

Università degli Studi di Parma

**APPLICAZIONE DELL' INDICE BIOTICO DEL
FANGO (S.B.I.) NEL PROCESSO DI
DEPURAZIONE A FANGHI ATTIVI**

Paolo Madoni

Dipartimento di Scienze Ambientali

2004

1. LA MICROFAUNA DEI FANGHI ATTIVI

Il processo a fanghi attivi ha lo scopo di raggiungere la massima riduzione di BOD e di nutrienti dai liquami trattati, con la minima produzione di fanghi biologici. I protisti sono importanti costituenti delle comunità implicate nella rimozione di sostanza organica biodegradabile e di batteri dispersi nella miscela aerata in questo tipo di processo di trattamento dei liquami. I trattamenti biologici, infatti, si basano sul processo di autodepurazione tipico dei corsi d'acqua quale risultato dell'attività delle comunità microbiche. Il processo di trattamento a fanghi attivi, tuttavia, differisce dai corsi d'acqua per le seguenti caratteristiche:

- elevato flusso di sostanza organica all'interno del sistema;
- accelerata attività dei processi di decomposizione;
- prevalenza di organismi eterotrofi e, quindi, della catena trofica del detrito;
- breve turnover della biomassa.

Queste caratteristiche influenzano profondamente gli organismi in grado di vivere in questi sistemi artificiali, tanto che tra gli organismi eterotrofici solo i protisti e i piccoli metazoi con cicli vitali più corti del tempo di residenza del fango possono colonizzare il fango attivo.

Gli impianti biologici per il trattamento dei liquami possono essere considerati come ecosistemi artificiali sottoposti a condizioni estreme. Come in ogni altro sistema biologico, la biocenosi che si sviluppa nella vasca di aerazione di un impianto a fanghi attivi, ha una peculiare struttura (componenti e fattori) e segue esatte dinamiche (nel tempo e nello spazio) (Fig. 1). Nei fanghi attivi la componente biotica è rappresentata dai decompositori (batteri, funghi) che prendono l'energia per il loro sviluppo dalla sostanza organica disciolta nel liquame, e dai consumatori (flagellati eterotrofici, ciliati, rizopodi, e piccoli metazoi) che predano i batteri dispersi e altri organismi. I protozoi ciliati sono molto numerosi in tutti i tipi di processi di trattamento aerobico dei liquami; essi normalmente raggiungono la densità di

STRUTTURA	- Componenti abiotiche:	struttura tecnologica dell'impianto
	- Componenti biotiche:	<u>decompositori</u> (batteri, funghi), <u>consumatori</u> (ciliati, flagellati, piccoli metazoi)
	- Fattori abiotici:	<u>fisici</u> (clima, temperatura, luce, turbolenza), <u>chimici</u> (natura del liquame, ossigeno disciolto), <u>alimentari</u> (qualità e quantità di cibo)
	- Fattori biotici:	relazioni intra- e interspecifiche (competizione, predazione)
FUNZIONAMENTO	- Nello spazio:	catene e reti alimentari
	- Nel tempo:	successione ecologica

Fig. 1 Struttura dell'ecosistema artificiale "fango attivo"

10.000 cellule per ml di miscela aerata di fango attivo. Ciò comporta che essi rappresentino circa il 9% dei solidi sospesi nel mixed-liquor (MLVSS, peso secco) (Madoni, 1994a). Sebbene siano state segnalate oltre 230 specie di protozoi (di cui 33 flagellati, 25 rizopodi, 6 actinopodi e 160 ciliati) nei vari tipi di trattamento aerobico, solo un limitato numero di esse ricorre frequentemente (Curds & Cockburn, 1970a; Madoni & Ghetti, 1981). La Tabella 1 mostra la lista dei più importanti ciliati trovati nel fango attivo. La maggior parte dei ciliati presenti negli impianti di trattamento biologico dei liquami si nutre di batteri dispersi. Alcuni ciliati, tuttavia, sono predatori di altri ciliati; altri ancora si alimentano di una varietà di organismi

comprendente ciliati, flagellati e batteri dispersi.

I ciliati batteriofagi dei fanghi attivi possono essere suddivisi in tre gruppi funzionali sulla base del loro comportamento:

- 1) **natanti** (*free-swimmers*) che nuotano nella frazione liquida e rimangono in sospensione nella vasca di sedimentazione;
- 2) **mobili** (*crawlers*) che abitano la superficie del fiocco di fango;
- 3) **sessili** (*attached*) che sono stabilmente fissati, mediante un peduncolo, al fiocco di fango e quindi precipitano con esso durante la sedimentazione.

Il processo a fanghi attivi si basa sulla forma

Tab. 1. Lista dei protozoi ciliati comunemente osservati nei fanghi attivi e loro ruolo trofico

CARNIVORI	BATTERIOFAGI		
	Natanti	Mobili	Sessili
<i>Amphileptus</i> sp.	<i>Cinetochilum margaritaceum</i>	<i>Acineria uncinata</i>	<i>Carchesium</i> spp.
<i>Coleps hirtus</i> ¥	<i>Colpidium colpoda</i>	<i>Aspidisca cicada</i>	<i>Epistylis</i> spp.
<i>Litonotus</i> spp.	<i>Cyclidium glaucoma</i>	<i>Aspidisca lynceus</i>	<i>Opercularia coarctata</i>
<i>Plagiocampa rouxi</i>	<i>Dexiostoma campylum</i>	<i>Chilodonella uncinata</i>	<i>Opercularia microdiscus</i>
<i>Prorodon</i> sp.	<i>Dexiotricha</i> sp.	<i>Drepanomonas revoluta</i>	<i>Opercularia minima</i>
<i>Spathidium</i> spp.	<i>Glaucoma scintillans</i>	<i>Euplotes affinis</i>	<i>Stentor</i> spp.
Suttori:	<i>Paramecium</i> spp.	<i>Euplotes moebiusi</i>	<i>Vaginicola crystallina</i>
<i>Acineta</i> spp.	<i>Pseudocohnilembus pusillum</i>	<i>Euplotes patella</i>	<i>Vorticella aquadulcis</i>
<i>Metacineta</i> sp.	<i>Sathrophilus</i> sp.	<i>Stylonychia</i> spp.	<i>V. convallaria</i>
<i>Podophrya</i> spp.	<i>Spirostomum teres</i>	<i>Trithigmostoma cucullulus</i>	<i>V. microstoma</i> -complex
<i>Tokophrya</i> spp.	<i>Tetrahymena</i> sp.	<i>Trochilia minuta</i>	<i>V. infusionum</i> - complex
	<i>Uronema nigricans</i>		<i>Zoothamnium</i> spp.

¥ onnivoro

zione di aggregati batterici (fiocchi di fango) su cui altri microrganismi possono svilupparsi. Perciò una popolazione di organismi con la capacità di attaccarsi (o di rimanere strettamente associata) al fango ha un distinto vantaggio su altre popolazioni di organismi che nuotano liberamente nella frazione liquida e che sono quindi soggetti ad essere dilavati fuori dal sistema attraverso l'effluente.

Altra importante caratteristica dei ciliati nei fanghi attivi è il loro comportamento alimentare. E' già stato evidenziato sopra che la maggior parte dei ciliati dei fanghi attivi si nutre di batteri dispersi nella miscela aerata. Tuttavia, vi sono ciliati come gli ipotrichi *Aspidisca* e *Euplotes* ed altri come *Chilodonella* che, avendo la bocca posta in posizione ventrale, possono "raschiare" i batteri adagiati sulla superficie del fiocco. Tutti i ciliati batteriofagi creano delle correnti

ciliari per incanalare i batteri sospesi nella frazione liquida verso la regione orale (Fig. 2). Così, mentre ciliati natanti e sessili entrano in competizione per i batteri dispersi nella frazione liquida, i mobili, che sono in stretta prossimità della superficie del fiocco di fango occupano una differente nicchia ecologica nutrendosi di particelle che sono solo lievemente adagate sul fiocco e che vengono asportate facilmente attraverso le correnti ciliari.

Gli impianti di trattamento dei liquami possono ospitare anche protozoi parassiti come *Giardia* e *Cryptosporidium* che sono la causa di malattie sia nell'uomo che negli animali. *Cryptosporidium* è largamente diffuso ed è un patogeno che provoca diarrea nell'uomo e negli animali. Le vie di contagio sono il contatto con elementi infetti e le acque inquinate. Tuttavia, la trasmissione attraverso l'acqua di questo parassita è stata

individuata solo da pochi anni. *Giardia* è un protista ben noto per la sua capacità di causare infezioni intestinali croniche nell'uomo. Le acque contaminate da feci sono la via di diffusione di questo patogeno. Le cisti di questi organismi spesso rimangono vitali per diversi mesi nelle acque; inoltre esse sono più resistenti alla disinfezione rispetto ai coliformi fecali che sono usati come indicatori di inquinamento fecale. Le cisti e le oocisti di questi due parassiti hanno mostrato una più alta resistenza al trattamento dei liquami rispetto ad altri indicatori di contaminazione batterica (Hibler & Hancock, 1990; Rose, 1990). Da studi effettuati su liquami grezzi e depurati è emerso che *Giardia* può essere presente in concentrazioni di 10-13.000 cisti per litro nell'influyente e di 10-720 cisti per litro nell'effluente, mentre il numero medio di cisti di *Cryptosporidium* oscilla da 10 a 170 cisti/litro nei liquami grezzi e da 10 a 60 cisti/litro negli effluenti trattati (Bukhari *et al.*, 1997). La rimozione di cisti durante il trattamento dei liquami oscilla tra l'84% e il 99%. Rispetto ad altri tipi di processo, il fango attivo ha mostrato la massima efficienza di rimozione di cisti (92%). La completa inattivazione delle cisti è stata ottenuta con la digestione anaerobica a 35 °C per un periodo di quattro giorni seguita dallo stoccaggio dei fanghi digeriti.

Tra i protozoi sarcodini sono state osservate negli impianti a fanghi attivi alcune specie di

amebe libere potenzialmente patogene, tutte appartenenti al genere *Acanthamoeba* (Ramirez *et al.*, 1993). La presenza di *Acanthamoeba* nei fanghi attivi rappresenta un potenziale rischio dal momento che questi protisti possono diffondersi nell'atmosfera attraverso i fenomeni di aerosol che si sviluppano sopra le vasche di aerazione.

Ruolo della microfauna nei fanghi attivi

E' stato dimostrato che i protozoi ciliati migliorano la qualità dell'effluente attraverso la predazione della maggior parte di batteri dispersi nella miscela aerata che continuamente entrano nel sistema con il liquame (Curds *et al.*, 1968). In assenza di ciliati, infatti, l'effluente del sistema è caratterizzato da BOD più elevato e da alta torbidità per la presenza di molti batteri dispersi. I ciliati, inoltre, predano anche i batteri patogeni e quelli fecali. Negli effluenti di impianti a fanghi attivi in cui non vi erano ciliati la presenza di *Escherichia coli* risultava essere, in media, il 50% di quella osservata nel liquame in ingresso alla vasca di aerazione. In presenza di ciliati tale percentuale scendeva però al 5% (Curds & Fey, 1969).

Nella vasca di aerazione degli impianti a fanghi attivi si stabilisce una vera e propria rete trofica il cui diagramma semplificato è

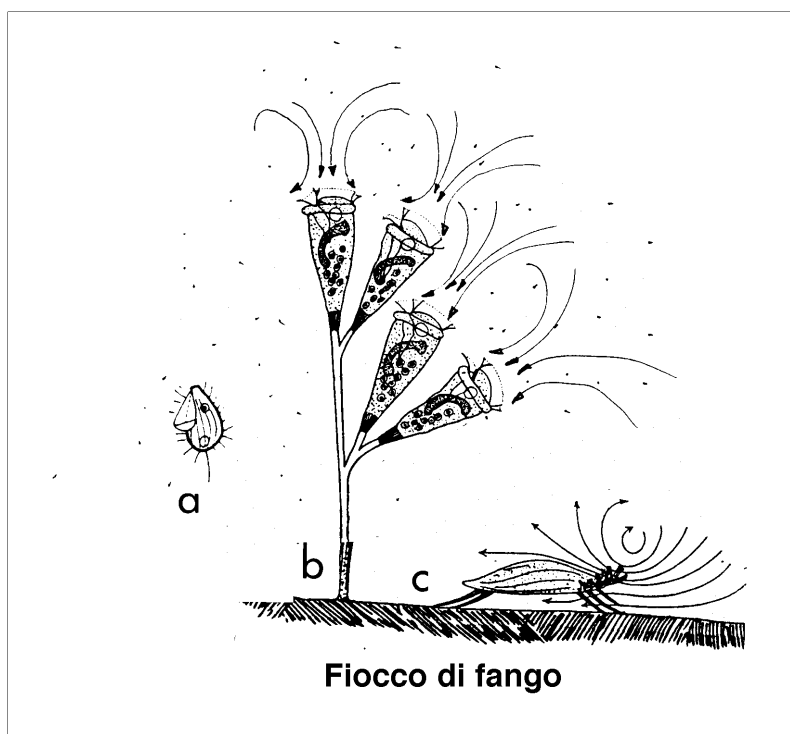


Fig. 2. Meccanismi di filtrazione dei batteri da parte dei vari gruppi di ciliati batteriofagi. Ciliati natanti (A) e sessili (B) competono per i batteri dispersi nel mixed-liquor, mentre i ciliati mobili (C) raccolgono i batteri dispersi che si trovano adagiati sulla superficie del fiocco.

illustrato in Figura 3. I sistemi biologici di questi impianti consistono di popolazioni in continua competizione per il cibo. La crescita dei decompositori, prevalentemente batteri eterotrofici, dipende dalla qualità e quantità di sostanza organica disciolta nella miscela aerata (DOM). Per i predatori, invece, la crescita dipende dalla disponibilità di prede. I batteri dispersi sono quindi il cibo per i flagellati eterotrofici e per i ciliati batteriofagi che a loro volta diventano preda degli organismi carnivori. Le relazioni di competizione e predazione creano

oscillazioni e successioni di popolazioni sino al raggiungimento di una stabilità dinamica (Fig. 4). Ciò è strettamente dipendente dalle manovre gestionali e dalle caratteristiche progettuali dell'impianto atte a garantire la maggior efficienza depurativa (Madoni, 1986).

Ricerche effettuate sulla modalità di colonizzazione e sulla successione delle popolazioni nei fanghi attivi, hanno evidenziato il ruolo dei protozoi come indicatori di efficienza degli impianti e hanno dimostrato l'effetto determinante delle condi

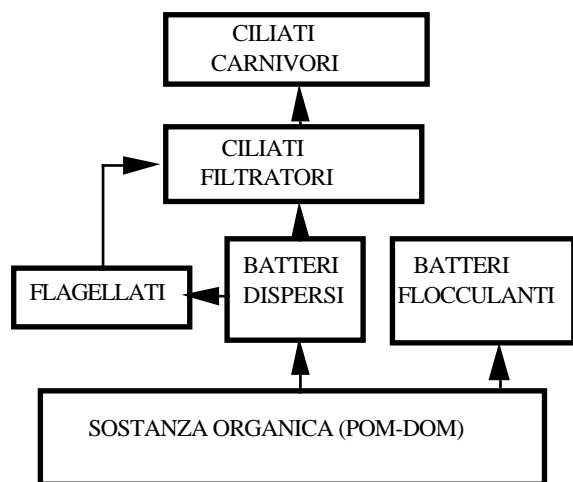


Fig. 3. Rete trofica nei fanghi attivi. Le frecce indicano il percorso della materia e dell'energia.

zioni ambientali nella vasca di aerazione sulla comunità di ciliati (Curds, 1966, 1971; Madoni & Poli, 1981; Madoni, 1982). In particolare è stato osservato che in vasche di aerazione identiche sia in termini di costruzione che di funzionamento (carico organico, liquame, aerazione, età del fango) si sviluppano comunità di protozoi ciliati molto simili per struttura in specie. Questo a conferma degli effetti determinanti delle condizioni ambientali nella vasca di aerazione sulla struttura della comunità di ciliati.

Un altro importante risultato ottenuto dalle ricerche sulla dinamica di colonizzazione della microfauna, è l'identificazione di tre fasi distinte che si susseguono dalla fase di innesco del sistema sino alla fase di stabilizzazione (Madoni & Antonietti, 1984). La fase iniziale dell'impianto è caratterizzata dalla presenza di specie tipiche del liquame da trattare (Fig. 5). Queste specie "pioniere" sono rappresentate principalmente da ciliati

natanti e da piccoli flagellati che sono indipendenti dalla presenza di fango; esse non possono essere considerate tipiche componenti dell'ecosistema "vasca di aerazione". Con il formarsi del fango attivo, infatti, esse devono competere con specie meglio adattate all'ambiente e rapidamente declinano. La seconda fase è caratterizzata dal forte sviluppo di ciliati tipici della vasca di aerazione; in questa fase la comunità presenta un'alta ricchezza in specie, ma la composizione della comunità varia con il progressivo aumento della quantità di fango. Le forme natanti (principalmente ciliati imenostomi) sono presenti solo durante i primi giorni di colonizzazione e sono gradualmente sostituite dalle forme sessili e mobili. La fase finale è caratterizzata da una microfauna la cui struttura in specie riflette le condizioni stabili raggiunte nella vasca di aerazione con un bilanciamento tra carico organico e fango prodotto, rimosso e riciclato. Ciascuna delle tre fasi è caratterizzata da una tipica struttura in specie. Ciliati natanti batteriofagi come gli imenostomi *Colpidium*, *Cyclidium* e *Paramecium*, sono tipici della prima fase di colonizzazione, mentre i peritrichi sessili come *Epistylis*, *Vorticella* e ciliati mobili come *Aspidisca*, sono tipici della terza fase. Un impianto a regime non dovrebbe ospitare specie caratteristiche della fase di colonizza-

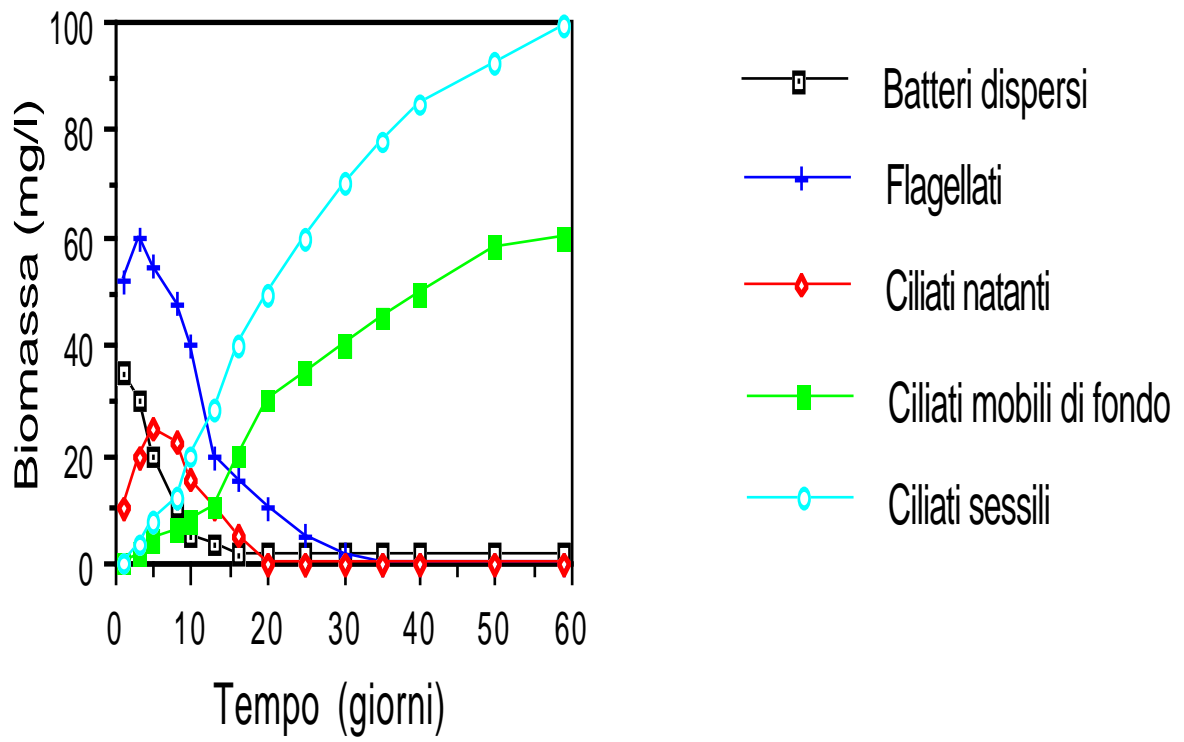


Fig. 4. Dinamica di colonizzazione del fango attivo

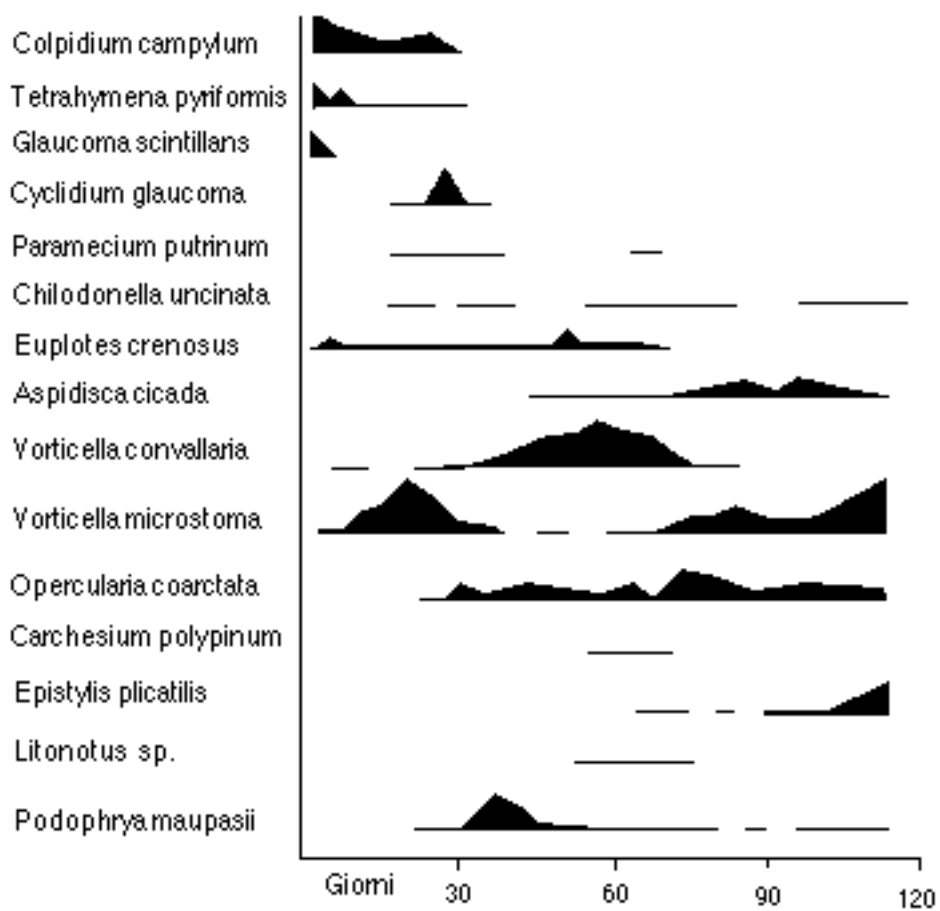


Fig. 5. Successione di specie durante la colonizzazione di un fango attivo

zione, a meno di malfunzionamenti che provochino un regresso nelle condizioni ambientali come perdite di fango, carenze di ossigenazione, variazioni nel tempo di ritenzione del liquame e dell'età del fango, variazioni importanti nel carico organico in ingresso.

