



**GRUPPO GROTTA RECANATI**  
**G.S. CAI Macerata - C.R.S. Nottoloni” Macerata**  
**G.A.SP. Civitanova Marche**

**ECOLOGIA E MICROEVOLUZIONE  
PER LA FAUNA CAVERNICOLA  
NEI RAMI SOLFUREI  
delle  
GROTTE DI FRASASSI**

**Relazione Scientifica:**

**l'ambiente, i siti di studio, le relazioni trofiche**

*a cura del Dott. Sandro Galdenzi*



# **ECOLOGIA E MICROEVOLUZIONE PER LA FAUNA CAVERNICOLA NEI RAMI SULFUREI DELLE GROTTA DI FRASASSI**

## **L'ambiente, i siti di studio, le relazioni trofiche**

### **INTRODUZIONE**

Le ricerche già svolte nelle grotte di Frasassi (Sarbu *et al.*, 2000) hanno rivelato l'esistenza di un complesso ecosistema sotterraneo, in cui la base della catena alimentare è costituita da batteri che nei rami sulfurei della grotta sono in grado di produrre materia organica utilizzando l'energia chimica liberata nella reazione tra l'ossigeno e l'acido solfidrico disciolto nelle acque sotterranee (*chemiosintesi*). La costante disponibilità di risorse alimentari ha reso possibile lo sviluppo di una fauna ricca e diversificata, con organismi estremamente specializzati e diverse specie endemiche, diffuse in ristrette parti delle Grotte di Frasassi, con possibilità di trovarli altrove pressoché nulle. Questa parte della ricerca si proponeva di approfondire la conoscenza sull'ecosistema sotterraneo e sull'influenza delle condizioni fisiche sulla struttura trofica nelle diverse parti della grotta; si è pertanto proceduto a quantificare l'importanza delle sorgenti alimentari rappresentate da batteri chemioautotrofi nello sviluppo della fauna ipogea, ponendole in rapporto con la distanza dall'esterno e con la possibilità di apporti organici di provenienza superficiale.

Sono stati analizzati campioni di materiale organico contenuto nel substrato e appartenente a diversi tipi di organismi, con particolare riferimento a due specie guida di crostacei largamente diffusi: l'isopode terrestre *Androniscus dentiger* e l'anfipode acquatico *Niphargus* sp, entrambi oggetto anche di studio genetico.

## SVILUPPO DEI LAVORI

Al termine di un'articolata discussione sulle modalità operative per il coordinamento delle attività nella grotta, si è proceduto al campionamento di fanghi e materiali biologici per lo studio della struttura trofica, con attività concentrate quasi interamente nel periodo compreso tra la fine di maggio 2007 ed il febbraio 2008.

Lo studio delle sorgenti alimentari è stato basato sull'analisi degli isotopi stabili del carbonio (SIRA), avvalendosi della collaborazione scientifica del Department of Geosciences della Pennsylvania State University, presso cui sono state effettuate le analisi isotopiche, completate nel gennaio 2010. Questa collaborazione ha allungato i tempi di attesa, ma ha consentito un forte risparmio rispetto ai costi di mercato e l'apporto di ulteriori competenze specialistiche utili per una migliore interpretazione dei risultati sperimentali.

I siti di campionamento sono stati prescelti sulla base di sopralluoghi diretti e sui risultati di precedenti esperienze e conoscenze relative alle grotte dell'area di Frasassi (Fig. 1). Le campionature sono state effettuate in Grotta del Fiume, Grotta Grande del Vento, Grotta Bella e Grotta Sulfurea, sia in prossimità delle acque sulfuree che no. Altri campioni sono stati prelevati nella Grotta dell'Infinito, nel Bugianardo, nella Grotta di Frasassi, nella Grotta del Vernino. Un sopralluogo nell'Antro dei Baffoni non ha invece dato esiti positivi, non essendo stata individuata fauna di interesse. Nelle località più ricche di fauna sono stati prelevati anche i campioni per le analisi genetiche.

Complessivamente sono state analizzate 14 località in prossimità di specchi d'acqua della falda freatica. In 4 località non è stata trovata fauna, anche per effetto di un anomalo andamento climatico con prolungato deficit idrico protrattosi fino a marzo 2008, che ha causato modifiche nella circolazione delle acque freatiche. Sono stati controllati anche 12 siti non direttamente interessati dalla presenza di acque freatiche. In due di essi non è stata trovata fauna.

