

Ogni data logger sarà programmato con il relativo software (Tynitag ou Hobo):

Assegnare al dispositivo il nome del lago e la profondità.

NomeDelLago_Parametro_Profondità

Esempio: serie di data logger installata nel lago di Anterne a 2 m sotto la superficie:

ANTERNE_Temp_2m

La frequenza di misurazione (1/ora).

Recupero dei dati

Vedi tutorial Tynitag explorer

Estrarre dall'acqua la fune sulla quale sono fissati i data logger, e grazie al sistema induttivo, a sua volta collegato tramite cavo USB al PC, scaricare i dati per ogni data logger. Si devono conservare i due formati di file, ttd e txt.

Controllare che le batterie siano ancora valide (indicatore sul software tynitag explorer) e riposizionare la serie di data logger.

Operatività del protocollo

Competenze richieste: Nessuna

Durata e risorse umane

Installazione della serie di data logger (1/2 giornata la prima volta)

Rilievo delle misure: 30 minuti ogni anno (in funzione del numero di data logger).

Costo del materiale

Circa 150 € per il data logger.

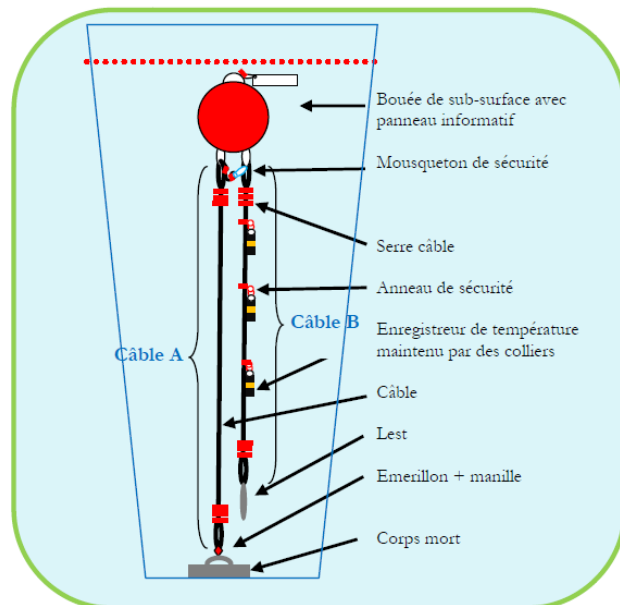
Circa 200 € per il sistema di ancoraggio, a seconda delle opzioni selezionate.

I vari sistemi di ancoraggio:

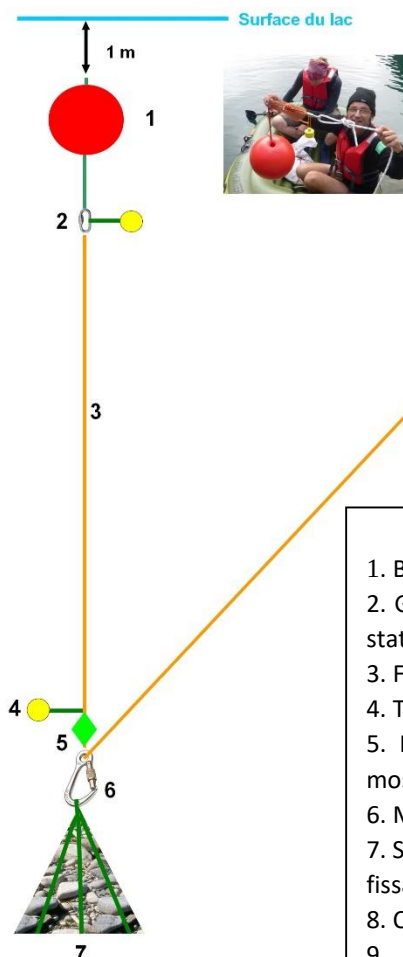
Per quanto possibile, e soprattutto nelle aree protette, le boe saranno sommerse. Si possono installare due sistemi di ancora, con o senza collegamento alla riva.