Tuttavia, alcune condizioni operative dell'impianto possono condizionare pesantemente sulla struttura in specie della microfauna. Un veloce passaggio del liquame (o una breve età del fango) attraverso il sistema può rimuovere diversi organismi della comunità microbica e alcune specie che non possono riprodursi abbastanza velocemente da compensare tale perdita potranno essere perse dal sistema. Quindi, i fanghi attivi con tempi di contatto troppo veloci tenderanno a favorire specie con rapidi tassi di riproduzione, generalmente i protozoi più piccoli come i flagellati eterotrofici e i piccoli ciliati (< 30 µm). Gli impianti a fanghi attivi con lenti flussi idraulici e alta età del fango ospiteranno la più alta diversità di organismi comprendendo anche i piccoli metazoi che, contrariamente alla maggior parte dei protozoi, hanno lunghi tempi di generazione. I sistemi ad alto carico organico richiedono una più alta quantità di ossigeno, e in caso di carenza di ossigenazione, saranno favoriti gli organismi quali flagellati eterotrofici, amebe nude e piccoli ciliati natanti che normalmente si trovano in habitat inquinati da sostanza

organica. Al diminuire del carico organico, la diversità degli organismi che possono colonizzare la miscela aerata nella vasca di aerazione aumenta (Fig. 6). Negli impianti a basso carico del fango (ad esempio gli impianti ad ossidazione totale) si osserva un numero più alto di specie ma il numero degli individui è generalmente basso.

La struttura in specie della microfauna è quindi un valido strumento diagnostico ad integrazione dei parametri con cui solitamente si valuta la efficienza biologica di un impianto. Secondo il criterio generale degli indicatori biologici, la presenza o la scomparsa di specie particolari, così come l'intera composizione della microfauna, può essere considerata buon indicatore dell'efficienza biologica di depurazione del fango attivo. Per quanto riguarda in particolare i protozoi ciliati, peculiare importanza rivestono sia i gruppi tassonomici che funzionali (natanti, mobili, sessili).

La struttura della microfauna è quindi un valido indicatore di efficienza biologica dell'impianto. In sintesi, un efficace fango attivo presenta le seguenti caratteristiche:

- Alta densità della microfauna ($\geq 10^6$ organismi per litro);
- microfauna composta principalmente da forme mobili e sessili, con piccoli flagellati e ciliati natanti praticamente assenti;

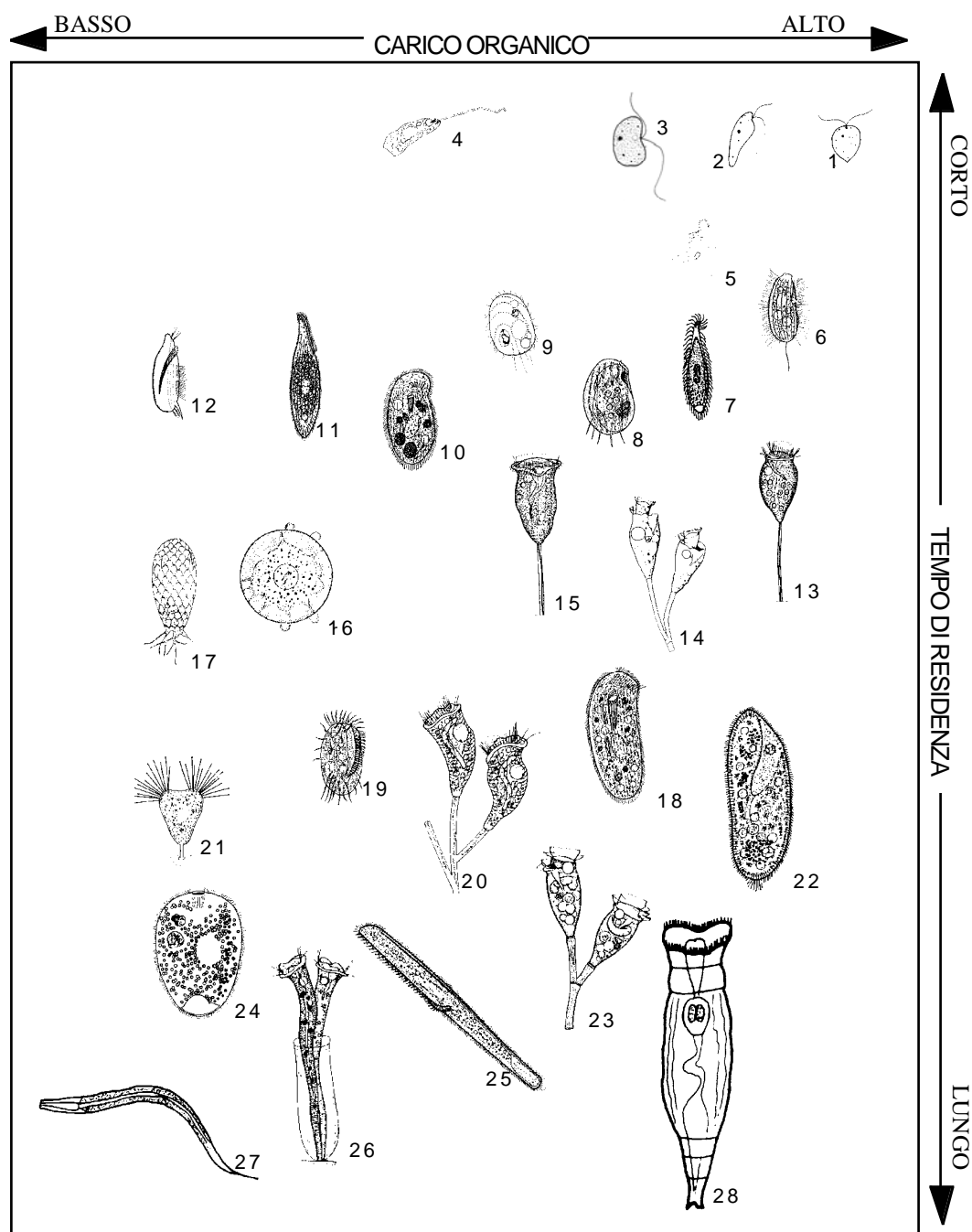


Fig. 6. Relazione tra carico del fango, età del fango e presenza di specie appartenenti alla microfauna dei fanghi attivi. 1-3 Piccoli flagellati; 4 Grandi flagellati; 5 Amebe nude; 6 Uronema nigricans; 7 Acineria uncinata; 8 Aspidisca; 9 Cinetochilum margaritaceum; 10 Chilodonella; 11 Litonotus; 12 Trochilia minuta; 13 Vorticella microstoma; 14 Opercularia; 15 V. convallaria; 16 Arcella; 17 Euglypha; 18 Trithigmostoma; 19 Euplotes; 20 Carchesium; 21 Suttori; 22 Paramecium; 23 Epistylis; 24 Prorodon; 25 Spirostomum; 26 Vaginicola; 27 Nematodi; 28 Rotiferi.

- comunità altamente diversificata, dove nessun gruppo o specie domina numericamente sugli altri oltre un fattore 10.

Quando questo quadro non si presenta, l'identificazione del gruppo dominante permette di diagnosticare il particolare stato di funzionalità dell'impianto (Madoni, 1986). Alcuni esempi sono riportati in Tabella 2. Inoltre, l'identificazione delle specie della microfauna permette di ottenere informazioni più complete sulla efficienza biologica della vasca di aerazione. Infatti, se è vero, come è vero, che una microfauna ricca di forme sessili e mobili indica una migliore efficienza rispetto a quella in cui dominano i ciliati natanti, è anche vero che differenti

combinazioni di specie sessili e mobili esprimono comunità diverse tra loro anche per differenti condizioni ambientali. Ciascuna specie è in grado di aggiungere informazioni più dettagliate rispetto a quelle ottenute dai soli gruppi funzionali. Un esempio ci è fornito dai ciliati sessili *Vorticella convallaria* e *V. microstoma*. Questi due ciliati peritrichi sono in diretta competizione nel fango attivo. *V. microstoma* si osserva soprattutto durante la prima fase di colonizzazione e poi viene sostituita da *V. convallaria* che raggiunge alte densità quando l'impianto è a regime. In condizioni di scarsa aerazione, tuttavia, si osserva l'alternanza tra le due specie dovuta alla loro differente tolleranza alla carenza di ossigeno (Fig. 7).

Tab.2. Alcune situazioni particolari nel funzionamento dell'impianto che possono essere rivelate all'analisi microscopica.

Gruppo dominante	Efficienza	Possibili cause
Piccoli flagellati	scarsa	Fango poco ossigenato; carico troppo forte; apporto di sostanze in fermentazione
Ciliati natanti	mediocre	Tempo di contatto del liquame troppo breve; fango poco ossigenato carico troppo forte
Ciliati mobili	buona	
Ciliati sessili + mobili	buona	
Ciliati sessili	in ribasso	Fenomeni transitori (carico discontinuo; estrazione recente di fanghi; lento tempo di ricircolo)
Piccole amebe nude e flagellati	scarsa	Carico elevato non facilmente degradabile
Amebe con teca	buona	Basso carico del fango; liquame diluito; buona nitrificazione

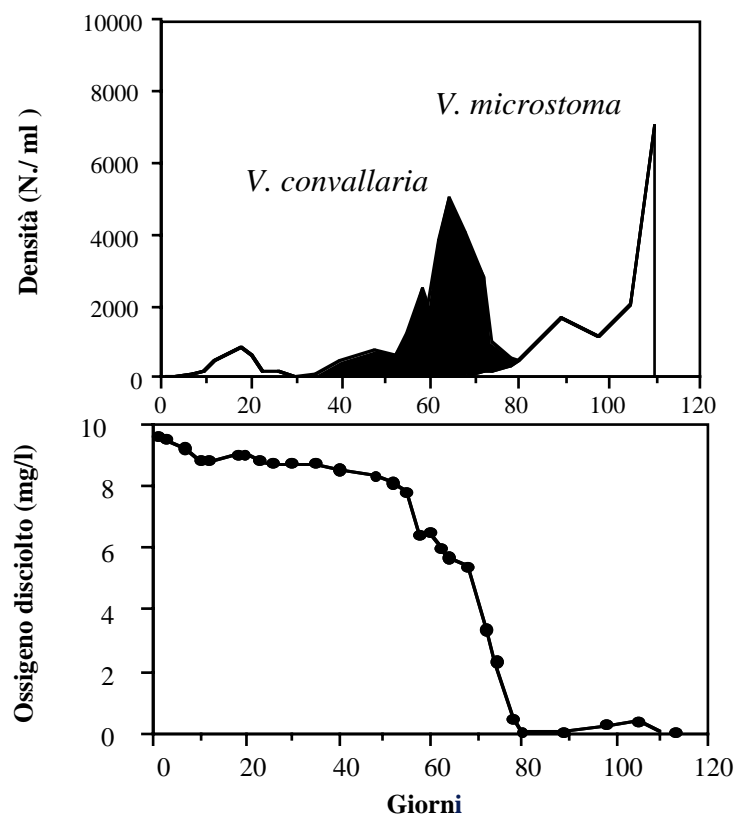


Fig. 7. Dinamica di due specie di Vorticella in rapporto alla variazione di ossigeno disciolto.

2. SPECIE E GRUPPI DOMINANTI

Quantificare il valore indicatore della microfauna è un compito difficile in quanto vi sono gruppi che sono più o meno tolleranti ai differenti fattori ambientali (esterni e gestionali), mentre la efficienza dell'impianto è il risultato dell'azione simultanea di molti di questi fattori. Le relazioni esistenti tra i vari gruppi della microfauna e le principali condizioni operative dell'impianto sono state studiate estesamente attraverso una indagine ad ampio raggio (Madoni, 1994b). Numerosi impianti a fanghi attivi, tra i quali vi erano sia impianti convenzionali che a stabilizzazione e contatto e ad aerazione prolungata, sono stati esaminati allo scopo di esplorare un ampio spettro di differenti condizioni operative. La tabella 3 mostra i coefficienti di correlazione tra 9 gruppi della microfauna e 6 parametri fisico-chimici e gestionali. Questi risultati hanno confermato le osservazioni di precedenti ricerche e hanno permesso di selezionare i componenti della microfauna in gruppi positivi e negativi. I gruppi positivi sono i ciliati mobili, i sessili e le amebe con teca; i gruppi negativi sono i piccoli flagellati,

i ciliati natanti e i peritrichi *Vorticella microstoma* e *Opercularia* spp. Densità e diversità della microfauna, inoltre, sono risultate essere altamente correlate con la efficienza biologica dell'impianto.

2.1. Densità e diversità

Diversi studi hanno dimostrato che il numero di protozoi ciliati che vivono in un impianto funzionante in modo normale è dell'ordine di 10^6 individui per litro. Quando il loro numero scende al di sotto di 10^4 per litro, esso indica insufficiente depurazione (Curds, 1975; Drakides, 1980; Madoni, 1981). In questo caso si osserva una intensa proliferazione di batteri dispersi che provocano un aumento di BOD e di torbidità nell'effluente. Un alto numero di ciliati ($> 10^7$ per litro) indica, al contrario, una buona depurazione ed un'ottima efficienza. La microfauna di un impianto funzionante in modo normale è sempre altamente diversificata, ovvero composta da differenti gruppi di organismi, ciascuno dei

Tab. 3. Coefficienti di correlazione tra protozoi e condizioni operative dell'impianto, ottenuti analizzando 44 impianti a fanghi attivi (* $P < 0.01$, ** $P < 0.001$)

	DO	Efficienza nitrificazione	BOD rimosso	Torbidità effluente	Età del fango	MLSS
Piccoli flagellati	-0.652**	-0.596**	-0.798**	0.836**	-0.583**	-0.736**
Ciliati natanti	-0.651**	-0.549**	-0.829**	0.725**	-0.668**	-0.753**
Ciliati mobili	0.616**	0.620**	0.784**	-0.611**	0.534**	0.534**
Ciliati sessili	0.340	-0.029	0.432*	-0.516**	0.171	0.266
<i>V. microstoma</i>	-0.676**	-0.504**	-0.679**	0.648**	-0.638**	-0.722**
<i>Opercularia</i> spp.	-0.745**	-0.597**	-0.763**	0.676**	-0.008	-0.181
Amebe con teca	0.727**	0.912**	0.760**	-0.583**	0.464*	0.464*
Densità microfauna	0.626**	0.429*	0.762**	-0.768**	0.335	0.495**
Numero di specie	0.778**	0.645**	0.923**	-0.841**	0.487**	0.591**

quali con diverse specie. Nessun gruppo o specie domina sugli altri componenti della microfauna, anche se i rapporti tra i vari gruppi o specie possono variare. Al contrario, una microfauna dominata da una specie o gruppo indica disfunzioni trofiche dovute all'azione di fattori limitanti che impediscono lo sviluppo della maggior parte di specie, favorendo lo sviluppo delle forme più tolleranti a quei fattori. I più comuni fattori limitanti sono generalmente la presenza di sostanze tossiche nel liquame in ingresso, carico organico troppo forte o troppo debole, forte estrazione o perdita di fango, carenza di ossigenazione.

Recenti risultati ottenuti da un survey di protozoi da diversi impianti a fanghi attivi (De Marco *et al.*, 1991), confermano i dati ottenuti nei precedenti lavori. Questi autori hanno classificato l'abbondanza della microfauna in tre classi ($<10^4$, $10^4 - 10^6$, $>10^6$) secondo l'efficienza dell'impianto (non

efficiente, poco efficiente, ben efficiente, rispettivamente) e, attraverso il test di Kruskal-Wallis, sono stati in grado di evidenziare che sia il carico organico rimosso che la concentrazione di metalli nella miscela aerata era significativamente differente negli impianti saggiati, in accordo con le tre classi di abbondanza di protozoi.

Analisi statistiche applicate allo studio dei ciliati e delle variabili fisico-chimiche in impianti a fanghi attivi hanno mostrato che il numero e la diversità delle comunità ciliate cambia in relazione alla qualità del liquame che entra nell'impianto e alle condizioni gestionali (Esteban *et al.*, 1991; Esteban & Tellez, 1992).

2.2. Ciliati mobili e sessili

Questi due gruppi di ciliati normalmente co-dominano la microfauna dei fanghi attivi. Ciò è dovuto alla differente nicchia ecologica da

loro occupata che previene una loro competizione. Tuttavia i rapporti di abbondanza tra i due gruppi tende a cambiare con il carico del fango. I mobili diminuiscono la loro presenza all'aumentare del carico organico, tanto che oltre i 0.6 kgBOD/kgMLSS· d, molte specie di questo gruppo scompaiono (Curds & Cockburn, 1970b; Klimowicz, 1970). I ciliati mobili risultano essere inversamente correlati anche allo SVI. Alte densità di questi ciliati ($> 2.000 \text{ ml}^{-1}$) sono spesso associate a valori di SVI minori di 200; in occasione di valori più alti di 400, i mobili riducono drasticamente la loro presenza (Pagnotta & Tommasi, 1979).

2.3. Amebe con teca

Nei fanghi attivi le amebe con teca sono presenti normalmente con tre generi: *Arcella*, *Centropyxix* e *Euglypha*. Questi protozoi colonizzano il fango di impianti funzionanti a basso carico del fango, in particolare essi caratterizzano normalmente il fango delle vasche di aerazione di impianti che operano la rimozione dell'azoto (Poole, 1984). Le amebe con teca sono molto abbondanti o dominanti nei fanghi caratterizzati da basso carico del fango, lunga età del fango e alta concentrazione di ossigeno disciolto in vasca di aerazione, condizioni che permettono di ottenere una completa nitrificazione (Drakides, 1978; Chierici & Madoni, 1991). Al verificarsi di tali condizioni, la qualità dell'effluente è eccellente e la efficienza

biologica dell'impianto raggiunge i massimi valori. Sasahara & Ogawa (1983) hanno osservato che *Euglypha* e *Diffflugia* erano sempre molto abbondanti in impianti per il trattamento di reflui da birrerie in occasione di basso carico del fango e buona qualità dell'effluente. In occasione di alto carico del fango ($> 1 \text{ kgBOD/kgMLSS} \cdot \text{d}$) e alti valori di COD nell'effluente, queste specie erano sostituite dal ciliato sessile *Opercularia* e da ciliati natanti. Madoni *et al.* (1993) hanno potuto dimostrare l'esistenza di alti coefficienti di correlazione tra presenza e abbondanza di amebe con teca e alcuni parametri gestionali, ivi compresi quelli caratterizzanti la nitrificazione. Queste specie infatti erano associate a bassi valori di ammoniaca, alte concentrazioni di ossigeno disciolto, basso carico del fango e modesti valori di SVI.

2.4. Ciliati sessili ($> 80\%$)

I ciliati peritrichi sono normalmente co-dominanti nei fanghi attivi. Tuttavia, in occasione di condizioni transitorie dello impianto che riducono l'efficienza depurativa, questi ciliati possono incrementare repentinamente la loro densità numerica e costituire oltre l' 80% dell'intera microfauna (Drakides, 1978; Madoni, 1981). Tali condizioni transitorie sono 1) il rapido aumento del carico del fango dovuto a perdite o ad estrazioni di fango e 2) il carico

organico immesso in modo molto discontinuo.

Curds & Cockburn (1970b) hanno trovato che i ciliati sessili sono in grado di svilupparsi entro un largo spettro di valori di carico del fango; tuttavia a valori compresi tra 0.3 e 0.6 kgBOD/kgMLSS· d, questi ciliati spesso dominano la microfauna e in occasione di carichi del fango di 0.6-0.9 essi co-dominano insieme ai piccoli flagellati. Altra evidenza è stata segnalata da Bedogni *et al.* (1991) i quali suggeriscono che il rapporto di abbondanza tra ciliati mobili e sessili è associato alla efficienza dell'impianto. La migliore qualità dello effluente finale era infatti ottenuta in occasione di valori del rapporto ciliati mobili /sessili superiore a 0.5.

Tra i ciliati sessili vi sono alcune specie come *Vorticella microstoma* e *Opercularia* spp, che possono sopravvivere e crescere in fanghi attivi sottoposti a condizioni ambientali critiche (carenza di aerazione, immissione di sostanze tossiche, ecc.). Quando queste specie sono presenti in densità elevate, esse devono essere considerate separatamente dalle altre forme sessili (vedi sotto).

2.5. *Opercularia* spp.

Tre specie sono osservate comunemente nei fanghi attivi: *O. coarctata*, *O. microdiscus*, e *O. minima*. E' un evento abbastanza normale osservare modeste quantità di questi ciliati

sessili nel fango attivo, soprattutto negli impianti che trattano liquami misti (civile-industriale). Tuttavia, *Opercularia* mostra una stretta associazione con le variabili concernenti la qualità del fango attivo e le analisi statistiche confermano che questi ciliati sono validi indicatori biologici in quanto il loro numero aumenta quando il fango attivo è in cattive condizioni (Esteban *et al.*, 1991). Curds & Cockburn (1970b) osservarono che *Opercularia* spp era associata ad effluenti con alte concentrazioni di BOD, e Klimowicz (1970) trovò che queste specie erano tra le forme più abbondanti osservate in fanghi sottoposti ad alti carichi. *Opercularia*, inoltre, è in grado di sopravvivere meglio di altri protozoi in ambienti stressati. Alcuni autori (Antonietti *et al.*, 1982; Becares, 1991; Cardinaletti & Zitelli, 1991), infatti, trovarono elevate densità di *Opercularia* in impianti che ricevevano liquame di origine industriale contenente sostanze tossiche. *Opercularia coarctata* può essere il solo componente della microfauna di impianti che trattano liquami contenenti sali metallici. *O. microdiscus* è in grado di sopravvivere alla carenza di ossigeno e svilupparsi in fanghi troppo concentrati a basso tasso di ricircolo. Alte densità di *O. asymmetrica* sono state osservate in un impianto ricevente liquami da industria farmaceutica ad elevato carico organico (Aescht & Foissner, 1992). Inoltre, queste specie sono associate ad alti valori di BOD e di azoto ammoniacale nell'effluente

finale (Poole, 1984; Madoni *et al.*, 1993). *Opercularia* spp spesso sono associate a *V. microstoma*.

2.6. *Vorticella microstoma*

Il ciliato sessile *V. microstoma* è quotato nel sistema dei saprobi come specie polisaprobica (Sladeczek, 1973, Foissner, 1988). Questa specie è frequentemente presente nel fango attivo durante la prima fase di colonizzazione; tuttavia appena dopo questa fase, essa è sostituita da altre specie (prevalentemente *V. convallaria*) che, essendo dei filtratori più efficienti, diventano le forme dominanti durante la fase stabile. In caso di drastiche e prolungate riduzioni nella concentrazione di ossigeno in vasca di aerazione, si osserva l'alternanza tra queste due specie dovuta al loro differente grado di tolleranza alla carenza di ossigeno (Madoni & Antonietti, 1984). *V. microstoma* perciò, è un valido indicatore di carenza di ossigenazione nella vasca di aerazione; la grande resistenza di questa specie all'influenza delle condizioni anossiche è stata segnalata anche da altri autori (Bick, 1972; Toman & Rejic, 1988). Massicce crescite di popolazione di questo ciliato sessile sono state osservate in vasche di aerazione anche in occasione di alti flussi di liquame in ingresso e di effluenti di scarsa qualità (Esteban *et al.*, 1990). Alte quantità di *V. microstoma* in occasione di bassi valori di ossigeno disciolto, MLSS, e alti valori del

carico del fango e di SVI, sono state osservate anche da Poole (1984) e da Esteban *et al.* (1991).

2.7. *Ciliati natanti*

I ciliati batteriofagi natanti sono normalmente molto abbondanti nel liquame e colonizzano la vasca di aerazione durante la fase iniziale di messa in funzione dell'impianto, quando i batteri fiocco formatori sono ancora scarsamente presenti e, conseguentemente, i ciliati sessili sono ancora assenti. Tuttavia, essi sono presto sostituiti dalle forme sessili con le quali entrano in competizione per la predazione dei batteri dispersi nella fase liquida. I ciliati sessili, infatti, sono dei filtratori molto più efficienti dei ciliati natanti nel convogliare i batteri dispersi nella regione orale per mezzo delle correnti ciliari. Curds (1971), simulando la dinamica delle popolazioni microbiche mediante un modello matematico, ha concluso che un impianto a fanghi attivi produce un effluente di alta qualità quando il fango è dominato dalle forme sessili e mobili; quando dominano i ciliati natanti, tuttavia, la qualità dell'effluente è scarsa, e diventa pessima quando i ciliati sono del tutto assenti. Piccoli ciliati natanti (come *Colpidium*, *Cyclidium*, *Tetrahymena*, e *Uronema*) talvolta dominano la microfauna di impianti che operano ad età del fango troppo breve oppure ad alti carichi del fango in carenza di ossigenazione. Questi ciliati batteriofagi richiedono alte

concentrazioni di batteri dispersi per sopravvivere ma resistono meglio di altri componenti della microfauna agli affluenti tossici ed alla carenza di ossigenazione. I piccoli ciliati natanti si osservano sempre insieme ai piccoli flagellati e talvolta questi due gruppi dominano la microfauna. Curds & Cockburn (1970b) trovarono che i ciliati natanti dominavano ad alti valori del carico del fango (0.6-0.9 kgBOD/kg MLSS· d).

Deve essere sottolineato che a questo gruppo appartengono solo ciliati batteriofagi; forme natanti carnivore quali *Amphileptus*, *Litonotus*, *Spathidium*, ecc. (vedi Tab 1) non devono essere inserite in questo gruppo.

2.8. Flagellati

I piccoli flagellati eterotrofici come *Bodo*, *Polytoma*, e *Tetramitus*, normalmente dominano la microfauna durante la fase di avvio dell'impianto quando i batteri fiocco formatori sono ancora scarsamente presenti. Essi si nutrono di batteri dispersi e, nel tempo, sono sostituiti dai ciliati batteriofagi. Al contrario, la massiccia presenza di questi protozoi in un fango maturo, è associata ad una cattiva efficienza biologica dello impianto, dovuta a: (a) fango poco aerato, (b) carico troppo alto, (c) ingresso di sostanze in fermentazione (Drakides, 1978; Madoni, 1986). I flagellati risultano essere i protozoi

dominanti (Aescht & Foissner, 1992) o i soli presenti (Curds & Cockburn, 1970b) nei fanghi fortemente caricati (>0.9 kgBOD/kgMLSS· d). I piccoli flagellati entrano continuamente nell'impianto attraverso il liquame in cui essi si trovano in elevate quantità. Normalmente nei fanghi attivi questi protozoi subiscono la competizione da parte dei ciliati batteriofagi, inoltre sono fortemente sottoposti a predazione da parte di altri ciliati; così la loro presenza nei fanghi attivi è limitata a pochi individui (<10 ind. contati lungo la diagonale nella camera di Fuchs-Rosenthal). In caso di disfunzioni dell'impianto, il loro numero può aumentare (>10 ind. contati) e, di conseguenza, ciò indica un abbassamento di efficienza depurativa. La dominanza di flagellati diventa evidente quando essi raggiungono la densità di oltre 100 individui lungo la diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal. In quest'ultimo caso essi devono essere considerati come il gruppo dominante della microfauna.

I flagellati di taglia più larga come *Euglena* e *Peranema*, si osservano con minor frequenza nei fanghi attivi dove essi raggiungono difficilmente, inoltre, alte densità di popolazione. La loro presenza è associata a liquami caratterizzati da sostanza organica molto diluita.

3. L'INDICE BIOTICO DEL FANGO

3.1. Introduzione

Numerosi indici biotici sono stati messi a punto al fine di valutare il grado di inquinamento e lo stato di salute degli ecosistemi acquatici. Per i fiumi ed i torrenti europei, uno dei metodi più ampiamente utilizzati è l' Extended Biotic Index (EBI) di Woodiwiss (1980), basato sulla analisi della comunità di macroinvertebrati. Questo metodo è basato su due fenomeni: il cambio nella composizione delle taxocenosi con il variare del livello di inquinamento, e la riduzione dei gruppi tassonomici (o unità sistematiche) con l'incremento dello inquinamento. Indici obiettivi come l'IBE (Indice Biotico Esteso) e l'Indice Saprobico (Sladeczek, 1973), sono metodi per calcolare determinati valori (indici) in modo indipendente dalle valutazioni personali dell'analista. Infatti, sia le fluttuazioni casuali trovate in campioni presi nelle stesse condizioni, che la soggettività personale nelle tecniche di campionamento, conteggio e interpretazione dei dati, sono dei fattori che introducono un certo grado di variabilità incontrollata.

Negli impianti di depurazione appartenenti alla tipologia del processo a fanghi attivi, l'analisi della microfauna come indicatore di

efficienza biologica dell'impianto è una pratica assai utilizzata tra le analisi di routine. Questo tipo di analisi microscopica è in grado di dare utili e pronte indicazioni sull'attività biologica del fango attivo sulla base della struttura della comunità di microrganismi che in esso si sviluppa. In alcuni casi, la microfauna è stata utilizzata per elaborare valutazioni di efficienza di specifici impianti (Al-Shahwani & Horan, 1991; Esteban *et al.*, 1991); tuttavia tali metodi non possono essere applicati direttamente ad altri impianti, anche se appartenenti alla stessa tipologia. Altri metodi basati sulla analisi microscopica, al contrario, possono essere applicati a tutti gli impianti per stimare sia la qualità dell'effluente (Curds & Cockburn, 1970b) sia la efficienza biologica degli impianti (Drakides, 1978; Madoni, 1981,1988). Molti di questi metodi, tuttavia, sono soggettivi perchè non sono basati su rigidi calcoli, bensì su interpretazioni soggettive della microfauna che colonizza il fango in esame, da parte dell'analista. Gli indici obiettivi, invece, hanno il grande vantaggio sugli indici soggettivi, in quanto i valori determinati dai differenti operatori sono completamente comparabili.

In questo manuale viene illustrato un indice obiettivo per la stima della qualità biologica del fango attivo nella vasca di aerazione degli impianti di depurazione a fanghi attivi. Il metodo, che si ispira all' Extended Biotic Index, è applicabile a tutti i tipi di impianti basati sul processo a fanghi attivi.

3.2. Descrizione dello SBI

L'Indice Biotico del Fango (Madoni, 1994b), illustrato nelle tabelle 4 e 5, è stato messo a punto sulla base dei risultati ottenuti nelle numerose ricerche condotte sulla microfauna dei fanghi attivi durante gli ultimi venti anni, come è stato anche ampiamente illustrato nei capitoli precedenti. La sensibilità del metodo è stata saggiata sulla base delle condizioni fisiche, chimiche e operative degli impianti. Questo metodo è basato sia sulla differente sensibilità mostrata da alcuni gruppi della microfauna ai principali parametri fisici, chimici e gestionali, sia sulla abbondanza e diversità in specie della microfauna: questo consente di definire la qualità biologica del fango mediante valori numerici convenzionali (indice biotico). Lo SBI tiene in considerazione anche i seguenti punti:

- la ricchezza in specie tende a cambiare normalmente con il carico del fango. Il più alto numero di specie è stato osservato a carichi del fango compresi tra 0.2 e 0.3 kgBOD/kgMLSS·d (Curds & Cockburn, 1970b);

- la densità della microfauna diminuisce con il decrescere del carico del fango. Nella vasca di aerazione di impianti che attuano la nitrificazione, è attesa una microfauna meno abbondante rispetto ai fanghi attivi convenzionali.

L'indice da assegnare al fango attivo in esame si ottiene mediante l'uso di una tabella a due entrate (Tabella 4). In orizzontale, vengono presi in considerazione i gruppi dominanti o prevalenti che, a partire dalla parte alta della tabella, sono associati ad una qualità biologica del fango via via decrescente. Nella parte alta delle colonne viene considerata, invece, la diversità della microfauna in cui il numero delle unità sistematiche è raggruppato in quattro differenti classi.

La tabella a due entrate inoltre considera l'abbondanza della microfauna (escluso i flagellati) e dei flagellati. Per la determinazione dei valori di SBI è necessario selezionare l'ingresso orizzontale in tabella scegliendo prima la riga corrispondente al gruppo dominante e poi tenendo in considerazione la densità totale della microfauna (minore o maggiore di 10^6 ind./l). In caso di due o più gruppi dominanti, la scelta cadrà sul gruppo che occupa la posizione più bassa. L'ingresso verticale in tabella è determinato dal numero totale delle unità sistematiche di cui è

composta la microfauna e dalla densità dei piccoli flagellati.

Il valore dell'Indice Biotico del Fango (SBI) può così essere determinato all'intersezione della riga e della colonna selezionati. La tabella a due entrate permette di assegnare valori da 0 a 10 alla qualità biologica del fango, sulla base di due criteri: la differente sensibilità mostrata dai gruppi della microfauna alle condizioni ambientali, e l'effetto che tali condizioni producono sia sulla densità che sulla ricchezza in specie della microfauna.

Infine i valori di SBI sono raggruppati in 4 classi di qualità evidenziate da numeri romani (Tabella 5). Queste classi permettono di rappresentare la qualità biologica del fango attivo mediante 4 classi di giudizi piuttosto ampie e, quindi, di valore attendibile.

3.3. Verifica del metodo

La stretta applicabilità del metodo proposto è stata saggiata su 45 impianti a fanghi attivi. In ciascun impianto si rilevavano sia i dati riguardanti la microfauna della vasca di aerazione che i principali parametri fisici, chimici e gestionali come il BOD, DO, MLSS, la rimozione dell'ammoniaca, tempi di ritenzione del liquame e del fango, nitrificazione. In tutti i campioni saggiati il metodo proposto ha dato risultati in piena conformità con le efficienze depurative desumibili dai parametri misurati. La tabella

a due entrate comprende 88 differenti possibili situazioni, e tali eventi cadono all'interno delle quattro classi di qualità nelle proporzioni di 9, 18, 24 e 37 rispettivamente. Il test, ovviamente, non ha permesso di verificare tutte le situazioni possibili tuttavia, dato che è stato possibile verificare la rispondenza del metodo in corrispondenza dei valori estremi di SBI in ciascuna delle quattro classi di qualità, sembra ragionevole attendersi una piena rispondenza del metodo anche per quanto riguarda i valori intermedi di SBI.

3.4. Protocollo d'uso dello SBI

Dato che il metodo qui proposto si basa sulla diversità e sulla densità della microfauna, deve essere posta una particolare attenzione sia alla identificazione che al conteggio degli organismi che la compongono.

Identificazione della microfauna

Sebbene molti organismi possano più o meno frequentemente essere osservati nei fanghi attivi, alcune forme come le amebe nude e gli organismi di drift (alghe, crostacei, insetti), non sono considerati in questo metodo. Gli organismi da includere nella microfauna sono: piccoli e grandi flagellati, ciliati, amebe con teca, rotiferi, nematodi e altri piccoli metazoi come gastro-

Tab. 6.4. Tabella a due entrate per il calcolo dell'Indice Biotico SBI del fango

Gruppi della microfauna e sua densità che determinano l'ingresso orizzontale in tabella		Numero totale di specie che costituiscono la microfauna (esclusi i flagellati) del fango e densità dei flagellati (F) contati nella diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal (A= F< 10; B= 10<F<100)							
GRUPPO DOMINANTE O PREVALENTE	DENSITA' (ind./l)	> 10		8 - 10		5 - 7		< 5	
		A	B	A	B	A	B	A	B
CILIATI MOBILI +SESSILI * e/o AMEBE CON TECA	≥ 10 ⁶	10	8	9	7	8	6	7	5
	< 10 ⁶	9	7	8	6	7	5	6	4
CILIATI SESSILI * > 80 %	≥ 10 ⁶	9	7	8	6	7	5	6	4
	< 10 ⁶	8	6	7	5	6	4	5	3
<i>Opercularia</i> spp	≥ 10 ⁶	7	5	6	4	5	3	4	2
	< 10 ⁶	6	4	5	3	4	2	3	1
<i>Vorticella microstoma</i> e/o <i>V. infusioformis</i>	≥ 10 ⁶	6	4	5	3	4	2	3	1
	< 10 ⁶	5	3	4	2	3	1	2	0
CILIATI NATANTI	≥ 10 ⁶	5	3	4	2	3	1	2	0
	< 10 ⁶	4	2	3	1	2	0	1	0
PICCOLI FLAGELLATI (> 100) ¥	≥ 10 ⁶	4		3		2		1	
	< 10 ⁶	3		2		1		0	

* *Opercularia* e *Vorticella microstoma* non abbondanti ; ¥ numero di flagellati nella diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal

Tab. 5. Conversione dei valori di SBI in classi di qualità del fango con relativo giudizio

Valore SBI	Classe	Giudizio
8 - 10	I	Fango ben colonizzato e stabile, ottima attività biologica; alta efficienza depurativa.
6 - 7	II	Fango ben colonizzato e stabile, attività biologica sub-ottimale; discreta efficienza depurativa.
4 - 5	III	Insufficiente depurazione biologica dell'impianto; mediocre efficienza depurativa.
0 - 3	IV	Cattiva depurazione biologica dell'impianto; bassa efficienza depurativa.

trichi e tardigradi. Tutte le specie di protozoi ciliati e di amebe con teca contribuiscono alla determinazione della diversità della microfauna (ingresso verticale nella tabella SBI). Dato che l'identificazione a livello di specie di flagellati, rotiferi, nematodi e altri piccoli metazoi è difficoltosa, questi gruppi contribuiscono ciascuno con una sola unità sistematica.

Per quanto riguarda i gruppi dominanti (entrata orizzontale nella tabella SBI), deve essere ricordato che solo i ciliati batteriofagi contribuiscono a formare i tre gruppi funzionali (natanti, mobili, sessili). Ogni specie di ciliati carnivori contribuisce solamente alla densità e diversità totale della microfauna. Ciliati natanti predatori come *Litonotus*, *Amphileptus*, *Spathidium*, devono perciò essere esclusi dal gruppo funzionale "natanti"; allo stesso modo i ciliati sessili predatori come i suttori: *Podophrya*, *Tokophrya*, e *Acineta*, devono essere esclusi dal gruppo funzionale "sessili". L'identificazione delle varie specie di protozoi è molto importante al fine di ottenere un accurato valore di SBI; a questo proposito, sono disponibili alcune chiavi di classificazione dei protozoi messe a punto specificamente per i fanghi attivi e gli ambienti saprobici (Curds, 1969; Madoni, 1981, 1988, 1994c; Streble & Krauter, 1981; Foissner *et al.*, 1991-95).

Nel predisporre la lista delle specie presenti nel fango in osservazione, si suggerisce di seguire la seguente procedura:

- completare le analisi entro 5 ore dal prelievo. I campioni di miscela aerata destinati alle osservazioni microscopiche devono essere aerati e mescolati sufficientemente in modo che tutti i solidi rimangano in sospensione durante il trasporto e il periodo di analisi;
- utilizzare piccole gocce (50-100 µl) di miscela aerata per l'osservazione al microscopio. I vetrini coprioggetto delle dimensioni di 24x24 mm o 24x32 mm sono i più indicati per questo tipo di osservazione;
- inserire nella lista solo le specie di cui si sono osservati almeno 2 individui (nello stesso vetrino oppure in vetrini distinti).

Quantificazione della microfauna

Due tipi di conteggi si rendono necessari: stima di densità della microfauna (escluso i piccoli flagellati), e stima dell'abbondanza dei piccoli flagellati. Il primo tipo di conteggio è necessario per stabilire sia la classe di abbondanza della microfauna ($< \text{ o } \geq 10^6 \text{ l}^{-1}$), che l'abbondanza relativa (%) tra gruppi e specie. La stima della densità di popolazione deve essere basata su conteggi di sub-campioni raccolti con una micropipetta automatica. Per la determinazione del volume appropriato e del numero di repliche necessarie, riferirsi alla tecnica descritta da Madoni (1984) specificamente per la microfauna del fango

attivo. Nella maggior parte dei casi, 1 o 2 sub-campioni di 25 µl di fango attivo sono sufficienti per ottenere una stima affidabile. In questo caso, i vetrini coprioggetto di 18x18 mm sono indispensabili al fine di evitare una troppo rapida evaporazione del sub-campione durante il conteggio al microscopio. Il conteggio deve essere eseguito a piccolo ingrandimento (x100). Quando si osservano specie coloniali (*Carchesium*, *Epistylis*, *Opercularia*, *Zoothamnium*), tutti gli individui della colonia devono essere contati. Le specie osservate nei vetrini preliminari ma non durante i conteggi, devono essere considerate presenti nel campione con densità di 1 individuo per ml.