ONEMA/IRSTEA :

Il montaggio sarà fatto a mano ed adeguato ai vincoli di ogni lago (dimensione e profondità del lago, variazioni stagionali del livello idrometrico...). Una boa è collegata al corpo morto tramite un cavo. Un secondo cavo, legato sotto la boa (cavo B), fa da supporto ai data logger di temperatura installati alle profondità scelte. Dei pressa cavo nei quali sono infilati degli anelli aperti permettono di fissare i termometri. Nel caso dei laghi che presentano un forte interesse paesaggistico, si installeranno le boe a circa 50 cm sotto la superficie.



EDYTEM/Asters :



1. Boa a grande profondità
2. Gancio inox per fissare boa e Tinytag alla fune statica
3. Fune statica (10 mm)
4. Tinytag fissato su fune con nodo Prussik
5. Nodo sulla fune per impedire passaggio nel moschettone
6. Moschettone a vite inox
7. Sacchetto zavorra sintetico, riempito di pietre e fissato sul moschettone con una cordicella
8. Catena metallica
9. Piastrina o sistema di ancoraggio a riva e regolazione tensione fune

7. MONITORAGGIO TERMICO ED OSSIGENAZIONE

Principi del protocollo

Le variazioni di temperature e di ossigeno condizionano numerosi processi fisici, chimici e biologici nei laghi di alta quota, ma a parte alcune misurazioni puntuali, tali variazioni sono ancora poco conosciute. L'attività biologica, il rimescolamento delle acque, oppure anche i cambiamenti climatici fanno variare tali parametri nel tempo. L'utilizzo di un data logger di ossigeno e di temperatura ad alta frequenza (miniDOT) permette quindi di monitorare tale evoluzione nelle acque del lago (in particolare in profondità, per rilevare eventuali periodi di anossia).

Realizzazione

Materiale occorrente

Uno o più miniDOT (prioritariamente in fondo per rilevare eventuali periodi di anossia).

- **Ossigeno** dal 0 al 150%, con una risoluzione di 0.01 mg/l
- Precisione: 5%
- **Temperatura** da 0 a +35°C
- Precisione: 0.01°C
- Memoria: fino a 500.000 registrazioni
- Pila AA (preferibilmente al litio) sostituibile dall'utente
- Intervallo di registrazione: 1 – 60 minuti
- Profondità massima di installazione: 100 m

- un computer con Java v1.7 e successive. *Controllare prima di recarsi sul campo ed aggiornare Java se necessario.*



1° installazione del miniDOT – procedura per la prima installazione soltanto

In precedenza (preferibilmente in ufficio), **installare l'Anti-Fouling Kit** (fornito dal costruttore), una volta per ogni miniDOT. Installare tutti gli elementi come sulla foto.

Attenzione, togliere al massimo 3 viti di fissazione sul sensore (come sull'immagine) prima di aggiungere gli elementi in metallo e plastica e avvitare nuovamente (il fatto di togliere le 6 viti potrebbe causare danni al sensore).

Aprire il miniDOT con cura (prestare attenzione a non bagnare il miniDOT e a non perdere il sacchetto anti-umidità all'interno).

Collegare il miniDOT al PC con un cavo USB – mini USB (fornito con il sensore ma simile a quelli che si trovano in commercio). Il miniDOT appare sul computer come device esterno. Questo contiene:

- il manuale,
- una cartella (e.g. 7450-580276 -> numero di serie del miniDOT e futuro luogo di stoccaggio dei dati),
- i software Concatenate, Control e Plot (.jar).



Aprire il software miniDOT Control.jar e cliccare su *Connect*

Verificare i parametri. L'unica azione da compiere consiste nell'impostare **l'intervallo di misurazione su 60 minuti** (in basso)

Chiudere il software e scollegare il miniDOT come fosse una chiavetta USB.

Sul campo:

Aprire il miniDOT con cura (prestare attenzione a non bagnare il miniDOT e a non perdere il sacchetto anti-umidità all'interno) **ed attivare le misurazioni spostando il tasto su *Record*** (5 led verdi lampeggiano sopra PME).

Richiudere il miniDOT (stringere per assicurare la tenuta, senza però rompere né bloccare il passo della vite)

Togliere (e conservare) il tappo di gomma fornito dal costruttore per proteggere il miniDOT fuori dall'acqua.