La stima della densità di popolazione dei piccoli flagellati richiede una tecnica di conteggio appropriata sia per la loro ridotta dimensione sia per la loro alta densità che spesso raggiunge 10^7 - 10^8 ind. l⁻¹. A questo scopo la camera di Fuchs-Rosenthal da 3.2 µl si dimostra particolarmente adatta. La camera ha le dimensioni di 4x4x0.2 mm ed è suddivisa in 256 quadrati di 250 µm di lato. Devono essere contati i flagellati che si trovano all'interno dei 16 quadrati che formano una delle due diagonali della camera. Quando i flagellati contati lungo la diagonale della camera sono meno di 10, la loro densità nel fango attivo è molto modesta (< 50.000 per ml); quando il loro numero lungo la diagonale della camera è superiore a 100, essi devono essere considerati come

gruppo dominante (densità di $5 \cdot 10^8$ ind. l⁻¹).

Il conteggio dei flagellati deve essere eseguito ad un ingrandimento di 200x.

Un esempio di conteggio della microfauna e utilizzazione dello SBI è riportato in Tabella 6.

Tab. 6. Esempio di analisi della microfauna e di calcolo dell'indice biotico del fango (SBI) per stimare la qualità biologica del fango attivo

Taxa	n° in 25 µl	n° /ml	%
Ciliati natanti			
<i>Paramecium caudatum</i>	1	40	<1
Ciliati mobili			
<i>Aspidisca cicada</i>	312	12.480	45
<i>Aspidisca lynceus</i>	23	920	3
<i>Chilodonella uncinata</i>	16	640	2
<i>Euplotes affinis</i>	-	1	-
<i>Trochilla minuta</i>	24	960	3
Ciliati sessili			
<i>Vorticella convallaria</i>	203	8.120	29
<i>Vorticella microstoma</i>	3	120	<1
<i>Vorticella octava</i>	71	2.840	10
<i>Epistylis plicatilis</i>	9	360	1
<i>Opercularia coarctata</i>	18	720	3
<i>Litonotus fasciola</i>	8	320	1
<i>Podophrya</i> sp.	2	80	<1
Amebe con teca			
<i>Arcella</i>	3	120	<1
<i>Euglypha</i>	-	1	-
Grandi flagellati	1	40	<1
Rotiferi	3	120	<1
TOTALE MICROFAUNA	697	27.882	100
PICCOLI FLAGELLATI*	<10		
Ciliati natanti	1	40	<1
Ciliati mobili	375	15.001	54
Ciliati sessili	304	12.160	44
Amebe con teca	3	121	<1
Gruppo dominante: ciliati sessili + mobili			
Densità della microfauna: $> 10^6$ l ⁻¹			
Numero totale di taxa: 17			
Piccoli flagellati: < 10			
SBI : 10			
Classe di qualità: I			

* nella diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal

3.5. Considerazioni finali

Lo Sludge Biotic Index si basa sia sulla struttura che sull'abbondanza della microfauna che colonizza il fango attivo. Come i precedenti metodi (Madoni, 1981,1988), anche lo SBI è stato costruito sulla base delle relazioni esistenti tra efficienza biologica dell'impianto e condizioni operative da una parte, e struttura della microfauna all'interno della vasca di aerazione dall'altra. Il metodo è stato formulato e semplificato tenendo presente le necessità e le esigenze degli operatori e gestori degli impianti; così, sia il livello di identificazione tassonomica che la procedura di conteggio sono stati semplificati al massimo senza nulla togliere alla sensibilità del metodo. Un ulteriore vantaggio di questo metodo è quello di esprimere giudizi numerici che permettono all'operatore di

comparare giorno per giorno le condizioni operative dell'impianto.

Deve essere sottolineato tuttavia, che lo SBI è stato messo a punto specificamente per la valutazione della efficienza biologica nel reattore (vasca di aerazione). Questo indice, quindi, non è in grado di rivelare alcuna disfunzione che avvenga a valle nella vasca di sedimentazione secondaria (per es.: bulking, rising), anche se alcuni di questi problemi come la perdita di fango può causare, nel tempo, variazioni nella struttura della microfauna.

L'indice biotico del fango è stato messo a punto per essere usato in tutti i tipi di impianti a fango attivo (contatto stabilizzazione, tradizionale, aerazione prolungata). La microfauna utilizzata per la determinazione dell'indice SBI ha una distribuzione cosmopolita; è ragionevole asserire, quindi, che l'indice è applicabile ai fanghi attivi di tutti i continenti.

4. PROCEDURE DI APPLICAZIONE E VALUTAZIONE

4.1. Campionamento

La raccolta del mixed liquor per l'analisi biologica non presenta particolari difficoltà per quanto riguarda la scelta dell'area da campionare. In via teorica, infatti, negli impianti a fanghi attivi il mixed liquor contenuto nella vasca di aerazione dovrebbe essere sufficientemente omogeneo da consentire il campionamento in qualsiasi punto della vasca. In pratica può verificarsi invece che, per criteri costruttivi o per scarsa efficacia delle turbine, nella vasca si formino delle zone di ristagno del fango. Per limitare al minimo gli errori dovuti alla raccolta di fango non rappresentativo, è consigliabile effettuare il prelievo in punti non troppo vicini né alle pareti della vasca né alle turbine. Anche per quanto riguarda la scelta del campionatore non sussistono particolari difficoltà da superare. La raccolta può essere effettuata, infatti, con un qualsiasi contenitore: anche un secchio di plastica legato ad una fune può essere utilmente impiegato. L'analisi microscopica del fango non richiede grandi quantità di miscela

aerata; è sufficiente, quindi, versare dal campionatore un quantitativo modesto (250-500 ml) di fango in un contenitore di plastica da 1 litro. Prima di effettuare il travaso è bene omogeneizzare (mescolando) la miscela aerata contenuta nel campionatore; questo ad evitare la decantazione del fango che influirebbe in modo negativo sulla rappresentatività del campione.

4.2. Trasporto del campione in laboratorio

La intensa attività biologica del fango è tale che, normalmente, l'ossigeno disciolto nella miscela aerata viene completamente utilizzato per le attività metaboliche dei microrganismi in un breve arco di tempo (20-30 minuti). Dopo tale periodo possono verificarsi profonde alterazioni nella comunità microbica e, più in generale, nella fisiologia del sistema. Se si è avuta la precauzione di lasciare la bottiglia semivuota, l'aria in essa contenuta è più che sufficiente (se il tragitto è breve) ad evitare che durante il trasporto si verifichino situazioni di anossia del fango. In

caso di percorsi più lunghi è consigliabile, durante il trasporto, tenere aerato il campione di fango per mezzo di un insufflatore d'aria con setto poroso alimentato da una batteria.

4.3. Osservazione al microscopio

La determinazione delle specie componenti la microfauna e la stima dei rapporti di abbondanza tra specie e gruppi, richiedono un sollecito esame del campione al microscopio. Questa analisi deve essere completata possibilmente entro cinque ore dal prelievo per ridurre al minimo certi inconvenienti come l'alta mortalità di alcune specie o il forte incremento numerico di altre. E' indispensabile, comunque, mantenere ossigenato e mescolato il fango nel contenitore mediante l'impiego di un aeratore a setto poroso. Dopo aver atteso alcuni minuti dall'inizio dell'aerazione, si passerà alla identificazione in vivo delle forme presenti nel campione di fango raccolto. A questo scopo si porrà su di un vetrino portaoggetti una goccia di circa 0.5 ml del materiale, prelevato dal recipiente con una normale pipetta pasteur e, dopo aver coperto con un vetrino coprioggetto (24x32 mm) si analizzerà al microscopio ottico in campo chiaro. Questa operazione deve essere molto accurata, data l'importanza che riveste il numero delle unità sistematiche della microfauna al fine della determinazione dell'indice biotico del fango. Per un'efficace

esplorazione del vetrino, è consigliabile utilizzare un debole ingrandimento (100x); ciò consentirà di visualizzare un'ampia superficie di campo. L'impiego di obiettivi a più forte ingrandimento è raccomandabile solo per l'osservazione di particolari importanti al fine della identificazione tassonomica.

4.4. Conteggi al microscopio

Dopo aver identificato le varie forme presenti nel campione, è importante effettuare una stima delle abbondanze relative di ciascuna specie o gruppo. Essa richiede l'effettuazione di un conteggio completo ed accurato delle forme presenti in un volume noto di fango. La dimensione del subcampione da analizzare riveste notevole importanza ai fini di una stima attendibile. Studi effettuati in questa direzione hanno permesso di giungere ad una definizione del volume da analizzare e del numero di repliche richiesto in rapporto alla densità di popolazione e al grado di precisione richiesto (Madoni, 1984). Per una stima accurata della microfauna del fango attivo, essendo elevata la sua densità di popolazione in questo ambiente, è sufficiente effettuare analisi su volumi di 25 µl replicati da 2 a 4 volte; per analisi di routine è sufficiente, invece, una sola replica. La procedura è la seguente:

- si prelevano 25 μl di fango mediante una micropipetta automatica a volume variabile (da 0 a 50 μl) e, dopo aver posto il campione su di un vetrino, si copre con coprioggetto della dimensione di 18x18 mm (la dimensione del vetrino coprioggetto riveste la massima importanza ai fini di una corretta stima; l'impiego di vetrini più larghi, infatti, determina una distribuzione del campione più laminare favorendo una più rapida evaporazione del liquido).
- Si pone il vetrino al microscopio ottico e, a debole ingrandimento (100x), lo si ispeziona interamente contando e segnando su di un foglio gli individui delle varie specie (precedentemente identificati) che si presentano via, via alla osservazione. Per evitare di passare più volte nello stesso punto e di commettere, quindi, errori di stima, è utile analizzare il vetrino a fasce verticali partendo da una estremità sino a giungere a quella opposta (Fig. 8). Attenzione va rivolta affinché non venga esclusa dall'osservazione l'eventuale frazione di miscela aerata che fuoriesce dal vetrino coprioggetto.
- Si effettuano le repliche di conteggio programmate. Ad analisi ultimata i dati ottenuti per ciascuna specie e gruppo vengono espressi sia in n° individui/ml e n° individui/litro di fango attivo sia in rapporto percentuale sull'intera microfauna. Può succedere che di alcune specie osservate nel vetrino dedicato alla identificazione, nessun individuo sia rinvenuto durante il conteggio. In questo caso bisognerà considerare sia la presenza della specie che la sua scarsa densità di popolazione. Una soluzione è quella di assegnare alla specie un valore convenzionale di densità numerica pari a 1 individuo per ogni ml di fango (1000 ind./litro). Un esempio di conteggio è riportato in Tab. 6.
- La stima di abbondanza delle forme particolarmente minuscole come i piccoli flagellati, richiede un metodo di conteggio adeguato. A questo scopo è utile l'impiego della camera di Fuchs-Rosenthal da 3.2 μl (Fig. 9). Essa consiste di una cella di conteggio quadrangolare profonda 0.2 mm portante un reticolo di 16x16 quadrati aventi il lato di 250 μm . L'intera cella è un quadrato di 4 mm di lato suddiviso (mediante triplici tacche) in 16 quadrati di 1 mm di lato che, a loro volta, sono ulteriormente suddivisi in 16 quadratini di 250 μm di lato. Individuati i 16 quadratini posti su una diagonale (ad esempio dal vertice in alto a sinistra al vertice in basso a destra), si procederà al conteggio dei piccoli flagellati osservati al loro interno utilizzando un ingrandimento di 200x. I flagellati

- Altre notizie: ogni altra informazione utile ai fini di una valutazione globale dell'impianto. Es.: eventuali trattamenti come la denitrificazione e la nitrificazione, notizie sul ricircolo fanghi, età del fango, aerazione, ecc.

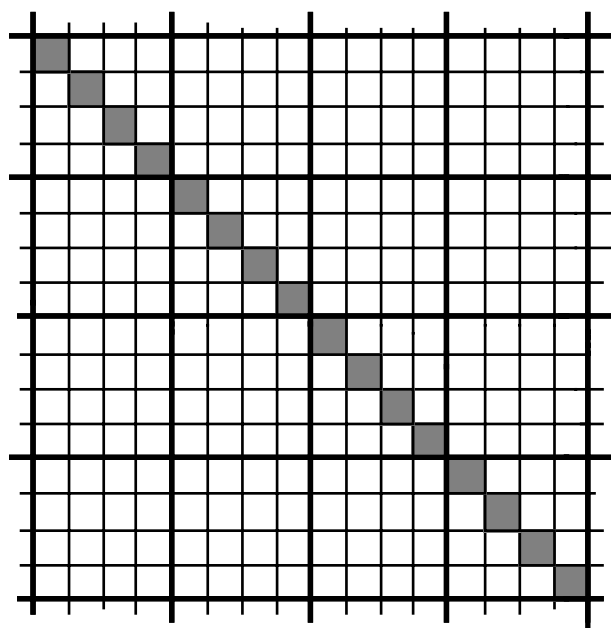


Fig. 9. Schema della camera di Fuchs-Rosenthal per il conteggio dei piccoli flagellati. In grigio sono riportati i 16 quadratini del reticolo posti lungo una delle diagonali, che devono essere ispezionati al microscopio (200x) al fine di stimare la densità di popolazione.

- Parametri fisici e chimici: se non vengono misurati nello stesso giorno in cui si effettua il prelievo del materiale biologico, riportare di preferenza i valori minimi e massimi più recenti. I prelievi di liquame in entrata ed uscita per le analisi fisiche e chimiche devono essere effettuati osservando una pausa pari al

tempo di ritenzione del liquame nell'impianto. Così se, ad esempio, il tempo di ritenzione del liquame è di 6 ore, il campione in uscita dovrà essere prelevato sei ore dopo quello in ingresso.

- Note: riportare ogni evento osservato durante il sopralluogo all'impianto o segnalato dal personale di servizio (presenza di fango in superficie nel sedimentatore, interruzioni nel funzionamento delle turbine o degli aeratori, estrazioni di fango, ecc.).
- Analisi della microfauna: in una appropriata scheda (vedi pagine seguenti) riportare i taxa e i relativi valori di densità rilevati in ciascuno dei conteggi effettuati. Determinare la percentuale di ogni specie e gruppo nei confronti dell'intera microfauna.
- Indice biotico del fango: riportare il numero da 0 a 10 che si trova all'intersezione della riga e della colonna selezionati nella Tabella 4. Formulare il giudizio sintetico sull'efficienza della depurazione biologica e la classe di qualità come formulata nella Tab 5, evidenziando le eventuali cause di malfunzionamento e le possibili strategie di intervento.

4.6. Esempi di applicazione dello SBI.

Nelle tabelle 7,8,9 e 10 sono riportate, a titolo esemplificativo, le liste e i rispettivi conteggi dei taxa osservati in alcuni impianti a fanghi attivi e le condizioni di salute del fango che da tali liste è possibile presumere. Sono

Tab. 7. Esempio di fango in cui la microfauna non presenta gruppi dominanti. In questo caso, essendo la percentuale dei ciliati mobili + sessili più o meno uguale a quella delle amebe con teca, l'ingresso in Tabella 4 è determinato da questi gruppi della microfauna.

Taxa	in 25 µl	n° /ml	%
Ciliati natanti			
<i>Spirostomum teres</i>	3	120	1
Ciliati mobili			
<i>Aspidisca cicada</i>	28	1.120	13
<i>Aspidisca lynceus</i>	9	360	4
<i>Chilodonella uncinata</i>	8	320	4
<i>Trochilia minuta</i>	11	440	5
Ciliati sessili			
<i>Vorticella convallaria</i>	11	440	5
<i>Vaginicola crystallina</i>	34	1.360	16
<i>Opercularia minima</i>	4	160	2
Ciliati carnivori			
<i>Coleps hirtus</i>	6	240	3
<i>Litonotus</i> sp.	4	160	2
Amebe con teca			
<i>Arcella</i> sp.	31	1.240	15
<i>Euglypha</i> sp.	61	2.440	29
TOTALE MICROFAUNA	210	8.400	100
PICCOLI FLAGELLATI*	3		
Ciliati natanti	3	120	1
Ciliati mobili	56	2.240	27
Ciliati sessili	49	1.960	23
Amebe con teca	92	3.680	44

Gruppo dominante: Ciliati mobili + sessili e/o amebe con teca

Densità della microfauna: > 10⁶ l⁻¹

Numero totale di taxa: 12

Piccoli flagellati: < 10

SBI : 10; Classe di qualità: I

* nella diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal

riportate di proposito alcune situazioni particolari che possono essere di aiuto nell'uso della Tabella 4 per la determinazione dell'Indice Biotico del fango SBI.

Tab. 8. In questo esempio nessuna specie della microfauna è numericamente dominante (A. cicada è la specie più abbondante, ma non dominante). Il gruppo formato da mobili + sessili rappresenta l'88% della microfauna. Esso perciò è il gruppo più importante, e di conseguenza determina l'ingresso orizzontale in tabella.

Taxa	in 25 µl	n° /ml	%
Ciliati natanti			
<i>Uronema nigricans</i>	2	80	<1
Ciliati mobili			
<i>Aspidisca cicada</i>	212	8.480	53
<i>Chilodonella uncinata</i>	22	880	5
<i>Trochilia minuta</i>	9	360	2
Ciliati sessili			
<i>Vorticella convallaria</i>	24	960	6
<i>Vorticella octava</i>	30	1.200	8
<i>Epistylis</i> sp.	34	1.360	9
<i>Opercularia coarctata</i>	21	840	5
Ciliati carnivori			
<i>Litonotus</i> sp.	9	360	2
Amebe con teca			
<i>Arcella</i>	28	1.120	7
<i>Euglypha</i>	3	120	1
Rotiferi	4	160	1
TOTALE MICROFAUNA	398	15.920	100
PICCOLI FLAGELLATI*	6		
Ciliati natanti	2	80	<1
Ciliati mobili	243	9.720	61
Ciliati sessili	109	4.360	27
Amebe con teca	31	1.240	8

Gruppo dominante: ciliati sessili + mobili

Densità della microfauna: > 10⁶ l⁻¹

Numero totale di taxa: 12

Piccoli flagellati: < 10

SBI : 10; Classe di qualità: I

* nella diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal

Tab. 9. Esempio di microfauna in cui i gruppi funzionali dei ciliati natanti e dei ciliati sessili sono co-dominanti. In questo caso l'ingresso in Tabella 4 è determinato dal gruppo co-dominante che si trova più in basso, cioè: ciliati natanti. Note: le probabili cause di disfunzione di questo impianto possono essere dovute ad un fango giovane in via di formazione oppure ad un tempo di ritenzione del fango e/o del liquame troppo breve.

Taxa	in 25 µl	n° /ml	%
Ciliati natanti			
<i>Cyclidium</i> sp.	3	120	5
<i>Colpidium colpoda</i>	2	80	4
<i>Uronema</i> sp.	23	920	40
Ciliati mobili			
<i>Aspidisca cicada</i>	1	40	2
Ciliati sessili			
<i>Vorticella convallaria</i>	22	880	39
<i>Vorticella microstoma</i>	6	240	10
TOTALE MICROFAUNA	57	2.280	100
PICCOLI FLAGELLATI*	15		
Ciliati natanti	28	1.120	49
Ciliati mobili	1	40	2
Ciliati sessili	28	1.120	49

Gruppo dominante: Ciliati natanti
 Densità della microfauna: $> 10^6$ l⁻¹
 Numero totale di taxa: 6
 Piccoli flagellati: $10 < F < 100$
 SBI : 1
 Classe di qualità: IV

* nella diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal

Tab. 10. Esempio in cui la microfauna è dominata dai ciliati sessili (>80%). Tuttavia, all'interno del gruppo l'abbondanza di *Vorticella microstoma* è tale (55% dell'intera microfauna) da spostare l'ingresso in Tabella 4 più in basso, in corrispondenza di questa specie.

Taxa	in 25 µl	n° /ml	%
Ciliati natanti			
<i>Glaucoma scintillans</i>	28	1.120	7
Ciliati mobili			
<i>Aspidisca cicada</i>	38	1.520	10
<i>Euplotes</i> sp.	1	40	<1
Ciliati sessili			
<i>Vorticella convallaria</i>	50	2.000	13
<i>Vorticella microstoma</i>	214	8.560	55
<i>Opercularia</i> sp.	53	2.120	13
Ciliati carnivori			
<i>Podophrya</i> sp.	3	120	<1
Rotiferi	-	1	<1
TOTALE MICROFAUNA	387	15.481	100
PICCOLI FLAGELLATI*	12		
Ciliati natanti	28	1.120	7
Ciliati mobili	39	1.560	11
Ciliati sessili	317	12.680	82

Gruppo dominante: *Vorticella microstoma*
 Densità della microfauna: $> 10^6$ l⁻¹
 Numero totale di taxa: 8
 Piccoli flagellati: $10 < F < 100$
 SBI : 3
 Classe di qualità: IV

* nella diagonale della camera di Fuchs-Rosenthal

5. GUIDA AL RICONOSCIMENTO DELLA MICROFAUNA

5.1. PROTOZOI

Con il termine Protozoi si indicano degli organismi eucariotici unicellulari che, pur non costituendo un gruppo naturale, presentano strutture cellulari tipiche. Classicamente questo gruppo eterogeneo di organismi è stato trattato come un unico Phylum del regno Animalia. Come è ormai noto, molte classificazioni moderne tendono a dividere gli esseri viventi non più in due soli regni (Animalia e Plantae) ma in più regni. La più seguita di tali classificazioni è quella che considera 5 regni: Monera, Protista, Plantae, Fungi, Animalia. In questo ambito spesso i Protozoi non sono più considerati un unico insieme, ma sono suddivisi in un numero variabile di Phyla all'interno del regno dei Protisti. Non essendoci ancora una perfetta identità di vedute su questi problemi (anche perché diversi possono essere i criteri adottati dai vari studiosi nell'elaborare le loro teorie) in questa sede sarà usata a scopo indicativo una classificazione molto elementare che, tuttavia, si basa sulla classificazione proposta dalla società internazionale di protozoologia nel

1980 (Levine *et al.*, 1980). Tale classificazione ha il vantaggio di non discostarsi troppo, almeno nelle sue grandi linee, dalla sistematica classica che è ormai bagaglio culturale comune che considera i Protozoi divisi in 4 gruppi principali: Flagellati, Sarcodini, Sporozoi, Ciliati (Ricci, 1989).

I protozoi, appunto perché unicellulari, ordinariamente sono di piccole dimensioni e la taglia tra 10 e 100 μm può essere considerata una delle dimensioni che di solito si osserva più comunemente. In molti flagellati e nei ciliati il corpo è rivestito da una cuticola resistente, che costituisce la membrana cellulare. Inoltre vi sono degli organelli (organiti) di movimento che sono i flagelli nel caso dei Flagellati e le ciglia nel caso dei Ciliati. Queste ciglia sono presenti durante tutta la vita o nell'adulto possono sparire (Acineti). I flagelli sono lunghi e mobili prolungamenti protoplasmatici con movimenti paragonabili a quelli di una frusta quando viene agitata; di regola sono uno o pochi sul corpo di ciascun flagellato. Le

ciglia sono invece delle corte appendici protoplasmatiche che sporgono come sottili setole sul corpo dei ciliati e che si muovono come tanti piccoli remi. Alcuni protozoi come i Sarcodini, presentano il corpo nudo

che può emettere e retrarre degli speciali prolungamenti citoplasmatici che servono alla locomozione e che prendono il nome di pseudopodi.

I Protozoi di regola si riproducono agamica-

QUADRO SISTEMATICO DEI PROTOZOI PRESENTI NEI FANGHI ATTIVI	
Phylum SARCOMASTIGOPHORA	Generi: <i>Chilodonella</i>
Subphylum 1 MASTIGOPHORA (FLAGELLATI)	<i>Trithigmostoma</i>
Classe 1 PHYTOMASTIGOPHOREA	<i>Trochilla</i>
Generi: <i>Euglena</i>	<i>Drepanomonas</i>
<i>Peranema</i>	S.classe Suctoria
Classe 2 ZOOMASTIGOPHOREA	Generi: <i>Acineta</i>
Generi: <i>Bodo</i>	<i>Podophrya</i>
<i>Cercobodo</i>	<i>Tokophrya</i>
<i>Hexamita</i>	Classe OLIGOHYMENOPHOREA
<i>Trepomonas</i>	S.classe Hymenostomatia
Subphylum 2 SARCODINA (AMEBE)	Generi: <i>Colpidium</i>
Superclasse RHIZOPODA	<i>Glaucoma</i>
Classe LOBOSEA	<i>Tetrahymena</i>
S.classe Gymnoamoeba (amebe nude)	<i>Cinetochilum</i>
Generi: <i>Chaos</i>	<i>Paramecium</i>
<i>Mayorella</i>	<i>Sathrophilus</i>
<i>Vahlkampfia</i>	<i>Pseudocohnilembus</i>
<i>Thecamoeba</i>	<i>Uronema</i>
S.classe Testacea (amebe con teca)	<i>Cyclidium</i>
Generi: <i>Arcella</i>	S.classe Peritricha
<i>Cochliopodium</i>	Generi: <i>Vorticella</i>
<i>Centropyxix</i>	<i>Carchesium</i>
<i>Euglypha</i>	<i>Zoothamnium</i>
Phylum CILIOPHORA	<i>Epistylis</i>
Classe KINETOFRAGMINOPHOREA	<i>Opercularia</i>
S.classe Gymnostomatia	<i>Vaginicola</i>
Generi: <i>Prorodon</i>	Classe POLYHYMENOPHOREA
<i>Coleps</i>	Ordine Heterotrichida
<i>Plagiocampa</i>	Generi: <i>Blepharisma</i>
<i>Spathidium</i>	<i>Spirostomum</i>
<i>Amphileptus</i>	<i>Stentor</i>
<i>Litonotus</i>	Ordine Hypotrichida
<i>Acinera</i>	Generi: <i>Aspidisca</i>
S.classe Hypostomatia	<i>Euplotes</i>
	<i>Oxytricha</i>
	<i>Stylonychia</i>

mente per scissione; tuttavia esistono per molti protozoi, soprattutto per i ciliati, fenomeni sessuali. I Protozoi sono organismi la cui cellula è dotata di uno o più nuclei; tuttavia, mentre nei flagellati e nei sarcodini i nuclei sono di un solo tipo, nei ciliati si osservano macronuclei e micronuclei. I macronuclei hanno notevole importanza nei processi metabolici, mentre i micronuclei sono in rapporto alla riproduzione.

5.1.1. Flagellati

I flagellati presentano un solo tipo di nucleo e sono dotati di uno o più flagelli. Si riproducono asessualmente per scissione binaria longitudinale. Tra questi protozoi vi sono organismi che si alimentano in modo autotrofico con l'aiuto di pigmenti fotosintetici (fitoflagellati) ed altri con alimentazione eterotrofica (zooflagellati). Alcune forme sono in grado di comportarsi

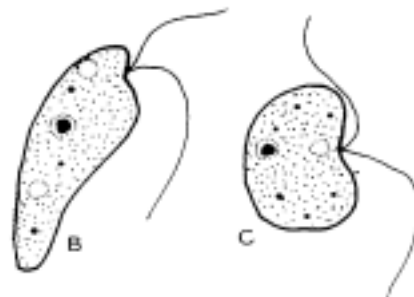
La maggior parte dei protozoi svolge attività eterotrofica, predando altri organismi o alimentandosi di sostanze organiche disciolte o particellate; tuttavia vi sono diversi flagellati (fitoflagellati) nel cui citoplasma si trovano numerosi plastidi che consentono loro di svolgere attività autotrofica. I protozoi eterotrofici si nutrono per osmosi (molti flagellati, per mezzo di pseudopodi (amebe) o per mezzo di una apertura nella membrana cellulare (ciliati) che consente loro di catturare altri organismi.

da autotrofi o eterotrofi a seconda delle condizioni ambientali. Nei fanghi attivi i piccoli flagellati eterotrofici sono in genere molto comuni e spesso molto numerosi. Piccole quantità di flagellati di larghe dimensioni possono essere osservate in fanghi attivi che ricevono liquami diluiti o che presentano un basso carico del fango.

PICCOLI FLAGELLATI

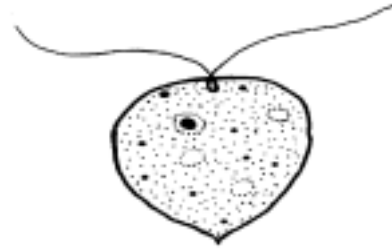
Bodo

Flagellato incolore di dimensioni alquanto modeste (5-15 μm). Presenta due flagelli: uno per il nuoto, libero e lungo quanto il corpo e uno di trascinamento, libero e lungo da 2 a 3 volte il corpo. Di forma ovoidale, spesso appiattito, si nutre di batteri. Diverse specie possono essere presenti nei fanghi attivi, tra cui *B. caudatus* (B) e *B. saltans* (C).



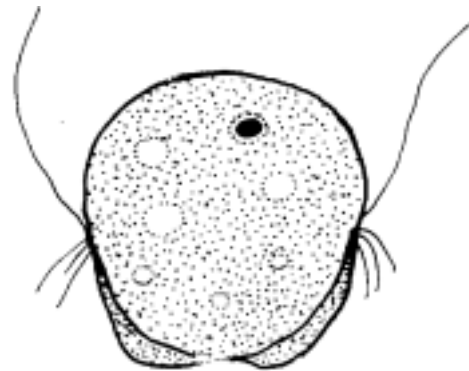
Cercobodo

Protozoo biflagellato di piccole dimensioni (10-15 μm), dal corpo generalmente piriforme. I flagelli sono di uguale lunghezza. Si nutre di batteri e sostanze disciolte. Nuota ruotando lentamente.



Trepomonas

Flagellato di forma ovale, appiattito posteriormente, con i margini laterali lievemente incurvati che formano ciascuna una piatta borsa per lo stomaco. Di dimensioni piuttosto piccole (10-15 μm), è dotato di 8 flagelli di cui 4 corti e 4 più lunghi; questi ultimi vengono mossi in avanti e indietro per la locomozione. Si nutre di batteri.



Hexamita

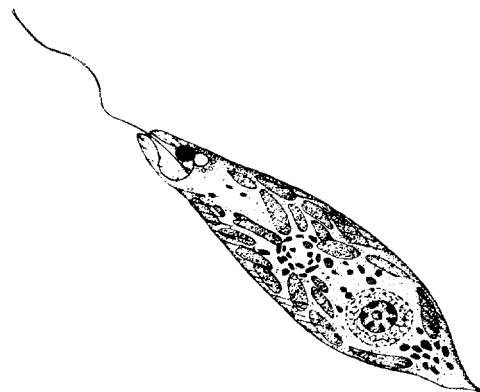
Dotato di 8 flagelli di cui 2 fuoriescono da due fessure del corpo. Corpo ovale appiattito di dimensioni modeste (10-20 μm). Si nutre di batteri.



GRANDI FLAGELLATI

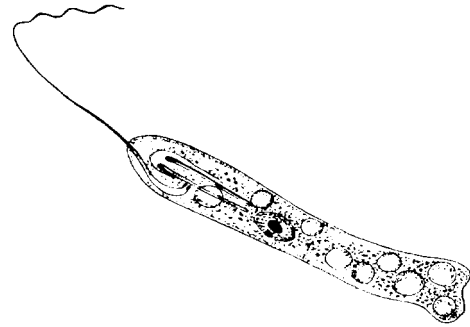
***Euglena* (A)**

Flagellato ocellato verde, di forma allungata, lungo 40-60 μm . Presenta flagelli lunghi quanto il corpo. La cellula contiene cloroplasti che le conferiscono il caratteristico color verde. In ambienti privi di luce può utilizzare, per osmosi, sostanze organiche.



***Peranema* (B)**

Flagellato incolore dal flagello anteriore rigido. Le sue dimensioni medie oscillano da 30 a 70 μm . Striscia con il flagello rigidamente tenuto in avanti. E' un organismo eterotrofo e pratica la fagotrofia. Può ingerire prede relativamente di grandi dimensioni.



5.1.2. Amebe

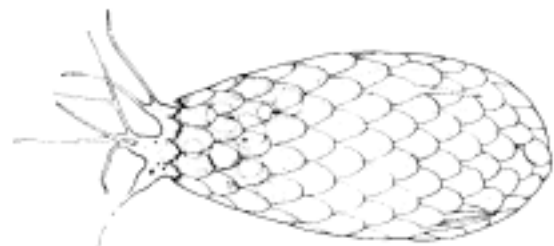
Sono protozoi privi di membrana cellulare che si muovono per mezzo di pseudopodi. Questi sono delle proiezioni del citoplasma che consentono alla cellula di avanzare sul substrato e di catturare nel contempo, fagocitandolo, il cibo che è costituito prevalentemente da particelle di detrito e da batteri. Alcune amebe posseggono una teca

di materiale organico o di particelle inorganiche saldate intorno al corpo, in cui i pseudopodi fuoriescono da speciali aperture. Le amebe nude, sebbene siano frequenti nei fanghi attivi, non sono utilizzate nella stima di efficienza dei fanghi attivi; perciò non sono prese in considerazione nell'Indice Biotico del fango (SBI).

AMEBE CON TECA

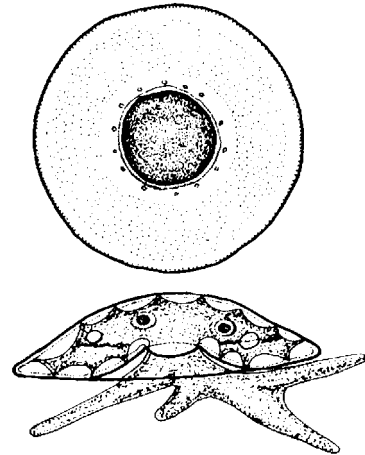
Euglypha

Guscio ovoidale, lateralmente compresso, coperto da numerose scaglie silicee ben visibili in contrasto di fase. Dalla apertura terminale escono pseudopodi filiformi raramente ramificati. Le sue dimensioni variano da 20 a 100 μm .



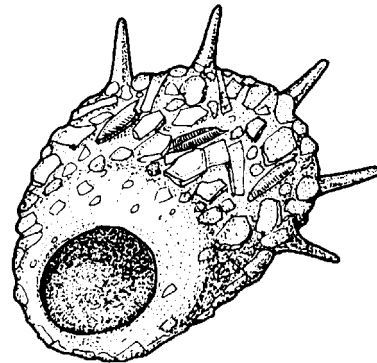
Arcella

Protozoi dal guscio liscio e rigido di origine proteica, discoidale, a forma di scodella quando osservato di lato. Ampia apertura centrale da cui escono pseudopodi digitiformi. Negli individui vivi, il citoplasma è osservabile attraverso il guscio di color giallognolo. Dimensioni variabili da specie a specie (50-200 μm).



Centropyxis

Guscio confusamente punteggiato, leggermente rugoso per la presenza talvolta di poche particelle (granuli di sabbia, gusci di diatomee, ecc.) che sono saldamente attaccate alla superficie. Estremità posteriore con 2-8 aculei. Apertura terminale spesso relativamente larga dalla quale escono gli pseudopodi. Dimensioni 120-180 μm . Sono state osservate due specie: *C. aculeata* e *C. discoides*, quest'ultima di dimensioni maggiori (200-400 μm).



5.1.3. Ciliati

I ciliati sono un gruppo di protozoi microconsumatori che colonizzano la maggior parte degli ambienti acquatici e terrestri. Le loro dimensioni, relativamente grandi rispetto agli altri protozoi (mediamente 20-200 μm), i loro veloci movimenti, e la loro varietà di forme, li rendono particolarmente evidenti all'osservazione microscopica. Le ciglia di cui sono dotati, sono strutturalmente identiche ai flagelli, ma sono più corte in

rapporto alla lunghezza della cellula. Le ciglia possono essere arrangiate in gruppi (cirri) come nei ciliati Ipotrichi, e in tal caso, questi aggregati diventano essenziali per la locomozione. Nei ciliati, generalmente, si distinguono le ciglia disposte lungo il corpo (ciliatura somatica) da quelle situate intorno la bocca (ciliatura orale) che sono usate per la cattura del cibo.

I principali gruppi di ciliati (Oligohymenophora e Polyhymenophora)

utilizzano la ciliatura orale per filtrare l'acqua circostante e trattenerne le particelle sospese (soprattutto batteri dispersi). Per poter fare questo, gli Oligohymenophora hanno 3 membranelle intorno alla bocca (non ben distinguibili all'osservazione microscopica), mentre i Polyhymenophora hanno la ciliatura orale formata da una serie di membrane (zona adorale di membranelle: AZM) che si estende dalla parte anteriore della cellula sino al punto di ingestione del cibo (citostoma). Il gruppo dei Kinetofragminophora, raccoglie, invece, ciliati in cui la ciliatura somatica e quella orale non sono ben distinguibili. Alcune specie di questo gruppo sono in grado di ingerire grosse particelle di cibo (alghe, filamenti), e vi sono anche molte altre specie predatrici di altri ciliati o di piccoli metazoi.

La bocca nei ciliati è assai variabile da gruppo a gruppo sia per quanto riguarda forma e dimensione che la sua collocazione (Fig. 10). La bocca dei ciliati che si nutrono di alghe o detrito è generalmente dotata di un tubo di rigidi stecche (nematodesmi) che consente loro di introdurre il cibo dentro la cellula. Alcuni ciliati come i Suttori, non

hanno un citostoma vero e proprio. Essi sono dotati però di una serie di lunghi e rigidi tentacoli provvisti di ventosa terminale con cui catturano altri ciliati. Questi ciliati, inoltre, sono prevalentemente sessili e non hanno ciliatura visibile tranne che durante lo stadio mobile 'larvale' in cui la ciliatura è presente per consentire la locomozione.

Oltre la ciliatura e la bocca, il principale carattere che permette di classificare i ciliati dei fanghi attivi è il loro comportamento. Alcuni ciliati svolgono attività predatoria su altri ciliati o piccoli metazoi, mentre la maggior parte si nutre filtrando batteri o piccoli flagellati. Tra i ciliati batteriofagi, alcune forme nuotano liberamente nel mezzo liquido (ciliati natanti), altre sono sessili e si attaccano al fiocco di fango per mezzo di un peduncolo durante la fase adulta. Un terzo gruppo è formato da organismi che, pur essendo forme libere, abitano il fiocco di fango sulla cui superficie si spostano o strisciano (ciliati mobili). Tra i ciliati carnivori, invece, si osservano sia forme liberamente natanti che forme sessili (Suttori).

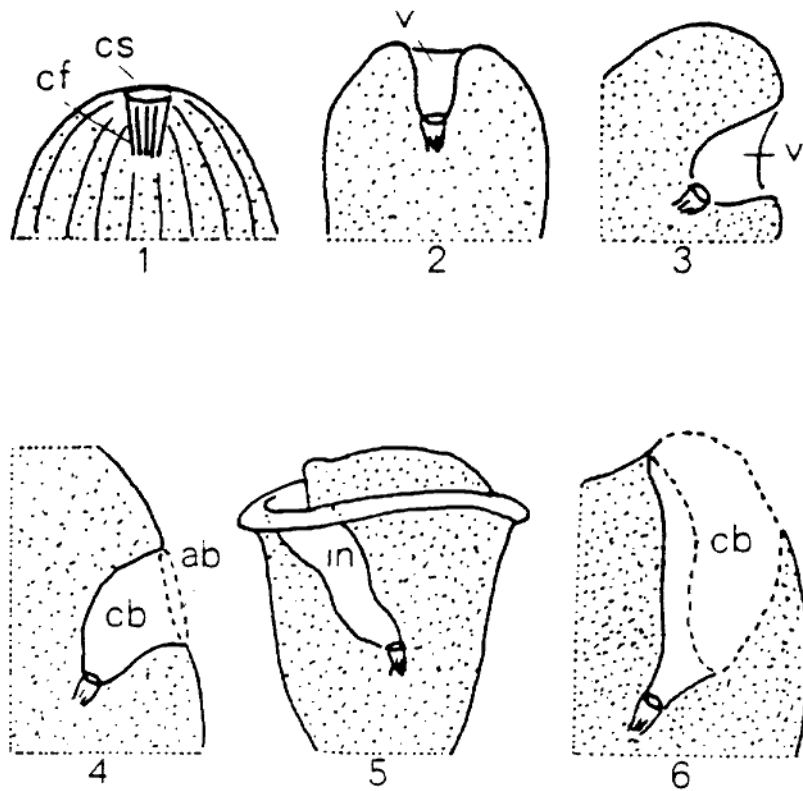


Fig. 7. Area buccale dei ciliati: 1 citostoma apicale dei ciliati *Gymnostomi*; 2-3 citostoma posto alla base di un vestibolo; 4 cavità orale dei ciliati *Imenostomi*; 5 cavità orale con infundibolo dei ciliati *Peritrichi*; 6 ampio peristoma dei ciliati *Ipotrichi*. (cs: citostoma; cf: citofaringe; cb: cavità buccale; ab: area buccale; in: infundibolo; v: vestibolo)

CILIATI BATTERIOFAGI

FORME NATANTI

Cinetochilum margaritaceum

Lunghezza 15-45 μm ; di forma discoidale, appiattito, fornito di ciliatura solo sulla superficie ventrale e dotato di 3-4 lunghe ciglia caudali. Sulla superficie della cellula vi sono evidenti solchi. Il citostoma è in posizione laterale. Il vacuolo contrattile è terminale. Si nutre di batteri. E' infrequente nei fanghi attivi. Presenta una bassa tolleranza all'ammoniaca libera e, in generale, ai composti azotati. La sua presenza è spesso legata a liquami diluiti.



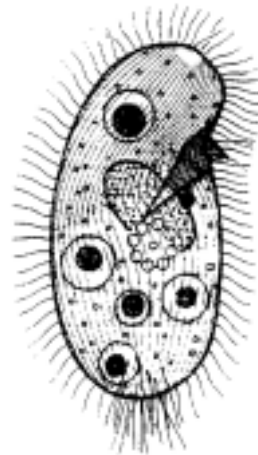
Paramecium caudatum

Lunghezza 180-300 μm ; forma di siluro, corpo a sezione circolare; è leggermente affusolato all'estremità posteriore in cui si osserva un ciuffo di lunghe ciglia. Macronucleo grande e centrale, un micronucleo; due vacuoli contrattili forniti di canali radiali. Presenta una evidente e lunga scanalatura (vestibolo) che porta alla bocca. La ciliatura è uniforme in tutta la cellula. Lungo il corpo vi sono numerosi tricocisti che possono, all'occorrenza, essere espulsi. Questo ciliato natante è poco comune nei fanghi attivi; esso normalmente è presente nel liquame e all'inizio della colonizzazione del fango. Qualche volta si osserva la presenza di una specie simile (*P. putrinum*), leggermente più piccola e meno affusolata che, come *P. caudatum*, segnala un fango giovane o troppo caricato.