Installare saldamente (con una cordicella o altro) **il miniDOT sul posto appropriato sulla serie di data logger** (almeno al fondo per ogni lago; si può togliere il data logger posizionato vicino e sistemarlo altrove, in quanto i miniDOT misurano sia l'ossigeno che la temperatura dell'acqua). Lasciare pendere il miniDOT in acqua lungo la fune (metterlo verso l'alto potrebbe favorire la sedimentazione sul sensore e quindi compromettere le misurazioni).

Procedura di routine: Per raccogliere i dati e rilanciare il sensore

> Esportazione dati

Tirare fuori il miniDOT dall'acqua, asciugare accuratamente la parte esterna salvo il sensore, quindi aprire cautamente (attenzione a non bagnare il miniDOT e a non perdere il sacchetto anti-umidità all'interno)

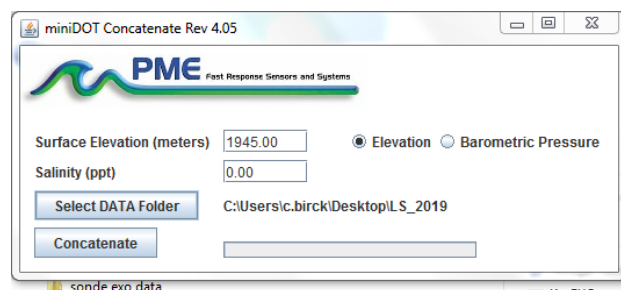
Non è necessario spingere il pulsante su *Halt* se si desidera soltanto esportare i dati e immergere nuovamente il dispositivo per la prossima serie di misurazioni.

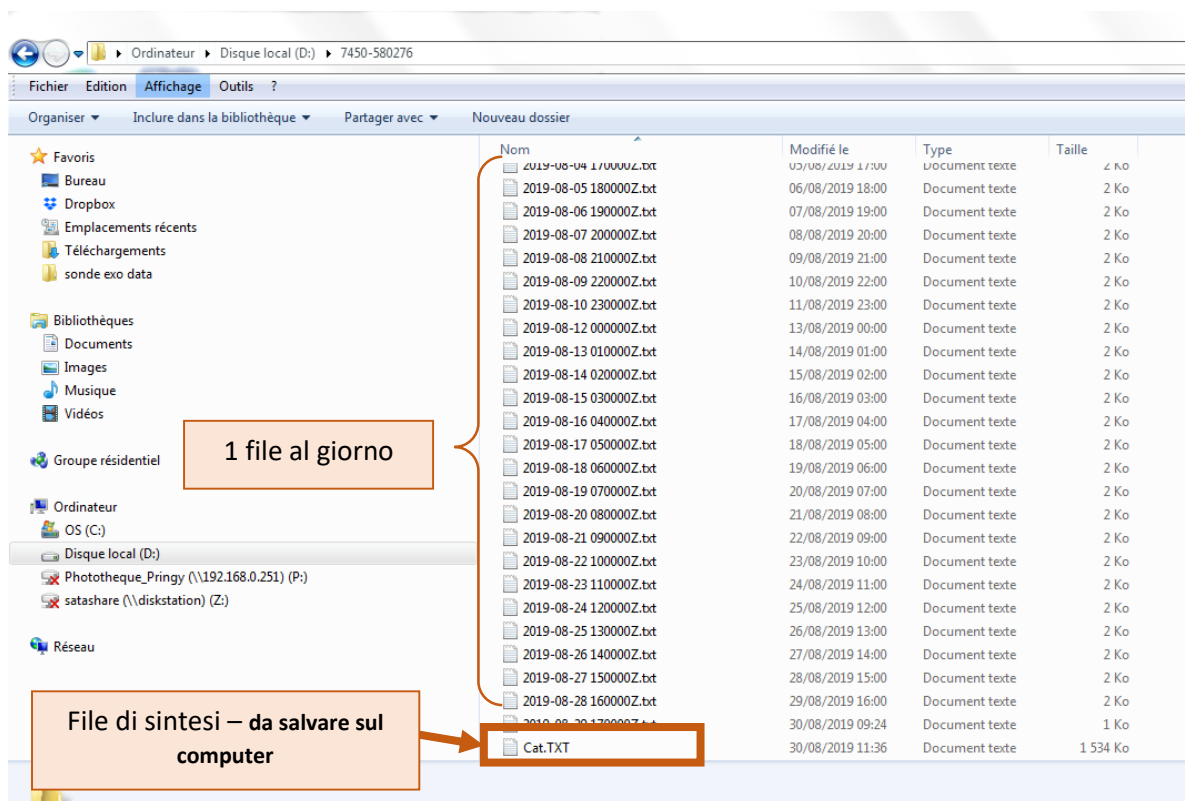
Collegare il miniDOT al PC con un cavo USB – mini USB (fornito con il sensore ma simile a quelli che si trovano in commercio). Il miniDOT appare sul computer come device esterno.