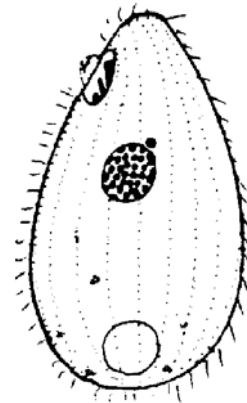
Colpidium

Ciliato ovoidale o leggermente reniforme, allungato lungo 60-100 μm , con ciliatura uniforme, macronucleo sferico e vacuolo contrattile sub-terminale. Il citostoma è piccolo e situato lateralmente nella metà superiore del corpo. Specie molto comune nelle acque inquinate da sostanza organica come quelle dei liquami che entrano nell'impianto. Nel fango attivo a regime si sviluppa solo in condizioni di inefficienza biologica di depurazione. Due specie possono colonizzare il fango attivo: *C. colpoda* e *C. campylum* (*Dexiostoma campylum*).



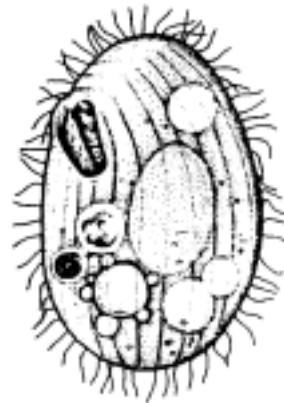
Tetrahymena

Ciliato piriforme con ciliatura uniforme e dalle modeste dimensioni (30-50 μm). Il citostoma è piccolo e si apre lateralmente appena sotto il polo apicale che è affusolato. Il macronucleo è sferico, il vacuolo contrattile è terminale. E' raro nei fanghi attivi. La sua presenza è legata a carichi eccessivi. Una sola specie è stata osservata nei fanghi attivi: *T. pyriformis*.



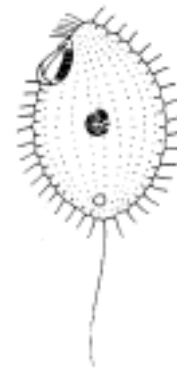
Glaucoma

Ciliato di forma ovoidale od ellissoidale, leggermente compresso, con ciliatura uniforme, citostoma disposto trasversalmente nella parte laterale del corpo. Lunghezza: 40-80 μm . Macronucleo sferico situato in posizione centrale; vacuolo contrattile nell'ultimo terzo inferiore della cellula. Raro nei fanghi attivi, con una sola specie: *G. scintillans*.



Sathrophilus

Dimensioni 30-50 μm , ovoidale, leggermente appiattito. Cavità orale situata nel primo terzo anteriore del corpo vicino al margine destro del corpo. Il macronucleo è posto nella parte centrale del corpo. Ciliato natante che si trova solitamente nelle acque di scolo. Nei fanghi attivi è talvolta frequente durante la prima fase di colonizzazione dello impianto. Alcune specie sono state osservate negli impianti di depurazione: *S. putrinus* e *S. oviformis*.



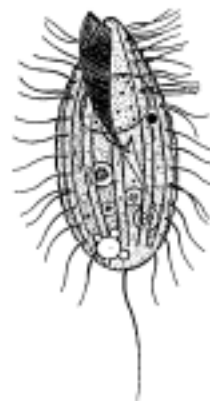
Uronema

Lunghezza 20-30 μm , ovoidale, corpo allungato e lievemente compresso anteriormente. Cavità orale allungata, situata al di sotto del polo anteriore in posizione ventrale. Membrana ondulante lungo il margine destro della cavità orale. Vacuolo contrattile terminale, macronucleo sferico in posizione centrale, spesso spostato verso la parte apicale. Alterna rapidi spostamenti a momenti di completa immobilità. Ciliato tipico dei liquami, nei fanghi attivi è presente con la specie *U. nigricans*.



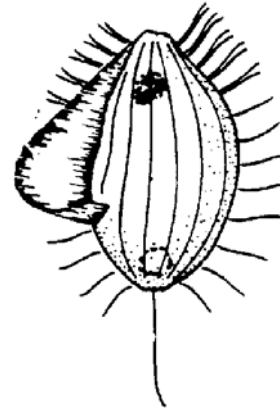
Pseudocohnilembus

Cellula ovoidale, leggermente allungata di dimensioni modeste (30-70 μm), con citostoma posto in posizione sub-apicale. E' evidente la ciliatura orale che si presenta come una lunga membrana ondulante. Lungo cilium caudale. Nei fanghi attivi è presente con la specie *P. pusillus*, tipica degli ambienti polisaprobici.



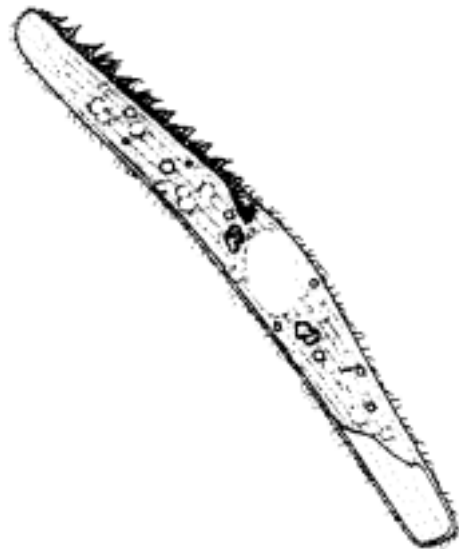
Cyclidium

E' uno dei ciliati più piccoli (15-30 μm), ovoidale con estremità leggermente tronche; polo anteriore libero da ciglia, polo inferiore dotato di un lungo cilium caudale. La membrana ondulante è molto evidente ed è lunga circa la metà del corpo. Macronucleo sferico situato nella metà anteriore; vacuolo contrattile terminale. Si muove con rapidi scatti intervallati da periodi in cui rimane completamente fermo con le ciglia stese. E' infrequente nei fanghi attivi ma comune nelle acque di scolo. Più specie possono essere osservate nei fanghi attivi, tuttavia la più comune è *C. glaucoma*.



Spirostomum

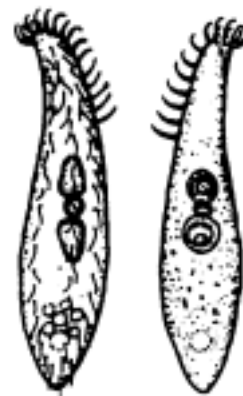
Ciliato estremamente allungato di forma cilindrica, leggermente compressa, dal movimento flessuoso. Lunghezza 150-400 μm ; peristoma decorrente per un terzo della lunghezza del corpo in cui spicca la zona adorale di membranelle. Macronucleo ovale, vacuolo contrattile terminale molto esteso. Nella membrana cellulare si osservano dei pigmenti che colorano la cellula di bruno. Si nutre di batteri, alghe, flagellati. Nuota lentamente sia in avanti che indietro ruotando lungo il proprio asse longitudinale. Infrequente nei fanghi attivi, con la specie *S. teres*. Si osserva in impianti con basso carico del fango o alimentati da liquami diluiti.



FORME MOBILI

Acinertia uncinata

Piccolo ciliato allungato e appiattito, estremamente flessibile, lungo da 30 a 40 μm . La bocca (citostoma) è a fessura diritta ed è posta lateralmente all'apice superiore. Vi sono 2 macronuclei sferici ciascuno dei quali presenta vicino e se un micronucleo. Il vacuolo contrattile è in posizione terminale. La ciliatura somatica è situata sul lato destro ed è composta di 20-22 file di ciglia. Le ciglia sul margine ventrale del polo anteriore sono trasformate in uncini regolarmente cur

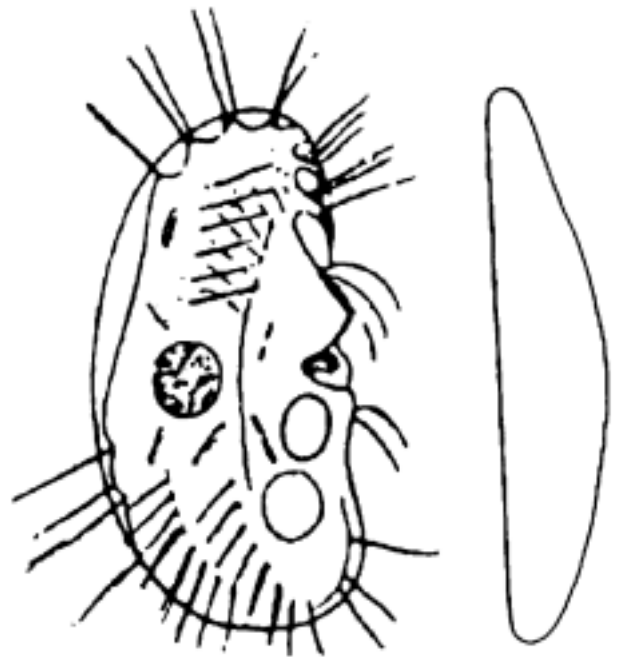


vati (poco visibili alla normale osservazione microscopica in campo chiaro). Abbastanza comune nel fango attivo dove spesso è anche numeroso. Si nutre di piccoli flagellati e di batteri dispersi. Esplica la propria attività presso il fiocco di fango in cui si insinua facilmente per la sua forma snella e la sua

flessibilità. Precedentemente inserito nel gruppo dei ciliati natanti col nome di *Trachelophyllum pusillum*, è ora collocato tra i mobili in seguito agli studi compiuti da Madoni (1996).

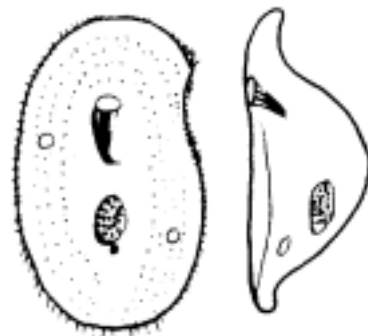
Drepanomonas revoluta

Ciliato reniforme leggermente allungato, appiattito e rigido, con la superficie scolpita da pieghe curvate. Da tali pieghe si diparte la ciliatura somatica. Il lato concavo della cellula porta una intaccatura in corrispondenza del citostoma e, intorno a questa regione, sono presenti gruppi di ciglia. Il vacuolo contrattile è in posizione sub-terminale. Le sue dimensioni sono modeste, la lunghezza è di circa 30 μm e la larghezza oscilla da 10 a 15 μm . Si nutre di batteri dispersi. Alterna fasi di nuoto in cui esegue brevi spostamenti, ad altrettanto brevi periodi di sosta. Anche questa specie svolge la propria attività nei pressi del fiocco di fango ed è stata recentemente spostata dal gruppo dei ciliati natanti nel quale era prima inserita (Madoni, 2000)



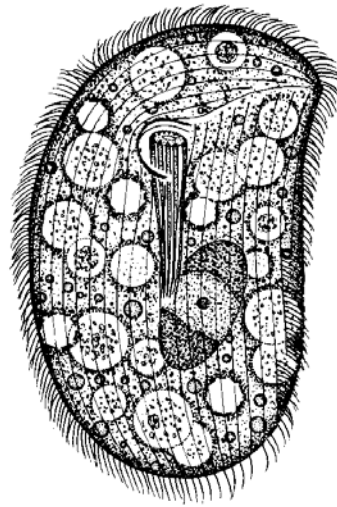
Chilodonella

Ciliato di forma ovale, appiattito lungo il margine; superficie ventrale anteriormente piatta recante numerose fila di ciglia; superficie dorsale convessa e priva di ciglia. Ventralmente si apre il citostoma rotondo; citofaringe sporgente a forma di cornucopia. Macronucleo ovale, due vacuoli contrattili. Dimensioni 40-70 μm . E' flessibile e si muove strisciando sul substrato. Nei fanghi attivi è presente con *C. uncinata*. Abbastanza comune nei fanghi attivi.



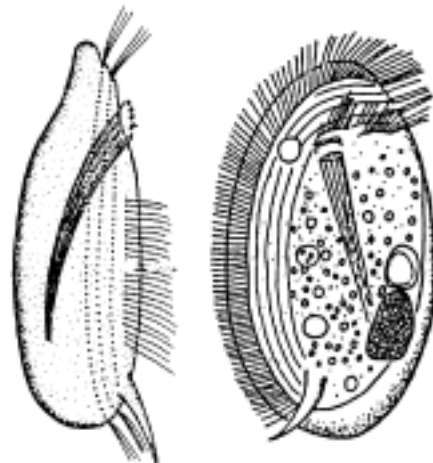
Trithigmostoma

Dimensioni variabili (da 75 a 300 μm , normalmente 150 μm), è del tutto simile a *Chilodonella*. Si differenzia, oltre che per le dimensioni, per avere un numero superiore di vacuoli contrattili (6-8). Rara nei fanghi attivi con una sola specie: *T. cucullulus*.



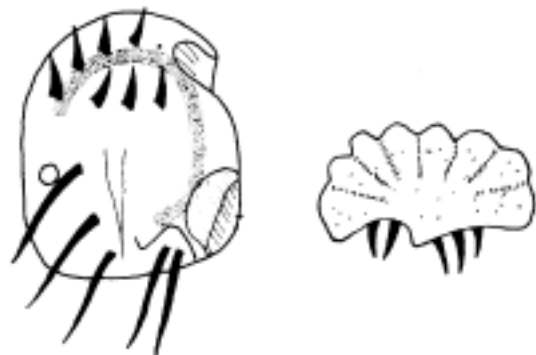
Trochilia

Piccolo ciliato a forma di oliva, lungo 25-40 μm . La superficie dorsale è convessa mentre quella ventrale è piatta. La ciliatura è presente solo nella parte ventrale. Il citostoma è posto in un solco vicino al lato destro. La parte terminale è provvista di una spina. Macronucleo sferico centrale; 2 vacuoli contrattili. Striscia sul fango o lungo i filamenti. Una sola specie è presente nei fanghi attivi (*T. minuta*), spesso associata a *Chilodonella*.



Aspidisca cicada

Ciliato di piccole dimensioni (25-40 μm), di forma tondeggiante fornito di una rigida pellicola. Superficie dorsale convessa e provvista di 6 solchi; superficie ventrale piatta, portante 7 cirri frontoventrali e 5 trasversali. La cavità orale si apre nella parte posteriore del margine sinistro. Macronucleo nastriforme ripiegato a C. Vacuolo contrattile vicino al margine destro. Si muove in continuazione sul fiocco di fango per mezzo dei cirri. Molto comune e abbondante nei fanghi attivi.



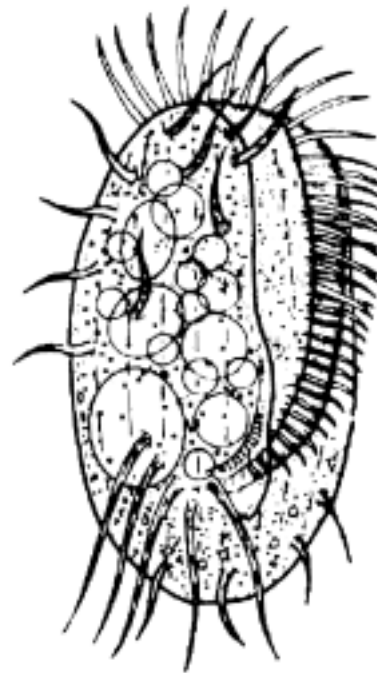
Aspidisca lynceus

Le caratteristiche morfologiche e comportamentali di questa specie sono simili a quelle di *A. cicada*; si distingue per le dimensioni più grandi (30-50 μm), e per la superficie dorsale liscia e più appiattita. Specie molto meno comune della precedente.



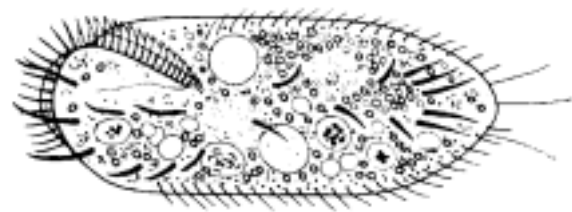
Euplotes

Ciliato di forma ovale, appiattito dorso ventralmente, rigido. La superficie dorsale è percorsa da evidenti solcature; la superficie ventrale, appiattita, porta numerosi cirri. Il citostoma si apre nella superficie ventrale ed è circondato da una lunga ed evidente zona adoralte di membranelle. Si differenzia da *Aspidisca* per la maggiore dimensione (mediamente 40-70 μm), la forma più allungata e per il movimento che, oltre ad essere meno agitato, è alternato da periodi di pausa. Alcune specie sono abbastanza comuni nei fanghi attivi (*E. affinis*, *E. moebiusi*); tuttavia talvolta si osserva la presenza di *E. patella*, una specie molto simile alle precedenti, ma di dimensioni molto più grandi (80-145 μm). La sua presenza è legata all'ingresso di liquami diluiti.



Stylonychia

Ciliato ovale, allungato dal corpo rigido e molto appiattito. Dimensioni variabili da specie a specie, mediamente 100-150 μm . Margine destro e sinistro più o meno paralleli. Ventralmente, oltre al citostoma, si osservano numerosi cirri di cui 3 caudali che fuoriescono posteriormente dal corpo. Due macronuclei e un vacuolo contrattile in posizione mediana. Abbastanza infrequente nei fanghi attivi; due specie possono essere osservate: *S. putrina* e *S. mytilus*.



FORME SESSILI

A questo gruppo funzionale appartengono quasi esclusivamente ciliati della sottoclasse Peritrichia; con l'unica eccezione della specie *Stentor*, che appartiene alla Classe Polyhymenophora.

I peritrichi sono ciliati sessili a forma di coppa o campana rovesciata che si attaccano al substrato per mezzo di un peduncolo. Essi mancano della ciliatura somatica e sono dotati di una zona adorale di membranelle solo intorno al polo apicale sul quale si apre il citostoma. I peritrichi possono essere singoli o coloniali; il loro peduncolo può essere rigido o contrattile. La contrattilità del gambo è dovuta alla presenza di un mionema all'interno del peduncolo (Fig. 11).

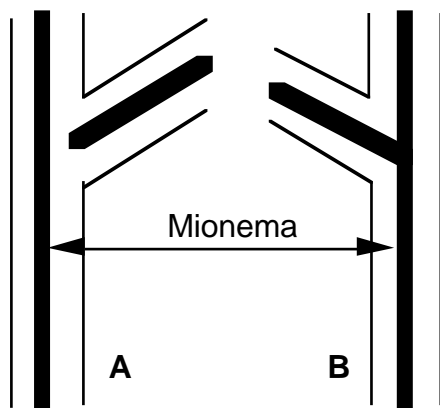


Fig. 11. Nel genere *Carchesium* (A) il mionema di ogni peduncolo rimane isolato da quello degli altri che formano la colonia; nel genere *Zoothamnium* (B) il mionema di ogni peduncolo si unisce a quello del gambo su cui termina.

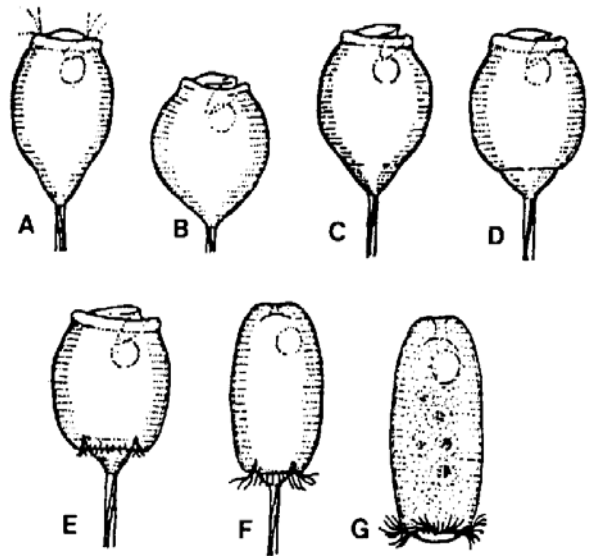
Il macronucleo dei peritrichi è prevalentemente nastriforme; il vacuolo contrattile è situato in posizione sub apicale. Gli individui sessili possono sviluppare, in determinati momenti della loro vita, formeliberamente natanti (telotrochi) senza peduncolo e provviste posteriormente di un anello di ciglia. Il telotroco è il mezzo con cui le forme sessili possono colonizzare nuovi substrati.

CHIAVE PER IL RICONOSCIMENTO DEI PERITRICHICI

- | | |
|--|---------------------|
| 1 Forme libere | stadio di telotroco |
| - Forme sessili | 2 |
| 2 Presenza di una lorica entro la quale sono situati 1-2 individui | <i>Vaginicola</i> |
| - Lorica assente | 3 |
| 3 Individui solitari | <i>Vorticella</i> |
| - Individui coloniali | 4 |
| 4 Peduncolo contrattile | 5 |
| - Peduncolo non contrattile | 6 |
| 5 Mionemi dei peduncoli uniti fra loro in modo che l'intera colonia si contrae insieme | <i>Zoothamnium</i> |
| - Mionemi dei peduncoli separati, i singoli gambi possono contrarsi separatamente | <i>Carchesium</i> |
| 6 Peristoma largo circondato da un rigonfiamento a forma di labbro | <i>Epistylis</i> |
| - Peristoma piccolo, privo di rigonfiamento | <i>Opercularia</i> |

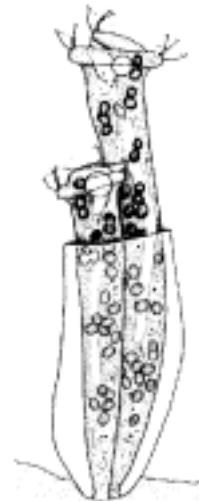
Telotroco

Il telotroco è la forma liberamente natante dei ciliati Peritrichi. Esso si forma, generalmente, al termine di una scissione longitudinale. Una delle due cellule originate dalla scissione forma una corona di ciglia nella parte inferiore del corpo, nel punto in cui si unisce al peduncolo. Staccatasi da questo, con l'aiuto della corona di ciglia, si sposta nel mezzo liquido alla ricerca di un substrato su cui fissarsi e dare origine ad una nuova colonia. I telotrochi hanno forma e dimensione diverse da specie a specie, è quindi difficile attribuire i telotrochi osservati in un campione di fango alle rispettive specie di appartenenza quando queste siano più di una.