Il miniDOT registra un file txt ogni giorno nella cartella, con il numero di serie.

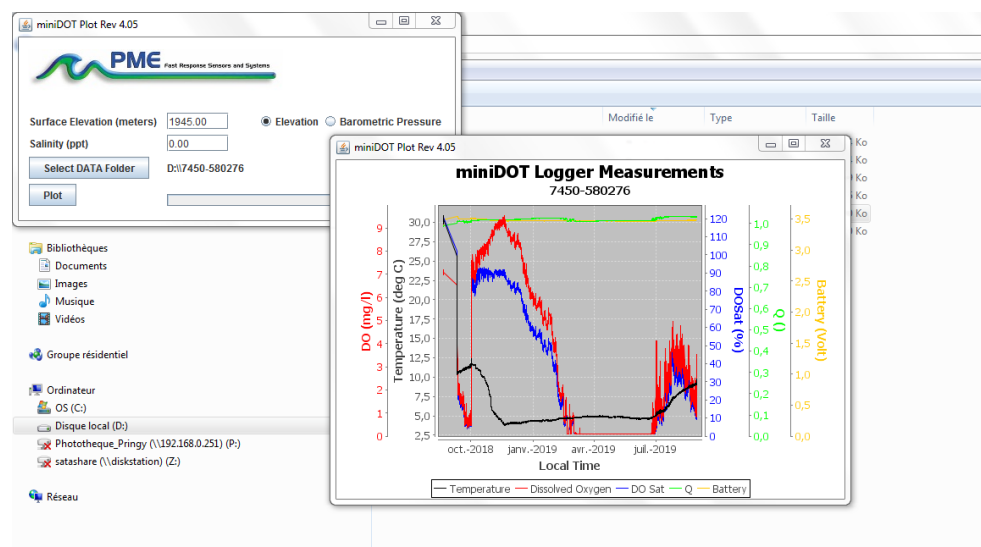
Aprire il software miniDOTConcatenate.jar per raggruppare i dati giornalieri in un unico file txt. Indicare la corretta altitudine in metri.

Cliccare su Concatenate. Nella cartella, viene creato un file txt di sintesi, che si può salvare sul computer.





1. Copiare la cartella con il numero di serie sul computer (contiene i file txt con i dati)
2. **Aprire il software miniDOTPlot.jar.** indicare la giusta altitudine in metri. Cliccare su Plot. Viene visualizzato il diagramma; **salvarlo** (clic destro).



3. Chiudere il software e scollegare il miniDOT come fosse una chiavetta USB.

Sostituzione pile:

*Le pile AA (preferibilmente al litio) vanno sostituite **ogni due anni**.*

Dopo aver esportato e salvato i dati, mettere il pulsante del miniDOT su Halt.

Sostituire le pile.

Rilanciare il miniDOT con il PC e controllare, con miniDOTcontrol, che l'intervallo di misurazione è di 60 minuti.

4. **Per riavviare le misurazioni**, controllare che il tasto è su **Record** all'interno del sensore. Non scordare il sacchetto anti-umidità.

5. **Se necessario, pulire il sensore e/o l'antifouling kit** (può essere necessario utilizzare un cacciavite a croce ed un po' di calma -> possibilmente da non fare sull'imbarcazione).

C'è una **guarnizione** a livello del passo della vite. Se è danneggiata, sostituirla con un'altra, fornita dal costruttore.

Operatività del protocollo

Competenze richieste

Nessuna

Rilevamento delle misurazioni: 30 minuti ogni anno (in funzione del numero di miniDOT).

Costo del materiale

Ogni miniDOT costa circa 1.300 € (abbiate cura ☺ !!).