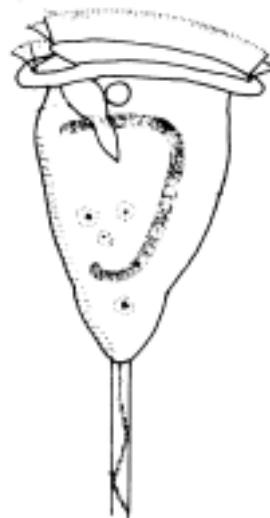
Vaginicola

Animali loricati, solitari (1-2 individui all'interno della lorica, con o senza gambo, che presentano un corpo allungato, a tromba, la cui estremità apicale, ove è posta l'apertura orale, fuoriesce dalla lorica quando l'animale è completamente disteso. Lunghezza 100-200 μm , lorica incolore di forma cilindrica o a vaso. La specie più frequentemente osservata nei fanghi attivi è *V. crystallina*; essa compare solitamente in impianti a basso carico e lunga età del fango e può diventare molto abbondante quando l'impianto nitrifica.



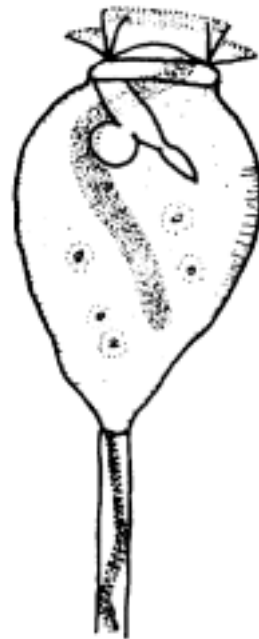
Vorticella convallaria

Lunghezza 40-120 μm , lunghezza peduncolo 200-500 μm . Corpo a forma di coppa in cui il diametro massimo della cellula è al peristoma. Citoplasma lievemente giallo, macronucleo nastriforme a forma di C. I vacuoli alimentari sparsi nel citostoma hanno il contorno leggermente ovale. Come in tutti i Peritrichi, la ciliatura è limitata alla sola zona adorale. Molto comune nei fanghi attivi.



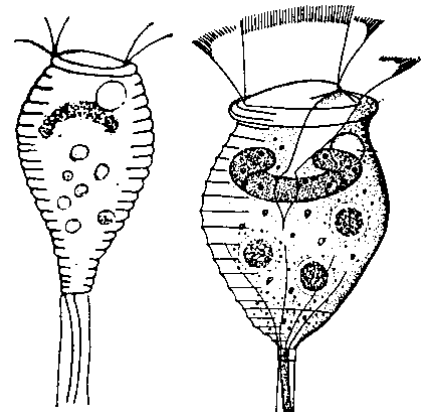
***Vorticella microstoma* - complex**

Lunghezza 35-80 μm , lunghezza del peduncolo sino a 400 μm . Peristoma nettamente ristretto (12-25 μm) in modo che al disotto di esso la cellula presenta punti in cui il diametro è maggiore. La superficie del corpo è, come la maggior parte dei peritrichi, striata leggermente; il macronucleo è a forma di C disposto longitudinalmente. Frequente nei fanghi attivi, soprattutto nelle fasi di avviamento o ri-avviamento dell'impianto. La sua presenza dominante si verifica in occasione di basso rendimento di depurazione biologica dovuto quasi sempre a carenze di ossigenazione. Può essere confusa con la più frequente *V. infusionum* -complex che ha le stesse caratteristiche ecologiche ma si distingue per avere il macronucleo semicircolare in posizione trasversa all'asse della cellula.



Vorticella aquadulcis

Ciliato molto simile a *V. microstoma*; ne differisce tuttavia per le dimensioni più ridotte (lunghezza 20-50 μm , pedungolo 50-300 μm) e per la striatura del corpo che è leggermente più marcata. Inoltre il macronucleo è disposto trasversalmente intorno al citofaringe. E' abbastanza comune nei fanghi attivi. La sua presenza abbondante è associata ad una buona ossigenazione.



Carchesium

Ciliati coloniali le cui colonie possono raggiungere dimensioni superiori al millimetro; i singoli individui hanno dimensioni medie di 80-140 μm . La forma a campana è molto simile a quella di *V. comvallaria*, con ampio peristoma. Il macronucleo è a forma di C, la pellicola esterna non è striata. I mionemi dei singoli peduncoli non sono uniti tra loro, così ogni individuo della colonia può contrarsi indipendentemente. Poco frequente nei fanghi attivi con la specie *C. polypinum*.



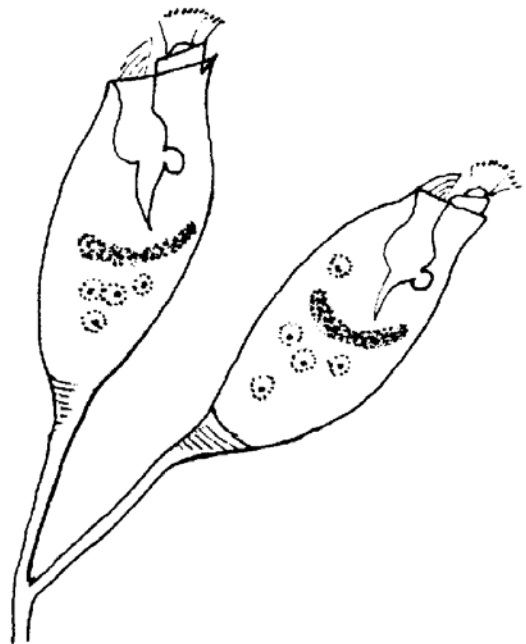
Zoothamnium

Peritrichi coloniali che si differenziano da *Carchesium* per avere i micronemi dei peduncoli uniti tra loro. Tale caratteristica si manifesta con contrazioni simultanee di tutti gli individui che formano la colonia. Dimensioni molto variabili da specie a specie (50-100 μm). Abbastanza frequenti nei fanghi attivi; tra le specie più comuni vi sono *Z. asellicola* e *Z. mucedo*.



Opercularia

Ciliati coloniali dal peduncolo non contrattile e quindi privo di micronema. La ciliatura orale si estende intorno ad una struttura che fuoriesce dal peristoma (opercolo) all'apice anteriore del corpo. Intorno al peristoma non si osserva il rigonfiamento tipico degli altri peritrichi. Le colonie non sono mai formate da numerosi individui, solitamente non più di 4-8. Le dimensioni delle cellule variano da specie a specie. Nei fanghi attivi sono molto comuni e sono presenti prevalentemente con tre specie: *O. coarctata* (45-50 μm), *O. microdiscus* (70-90 μm) e *O. minima* (25-40 μm). Specie molto tolleranti a condizioni stressanti come la presenza di metalli pesanti, deficit di ossigenazione, ecc.



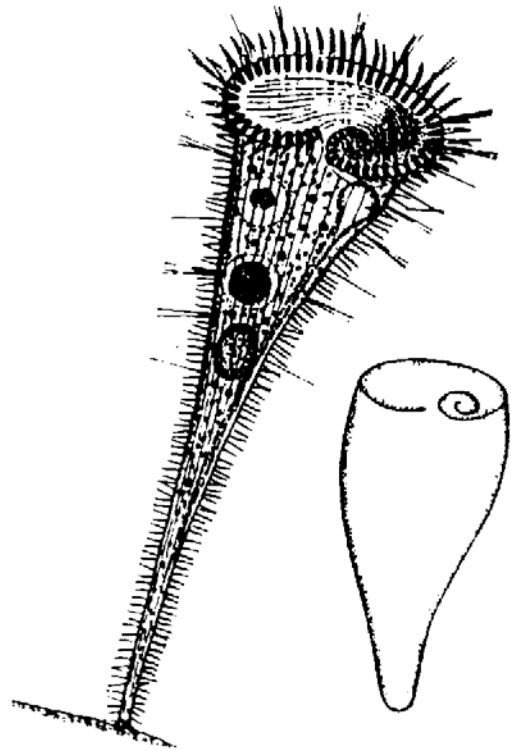
Epistylis

Organismi coloniali a peduncolo rigido che si differenziano da *Opercularia* per il rigonfiamento intorno al peristoma e dall'opercolo non sporgente. I peduncoli sono generalmente larghi; alcune specie presentano delle striature longitudinali e delle segmentazioni nei peduncoli. Le dimensioni variano da specie a specie, tuttavia le dimensioni sono spesso rilevanti (100-300 μm). Le colonie possono raggiungere dimensioni molto estese e possono essere formate anche da centinaia di individui. Diverse specie sono state osservate nei fanghi attivi. La più frequente è *E. plicatilis*.



Stentor

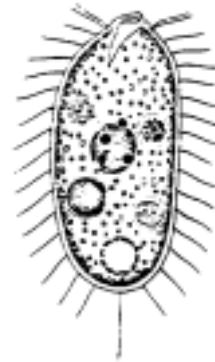
Ciliato appartenente alla Classe Polyhymenophra. A differenza dei Peritrichi, non presenta lo stadio di telotroco; esso infatti, pur essendo forma sessile, è in grado di spostarsi alla occorrenza per colonizzare nuovi substrati. La forma è quella di una tromba ma, se disturbato, può contrarsi assumendo la forma di una palla. E' tra i ciliati di più grandi dimensioni, alcune specie possono raggiungere, in piena distensione, il millimetro di lunghezza. Molte specie sono colorate (verde, bruno, blu, rosa). La parte basale con cui si attacca al substrato può presentare un involucro gelatinoso. Poco frequente nei fanghi attivi; si osserva in fanghi a basso carico e lunga età.



CILIATI CARNIVORI

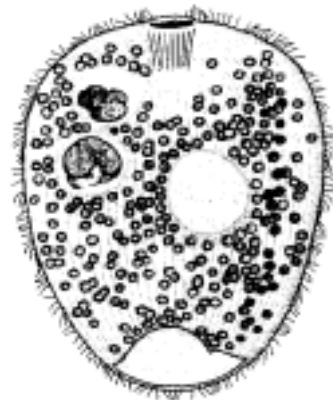
Plagiocampa

Dimensioni 40 μm circa, ovoidale od elissoidale, con apertura orale posta all'apice della cellula. Possiede un macronucleo tondeggiante in posizione centrale e un vacuolo contrattile nella parte inferiore. Si muove velocemente tra i fiocchi di fango alla ricerca di prede. Frequente nei fanghi attivi con la specie *P. rouxi*.



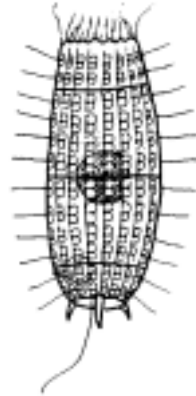
Prorodon

Ciliato dalla forma ovale o sferica con una ciliatura somatica completa ed uniforme. Dimensioni variabili da specie a specie (50-400 μm). La bocca, apicale, è di forma circolare e comunica con un citofaringe tubulare. Nuota abbastanza velocemente alla ricerca di cibo che può essere costituito da alghe, flagellati e ciliati. Raro nei fanghi attivi. La sua presenza è stata osservata in impianti nitrificanti.



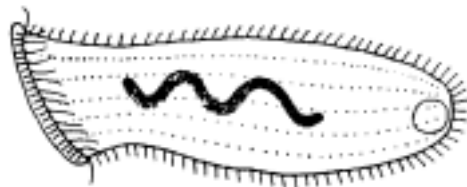
Coleps hirtus

Ciliato a forma di barile lungo 50-70 μm , dotato di caratteristiche placche sulla superficie esterna che lo rendono inconfondibile. La bocca apicale larga gli consente di nutrirsi di un'ampia varietà di organismi che vanno da liquidi organici, alghe, batteri, flagellati e ciliati. All'apice inferiore presenta delle spine e un lungo cilium caudale. Nuota velocemente cambiando spesso direzione. Non comune nei fanghi attivi. Presenta una bassa tolleranza allo ione ammonio e alla ammoniaca; esso pertanto non si trova in ambienti con alta concentrazione di questi composti azotati. Si osserva in occasione di impianti che trattano liquami a basso contenuto di composti azotati, soprattutto con residui vegetali. La presenza abbondante di questa specie è spesso correlata ad una buona efficienza depurativa.



Spathidium

Ciliato a forma di sacco o di fiasco, compresso più o meno lateralmente. La regione anteriore si presenta più o meno assottigliata a formare un 'collo' e troncata. Il citostoma occupa interamente la parte apicale, ed è circondato da un labbro provvisto di tricocisti. La ciliatura è uniforme, il vacuolo contrattile è terminale. Si nutre di altri ciliati e si sposta velocemente alla loro ricerca. Le dimensioni variano molto da specie a specie, tuttavia mediamente la lunghezza oscilla da 100 a 300 μm . Abbastanza raro nei fanghi attivi; sono state osservate alcune specie.



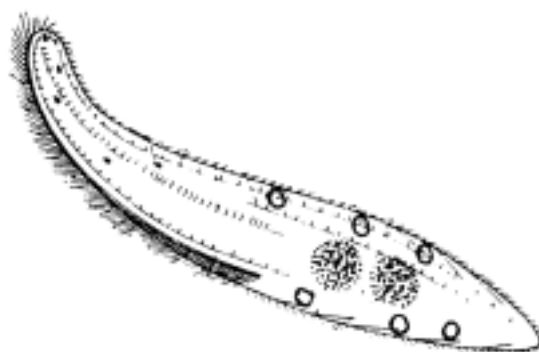
Litonotus

I ciliati appartenenti a questo genere hanno corpo flessibile, appiattito, allungato e affusolato nella parte anteriore. La bocca è rappresentata da una lunga fessura che parte dall'apice e decorre lateralmente sino a circa metà della cellula. Lunghezza media di circa 100 μm . Un solo vacuolo contrattile, posto in posizione terminale. Macronucleo in due parti. Si nutrono prevalentemente di ciliati peritrichi. Molto comuni nei fanghi attivi, sono state osservate alcune specie di cui la più frequente è *L. fasciola*.



Amphileptus

Ciliati molto simili per forma a quelli appartenenti al genere *Litonotus*. Nella parte anteriore lungo la fessura del citostoma, si osservano numerosi tricocisti. I vacuoli contrattili possono essere più di uno e disposti lateralmente. Dimensioni normalmente maggiori di 100 μm (100-400 μm). Si nutrono di ciliati peritrichi. Infrequenti nei fanghi attivi; presenti soprattutto con *A. claparedei*.



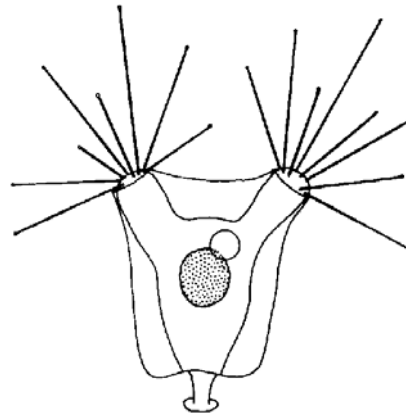
I Suttori formano una sottoclasse che raggruppa i ciliati che nella forma adulta non hanno ciglia bensì tentacoli che vengono usati a scopi alimentari. Sono tutti carnivori e si riproducono dando origine, per

SUTTORI

gemmazione, a larve ciliate. Molte specie sono sessili. Tre generi sono presenti frequentemente nei fanghi attivi: *Acineta*, *Podophrya* e *Tokophrya*.

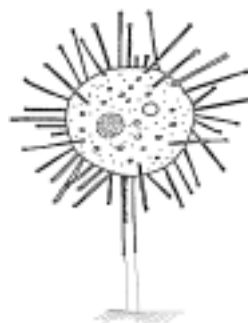
Acineta

Ciliati sessili. Cellula adulta di forma da conica a cilindrica racchiusa entro una lorica che è sostenuta da un peduncolo rigido. I tentacoli sono normalmente disposti in due gruppi. Nucleo tondeggiante situato centralmente, vacuolo contrattile terminale. Come in tutti i suttori, all'apice dei tentacoli si trovano delle ventose che hanno lo scopo di fissare le prede che inavvertitamente urtano il tentacolo e di estrarre il citoplasma di cui si nutrono. Dimensioni molto variabili da specie a specie (30-300 μm). Infrequenti nei fanghi attivi.



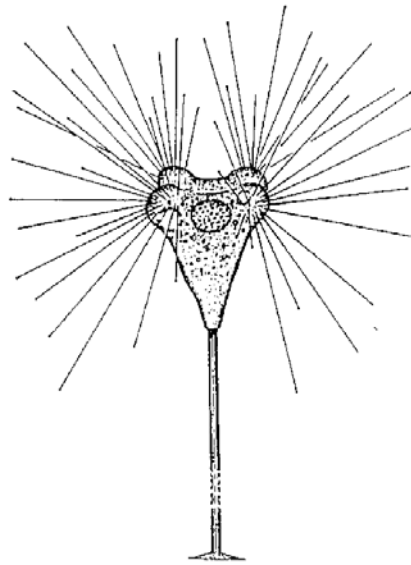
Podophrya

Ciliati dal corpo piuttosto sferico su cui sono disposti, radialmente, i tentacoli. Questi sono più o meno equidistanti e non formano mai fasci o gruppi. Macronucleo sferico; diametro della cellula variabile da specie a specie (10-100 μm). La cellula non è racchiusa entro una lorica. Frequente nei fanghi attivi con più specie.



Tokophrya

Forma del corpo variabile, spesso piramidale con la punta verso il basso su cui poggia il peduncolo rigido. I tentacoli non sono disposti uniformemente lungo la cellula come in *Podophrya*, ma sono raggruppati in 2 o 4 fasci nella parte anteriore. Dimensioni variabili (50-200 μm). Frequente nei fanghi attivi, soprattutto con la specie *T. quadripartita*. Spesso si osserva questa specie fissarsi al peduncolo di una colonia di *Epistylis*.



5.2. METAZOI

Sono animali costituiti da più cellule riunite a formare tessuti e organi. La loro complessità organizzativa è tale per cui, generalmente, il loro ciclo riproduttivo è più lento di quello dei protozoi. Per questo motivo la loro presenza negli impianti di depurazione a fanghi attivi è limitata ad alcune forme semplici con tempi di generazione minori dell'età del fango. Negli impianti ad ossidazione totale, pertanto, la loro presenza è usuale, mentre nei fanghi attivi convenzionali la loro presenza è sporadica. I

metazoi con effettiva possibilità di svilupparsi all'interno della vasca di aerazione sono: rotiferi, nematodi e gastrotrichi. Altre forme come crostacei, larve di insetti, oligocheti, ecc., possono essere osservate sporadicamente nel fango attivo; tuttavia queste forme entrano passivamente nell'impianto attraverso il liquame, senza avere reali possibilità di riprodursi prima di uscirne attraverso l'effluente finale (organismi di drift).

Nematodi

Vermiformi, lunghi da 300 a 1.000 μm , si muovono con un caratteristico movimento a frusta. I sessi sono generalmente separati. I nuovi individui si sviluppano da uova deposte.



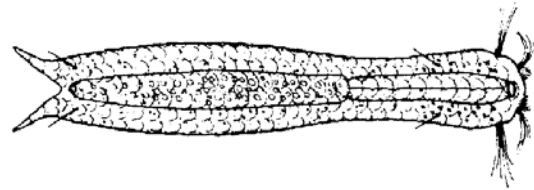
Rotiferi

Animali dalla forma assai variabile da specie a specie; negli impianti di depurazione sono più frequenti quelli appartenenti al genere *Rotaria*. Questi sono allungati ed estensibili come un telescopio, di lunghezza media 200-500 μm , dotati apicalmente di un apparato rotatorio con cui filtrano l'acqua circostante. Possiedono un apparato masticatore che macina continuamente. Si riproducono prevalentemente per partenogenesi.



Gastrotrichi

Animalletti setolosi, leggermente allungati, di forma vagamente cilindrica. Dimensioni medie: 100-300 μm . La parte terminale è biforcuta. Lungo il corpo si osservano setole o aculei a volte discretamente lunghi. Rari nei fanghi attivi; la loro presenza si osserva in occasione di liquami molto diluiti o di carichi del fango piuttosto bassi.



Tardigradi

Animali dalla forma cilindrica con quattro paia di tronconi di zampette; ogni zampa termina con una coppia di doppi artigli utilizzati per arrampicarsi. La loro lunghezza varia da 500 μm a 1200 μm . Rari nei fanghi attivi, la loro presenza è legata a fanghi di età molto elevata.



6. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Aescht E. & Foissner W. (1992). Biology of a high-rate activated sludge plant of a pharmaceutical company. *Arch. Hydrobiol. /Suppl.* **90**, 207-251.
- Al-Shahwani S. M. & Horan N. J. (1991). The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants. *Wat. Res.* **25**, 633-638.
- Antonietti R., Broglio P. & Madoni P. (1982). Valutazione di parametri biologici come indici di efficienza di depurazione in impianti a fanghi attivi. *Ingegneria Ambientale* **11**, 472-477.
- Becares E. (1991). Microfauna of an activated sludge pilot plant treating effluents from a pharmaceutical industry. In: *Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives* (Madoni P., Ed.), p. 105-108. Centro Bazzucchi, Perugia.
- Bedogni G., Falanelli A. & Pedrazzi R. (1991). Evaluation of the abundance ratio between crawling and attached ciliates in the management of an activated sludge sewage-treatment plant. In: *Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives* (Madoni P., Ed.), p. 229-233. Centro Bazzucchi, Perugia.
- Bick H. (1972). *Ciliated Protozoa*. World Health Organization, Geneva, p. 198.
- Bukhari Z., Smith H.V., Sykes N., Humphreys S.W., Paton C.A., Girdwood R.W.A. & Fricker C.R. (1997). Occurrence of *Cryptosporidium* spp oocysts and *Giardia* spp cysts in sewage influents and effluents from treatment plants in England. *Wat. Sci. Tech.*, **35**(11-12), 385-390.
- Cardinaletti M. & Zitelli A. (1991). Distribuzione tassonomica della microfauna in una unità da laboratorio a fanghi attivati ricevente liquami urbano-industriali addizionati di zinco solubile. Parte II. In: *Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives* (Madoni P., Ed.), p. 59-74. Centro Bazzucchi, Perugia.
- Chierici E. & Madoni P. (1991). Analisi comparata della microfauna del fango attivo di piccoli impianti municipali. In: *Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives* (Madoni P., Ed.), p. 83-87. Centro Bazzucchi, Perugia.
- Curds C.R. (1966). An ecological study of the ciliated protozoa in activated sludge. *Oikos* **15**, 282-289.
- Curds C. R. (1969). *An Illustrated Key to the British Freshwater Ciliated Protozoa Commonly Found in Activated Sludge*.

- Water Pollution Research Technical Paper No 12. HMSO, London.
- Curds C. R. (1971). A computer simulation study of predator-prey relationship in a single-stage continuous-culture system. *Wat. Res.* **5**, 793-812.
- Curds C. R. (1975). Protozoa. In: *Ecological Aspects of Used Water Treatment* (Curds C. R. & Hawkes H. A., Ed.), p. 203-268, Academic Press, London.
- Curds C. R. & Cockburn A. (1970a). Protozoa in biological sewage-treatment processes. I. A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated sludge plants. *Wat. Res.* **4**, 225-236.
- Curds C. R. & Cockburn A. (1970b). Protozoa in biological sewage-treatment processes. II. Protozoa as indicators in the activated-sludge process. *Wat. Res.* **4**, 237-249.
- Curds C.R. & Fey G.J. (1969). The effect of ciliated protozoa on the fate of *Escherichia coli* in the activated-sludge process. *Water Res.* **3**, 853-867.
- Curds C.R., Cockburn A. & Vandyke J.M. (1968). An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated sludge process. *Wat. Poll. Contr.* **67**, 312-329.
- De Marco N., Gabelli A., Cattaruzza C. & Petronio L. (1991). Efficienza depurativa di impianti biologici: alcune esperienze su depuratori municipali dell'area Pordenonese (Italia). In: *Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives* (Madoni P., Ed.), p. 247-251. Centro Bazzucchi, Perugia.
- Drakides C. (1978). L'observation microscopique des boues activées appliquée à la surveillance des installations d'épuration: Technique d'étude et interpretation. *T.S.M.-L'Eau* **73**, 85-98.
- Drakides C. (1980). La microfaune des boues activées. Etude d'une méthode d'observation et application au suivi d'un pilote en phase de démarrage. *Wat. Res.*, **14**, 1199-1207.
- Esteban G. & Tellez C. (1992). The influence of detergents on the development of ciliate communities in activated sludge. *Wat. Air Soil Pollut.* **61**, 185-190
- Esteban G., Tellez C. & Bautista L. M. (1990). Effects of habitat quality on ciliated protozoa communities in sewage treatment plants. *Environ. Technol.* **12**, 381-386.
- Esteban G., Tellez C. & Bautista L. M. (1991). Dynamics of ciliated protozoa communities in activated-sludge process. *Wat. Res.* **25**, 967-972.
- Foissner W. (1988). Taxonomic and nomenclatural revision of Slàdecek's list of ciliates (Protozoa: Ciliophora) as indicators of water quality. *Hydrobiologia* **166**, 1-64.

- Foissner W. (1991). Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of Ciliated Protozoa. *Europ. J. Protistol.* **27**, 313-330.
- Foissner W., Blatterer H., Berger H. & Kohmann F. (1991). *Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobien-system.* Band I. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München.
- Foissner W., Berger H. & Kohmann F. (1992). *Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobien-system.* Band II. Peritrichia, Heterotrichia, Odontostomatidia. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München.
- Foissner W., Berger H. & Kohmann F. (1994). *Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobien-system.* Band III. Hymenostomatida, Prostomatida, Nassulida. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München.
- Foissner W., Berger H., Blatterer H. & Kohmann F. (1995). *Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobien-system.* Band IV. Gymnostomatea, *Loxodes*, Suctoria. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München.
- Hibler C.P. & Hancock C.M. (1990). Waterborne Giardiasis. In: *Drinking Water Microbiology* (G.A. McFeters, ed.), p. 294-321, Springer-Verlag, New York.
- Klimowicz H. (1970). Microfauna of activated sludge. Part I. Assemblage of microfauna in laboratory models of activated sludge. *Acta Hydrobiol.* **12**, 357-376.
- Levine N.D. *et al.* (1980). A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool.* **27**, 37-58.
- Madoni P. (1981). *I Protozoi Ciliati degli Impianti Biologici di Depurazione.* CNR. AQ/1/167, Roma, p. 1-134.
- Madoni P. (1982). Growth and succession of ciliate populations during the establishment of a mature activated sludge. *Acta Hydrobiol.* **24**, 223-232.
- Madoni P. (1984). Estimation of the size of freshwater ciliate populations by a subsampling technique. *Hydrobiologia* **111**, 201-206.
- Madoni P. (1986). Protozoa in waste treatment systems. In: *Perspectives in Microbial Ecology* (Megusar F. & Gantar M., Ed.), p. 86-90, Slovene Society of Microbiologists, Ljubljana.
- Madoni P. (1988). *I Protozoi Ciliati nel Controllo di Efficienza dei Fanghi Attivi.* C.I.S.B.A., Reggio Emilia, p. 1- 82.
- Madoni P. (1991). Role of protozoans and their indicator value in the activated sludge process. In: *Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives* (Madoni P., Ed.), p. 21-28, Centro Bazzucchi, Perugia.

- Madoni P. (1994a). Estimates of ciliated protozoa biomass in activated sludge and biofilm. *Biores. Technol.* **48**, 245-249.
- Madoni P. (1994b). A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge based on the microfauna analysis. *Wat. Res.* **28**, 67-75.
- Madoni P. (1994c). *La microfauna nell'analisi di qualità biologica dei fanghi attivi*. AGAC, Università degli Studi di Parma.
- Madoni P. (1996). The sludge biotic index for the evaluation of the activated-sludge plant performance: the allocation of the ciliate *Acineria uncinata* to its correct functional group. *Acta Protozool.* **35**, 209-214.
- Madoni P. (2000). The allocation of the ciliate *Drepanomonas revoluta* to its correct functional group in evaluating the sludge biotic index. *Europ. J. Protistol.* **36**, 465-471.
- Madoni P. & Antonietti R. (1984). Colonization dynamics of Ciliated Protozoa populations in an activated sludge plant. *Atti IV Simposio di Dinamica di Popolazioni, Parma*. p. 105-112.
- Madoni P. & Ghetti P. F. (1981). The structure of Ciliated Protozoa communities in biological sewage-treatment plants. *Hydrobiologia* **83**, 207-215.
- Madoni P. & Poli M. (1981) Struttura e dinamica dei popolamenti di protozoi ciliati in impianti a ossidazione totale. *S.It.E. Atti* **1**, 537.
- Madoni P., Davoli D. & Chierici E. (1993). Comparative analysis of the activated sludge microfauna in several sewage treatment works. *Wat. Res.* **27**, 1485-1491.
- Pagnotta R. & Tommasi M. (1979). Applicazione di parametri biologici allo studio del fenomeno del bulking. *Inquinamento* **21**, 27-32.
- Poole J. E. (1984). A study of the relationship between the mixed liquor fauna and plant performance for a variety of activated sludge sewage treatment works. *Wat. Res.* **18**, 281-287.
- Ramirez E., Warren A., Rivera F., Bonilla P., Rodriguez S., Calderon A., Ortiz R. & Gallegos E. (1993). An investigation of the pathogenic and non-pathogenic free-living amoebae in an activated-sludge plant. *Water, Air Soil Pollut.* **69**, 135-139.
- Ricci N. (ed.) (1989). *Lezioni di Protozoologia*. Ed. Libreria Baroni, Pisa.
- Rose J.B. (1990). The occurrence and control of *Cryptosporidium*. In: *Drinking Water Microbiology* (G.A. McFeters, ed.), p. 294-321, Springer-Verlag, New York.
- Sasahara T. & Ogawa T. (1983). Treatment of brewery effluent. Part VIII: Protozoa and Metazoa found in the activated sludge

- process for brewery effluent. *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **11**, 443-448.
- Sladeczek V. (1973). System of water quality from the biological point of view. *Arch. Hydrobiol. Ergeb. Limnol.* **7**, 1-217.
- Streble H. & Krauter D. (1981). *Atlante dei microrganismi acquatici*. F. Nuzzio, Ed., Padova.
- Toman M. & Rejic M. (1988). The effects of low concentrations and short-period lack of dissolved oxygen upon the organisms of the concomitant biocenosis in activated sludge. *Z. Wasser-Abwasser-Forsch.* **21**, 189-193.
- Woodiwiss F.S. (1980). Biological monitoring of surface water quality. Summary Report E.E.C. ENV/787/80-EN, Bruxelles.

7. APPENDICE

7.1. *Tecniche di misurazione al microscopio*

Le dimensioni degli organismi che compongono la microfauna dei fanghi attivi possono essere misurate direttamente al microscopio ottico mediante l'impiego di due accessori: il micrometro oculare e il micrometro obiettivo.

Il micrometro oculare è un dischetto di vetro sul quale è incisa una scala graduata. Questa consta di un segmento suddiviso da 100 tacche equidistanti. Il disco viene alloggiato, mediante un apposito anello metallico, all'interno di uno degli oculari.

Il micrometro obiettivo è un vetrino che porta una piccola scala accuratamente calibrata, lunga 1 mm e suddivisa in 100 parti.

Collocato il micrometro obiettivo sul piano porta vetri del microscopio e il micrometro oculare nella sua posizione, si mette a fuoco la scala del micrometro obiettivo. Quando entrambe le scale sono viste insieme, è possibile, ruotando l'oculare e spostando il piano porta vetri del microscopio, sovrapporre una all'altra e fare in modo che anche lo zero dell'una sia

esattamente sullo zero dell'altra. A questo punto si percorre la scala con lo sguardo sino a quando si vede una tacca della scala dell'oculare collimare perfettamente con una del micrometro obiettivo. Supposto che la sesta tacca dell'oculare coincida con la nona tacca del micrometro obiettivo, il rapporto fra le divisioni del micrometro obiettivo e quelle del micrometro oculare esprime il *coefficiente micrometrico (C.M.)*:

$$C.M. = \frac{\text{n}^\circ \text{ divisioni del micrometro obiettivo}}{\text{n}^\circ \text{ divisioni del micrometro oculare}}$$

nel nostro esempio:

$$C.M. = \frac{9}{6} = 1.5$$

Allora, dato che ogni divisione della scala del micrometro obiettivo è di 0.01 mm, cioè 10 μm , una divisione della scala del micrometro oculare misura:

$$\frac{9 \times 0.01}{6} = 0.015 \text{ mm}$$

Le dimensioni microscopiche con gli strumenti ottici sono generalmente espresse in micron (μm), 1 μm corrisponde a 1×10^{-3} mm ed è rappresentato dalla lettera μ (mu). Perciò 0.015 mm sono uguali a:

$$\left(\frac{0.015}{1 \times 10^{-3}} \right) = 15 \mu\text{m}$$

Dato che la scala del micrometro obiettivo appare, per i piccoli ingrandimenti, assai più piccola di quella del micrometro oculare, un altro modo di determinare il coefficiente micrometrico consiste nello stabilire quante tacche del micrometro oculare servono per comprendere tutta la scala (100 tacche) del micrometro obiettivo. Così ad esempio se, osservando con un obiettivo 10x, le 100 tacche del micrometro obiettivo sono comprese in 54 del micrometro oculare, il coefficiente micrometrico è:

$$\text{C.M.} = \frac{100}{54} = 1.85$$

e ogni tacca del micrometro oculare misura, quindi, 18.5 μm (essendo 100 tacche di 10 μm ciascuna comprese in 54 tacche del micrometro oculare). Una volta che il micrometro oculare è stato tarato, può essere rimosso il micrometro obiettivo per lasciar

posto al vetrino contenente gli oggetti da misurare. Per risalire alla misura reale di un oggetto si deve prima misurare quante tacche del micrometro oculare occorrono per coprire l'intera sua lunghezza, poi bisogna moltiplicare il numero delle tacche misurate per il coefficiente micrometrico e per il fattore 10.

Va tenuto presente, comunque, che l'ingrandimento della scala del micrometro obiettivo cambia col cambiare dell'obiettivo, cosicché il coefficiente micrometrico va determinato per ogni coppia oculare-obiettivo.

La tecnica descritta sopra è valida se applicata per determinare la lunghezza e la larghezza di un oggetto. Essa non può essere impiegata per le misurazioni degli spessori o delle profondità. Questi, possono essere misurati direttamente al microscopio utilizzando una apposita scala posta sulla manopola degli spostamenti micrometrici di cui la maggior parte dei microscopi è fornita. Si mette a fuoco la parte superiore dell'oggetto e si legge il valore relativo segnato sulla vite micrometrica. Quindi si mette a fuoco la parte inferiore leggendo ancora il valore relativo segnato sulla vite micrometrica. La differenza fra i due valori rappresenta la misura, in micron, dello spessore.

7.2. *Preparati stabili*

Spesso l'osservazione in vivo non è sufficiente per la completa classificazione di alcuni ciliati. Alcune strutture come ad esempio la ciliatura e il citostoma, che sono caratteri diagnostici molto importanti per la classificazione di molti ciliati, talvolta sono difficilmente osservabili ad una analisi sul vivente. Esistono perciò delle tecniche che consentono di fissare i ciliati senza deformati e di metterne in evidenza alcune strutture fondamentali per la loro classificazione. Ad esempio, la tecnica di impregnazione argentea di Chatton & Lwoff consente di mettere in evidenza l'infrciliatura soprattutto dei ciliati ipotrichi, mentre quella di Fernandez-Galiano dà buoni risultati con gli altri gruppi di ciliati. Il metodo del

protargolo di Tuffrau, consente di mettere in evidenza sia la ciliatura che i nuclei di molte specie soprattutto dei ciliati imenostomi. La reazione Fuelgen, infine, viene impiegata per mettere in evidenza i nuclei di tutti i ciliati. E' necessario però precisare che si tratta di tecniche sofisticate che mettono spesso in difficoltà chi le applica, soprattutto se è inesperto a causa delle micromanipolazioni che richiedono. La semplificazione tassonomica utilizzata per applicare l'indice biotico del fango è tale da non richiedere l'uso di tali tecniche. Tuttavia, una descrizione completa dei metodi sopra esposti è riportata da Madoni (1981) e Foissner (1991).

7.3. *Glossario*

Adorale: relativamente alla posizione, posto vicino alla bocca.

Anteriore: parte frontale della cellula. Essa viene identificata quale parte più avanzata rispetto la direzione normale nel movimento della cellula.

Autotrofi: organismi capaci di costruire da soli, partendo da composti inorganici, le sostanze organiche necessarie al loro sostentamento.

Batteri dispersi: diconsi di batteri che, non flocculando, rimangono in sospensione sia nella miscela aerata che nel surnatante della vasca di sedimentazione finale. Da quest'ultima essi escono attraverso l'effluente.

Cavità orale: cavità, generalmente ciliata, attraverso cui passa il cibo. Essa si apre direttamente all'esterno e termina, dal lato opposto, nel citostoma.

Ciglia: fini protuberanze protoplasmatiche disposte sulla superficie cellulare dei ciliati

che svolgono prevalentemente funzioni locomotorie.

Cinezie: file longitudinali lungo le quali si dispongono le ciglia.

Cirri: gruppi di ciglia fuse insieme in un unico organello. I cirri, situati sulla superficie ventrale dei ciliati appartenenti all'Ordine Hypotrichida, si distinguono secondo la loro posizione in: frontali, ventrali, trasversali, marginali e caudali.

Citofaringe: apertura a tubo dei ciliati attraverso cui passa il cibo proveniente dal citostoma e diretto al citoplasma.

Citoplasma: contenuto interno della cellula ad eccezione dei nuclei.

Citostoma: è la bocca dei protozoi ciliati.

Dominanza: l'indice di dominanza (D) misura la dominanza (in termini di numero di individui) della specie più abbondante sul totale degli individui appartenenti a tutte le altre specie. L'indice di dominanza è espresso dalla formula:

$$D = \frac{N_{\max}}{N}$$

dove N_{\max} è il n° di individui della specie più abbondante e N è il totale degli individui raccolti o catturati.

Endoplasma: la parte più interna del citoplasma, delimitata dall'esterno dallo ectoplasma dal quale si differenzia per la maggior fluidità.

Eterotrofi: organismi che si alimentano direttamente di sostanze organiche necessarie al loro sostentamento.

Fagotrofia: dicesi di alimentazione per inglobamento di materiale vario. Nelle amebe avviene per mezzo di appendici protoplasmatiche (pseudopodi) e prende il nome di fagocitosi.

Flagello: Struttura filamentosa usata per la locomozione. Strutturalmente uguale alle ciglia dei ciliati.

Ialino: chiaro, non granuloso.

Lorica: involucro membranoso dentro il quale vivono alcuni ciliati.

Macronucleo: il più voluminoso dei due tipi di nuclei di cui sono forniti i ciliati. Esso controlla l'attività metabolica della cellula.

Membrana ondulante: fila di ciglia saldate fra loro.

Micronucleo: il più piccolo dei due tipi di nuclei di cui sono forniti i ciliati. Esso regola i processi riproduttivi della cellula.

Mionema: fibra contrattile presente nel peduncolo di molti ciliati sessili appartenenti alla sottoclasse Peritrichia.

Mixed-liquor: (o miscela aerata) è il complesso liquido-fango mantenuto in sospensione nella vasca di aerazione degli impianti a fanghi attivi.

Nematodesmi: Strutture protoplasmatiche bastoncellari che concorrono alla formazione del citofaringe di alcuni ciliati.

Opercolo: organello attaccato alla fine anteriore del corpo di alcuni ciliati sessili che, come disco epistomiale, può coprire interamente o parzialmente l'apertura verso l'esterno.

Peristoma: area che circonda la bocca.

Plastidi: formazioni granulose, tipiche delle cellule vegetali che si trovano sparse in gran numero entro il citoplasma. Si distinguono in: cloroplasti, cromoplasti e leucoplasti a seconda che essi servano rispettivamente come centri di accumulo di pigmenti verdi (clorofilla), colorati o amido.

Pseudopodi: estensioni della superficie cellulare usate per la locomozione. Sono tipici delle amebe.

Somatica: relativa alla superficie del corpo (es. la ciliatura somatica).

Teca: guscio di materiale organico o inorganico entro cui è racchiuso il citoplasma di alcune amebe.

Telotroco: forma natante dei ciliati peritrichi sessili.

Tricocisti: corpuscoli a forma di bastoncelli, contenenti sostanze paralizzanti o tossiche, che possono essere espulsi dalla cellula per scopi di difesa o di offesa.

Vacuolo alimentare: cavità citoplasmatica contenente il cibo ingerito dal protista. Esso ha funzione digestiva.

Vacuolo contrattile: cavità citoplasmatica capace di espandersi e di contrarsi ritmicamente in modo da riempirsi di liquidi e di espellerli successivamente all'esterno della cellula. Svolge funzioni regolatrici della pressione osmotica.

Vestibolo: depressione della cellula situata anteriormente al citostoma.

Zona adorale di membranelle: (AZM) membranelle formate dalla fusione di più file parallele di ciglia che sono disposte intorno alla bocca. La AZM è tipica dei ciliati appartenenti ai Polyhymenophora.

7.3. Elenco dei Protozoi e Metazoi descritti o citati

Acineria uncinata, 44
Acineta, 54
Amphileptus, 54
Arcella, 39
Aspidisca cicada, 46
Aspidisca lynceus, 47
Bodo caudatus, 36
Bodo saltans, 36
Carchesium, 50
Centropyxis, 39
Cercobodo, 37
Cinetochilum margaritaceum, 41
Coleps hirtus, 53
Colpidium colpoda, 42
Cyclidium, 44
Dexiostoma campylum, 42
Drepanomonas revoluta, 45
Epistylis, 51
Euglena, 37
Euglypha, 38
Euplotes, 47
Gastrotrichi, 56
Glaucoma scintillans, 43
Hexamita, 37
Litonotus, 53
Nematodi, 55
Opercularia, 51
Paramecium caudatum, 42
Peranema, 38
Plagiocampa rouxi, 52
Podophrya, 54
Prorodon, 52
Pseudocohnilembus pusillus, 43
Rotiferi, 56
Sathrophilus, 43
Spathidium, 53
Spirostomum teres, 44
Stentor, 52
Stylonychia, 47
Tardigradi, 56
Tetrahymena pyriformis, 42
Tokophrya, 55
Trepomonas, 37
Trithigmostoma cucullulus, 46
Trochilia minuta, 46
Uronema nigricans, 43
Vaginicola crystallina, 49
Vorticella convallaria, 49
Vorticella microstoma, 50
Vorticella infusionum, 50
Vorticella aquadulcis, 50
Zoothamnium, 51