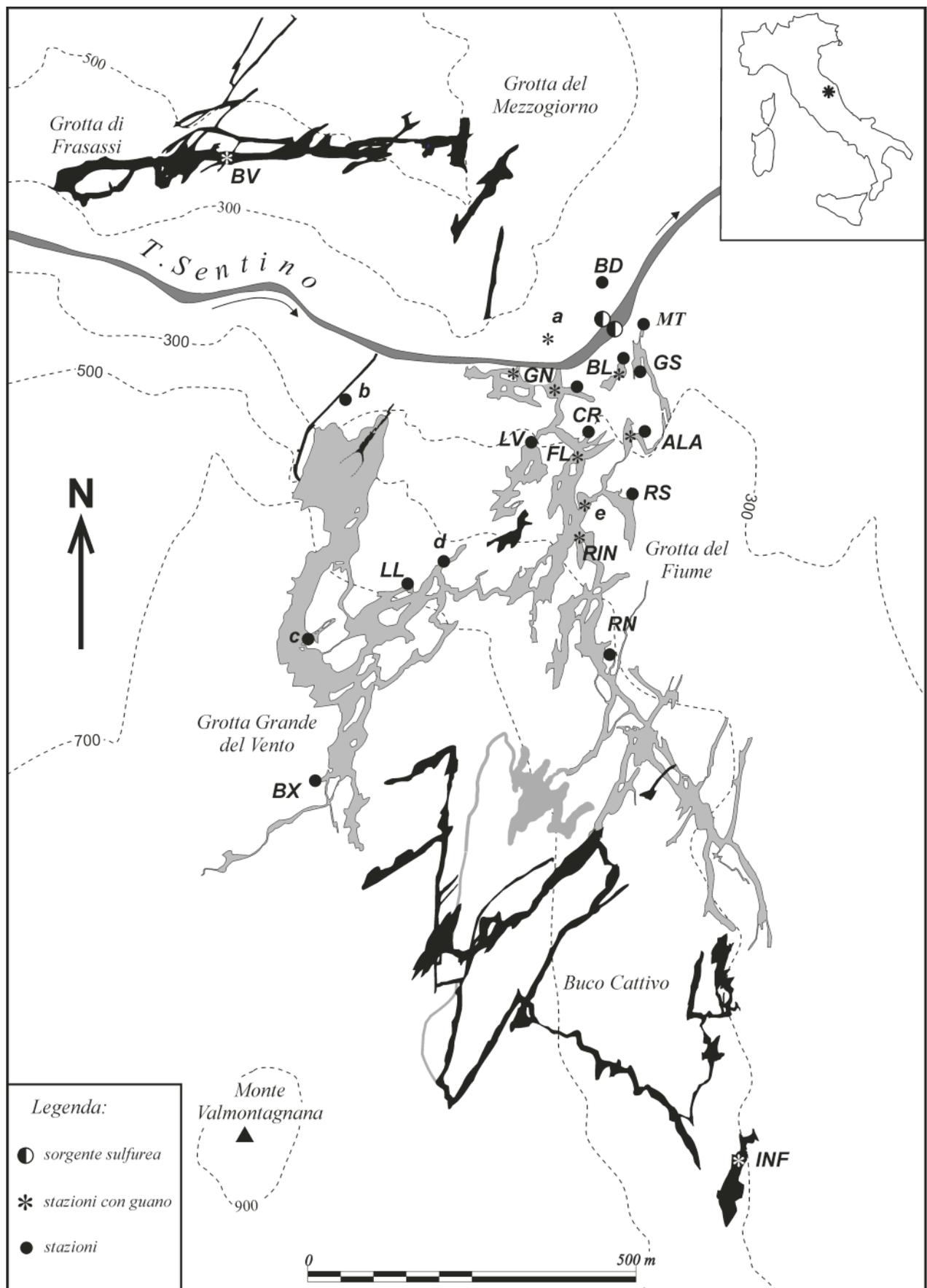


Figura 1 - Planimetria sistema carsico di Frasassi, con ubicazione dei siti di campionamento.  
 Legenda: Grotta della Beata Vergine di Frasassi: BV. Bugianardo: BD. Grotta dell'Infinito: INF. Grotta Bella: BL. Grotta Sulfurea: GS – sifone; MT – lago esterno. Grotta del Fiume – Vento: GN – zona ingressi; CR – Pozzo dei Cristalli; LV – Lago Verde; FL – Sala della Felicità; ALA – Galleria dell'Ala; RS – Ramo Sulfureo; RIN – Ramo del Rinoceronte (imbocco); RN – Ramo del Rinoceronte (lago sulfureo); LL – Laghi di Lucia; BX – Sala Claudia.

## LA GROTTA

### Morfologia

Le grotte di Frasassi si aprono nel versante adriatico dell'Appennino Umbro Marchigiano, a circa 40 km dal mare, in una piccola dorsale montuosa (altitudine massima: M. Rimosse, 930 m) tagliata dalla Gola incisa dal Fiume Sentino, il cui letto scorre a circa 200 m di altitudine tra pareti rocciose alte fino a 500 m.

Le grotte si aprono in una fascia altimetrica compresa tra i 200 ed i 500 m, e sono tipicamente disposte su piani sovrapposti, correlabili alle fasi di approfondimento dell'idrografia superficiale (Fig. 2). Sono note oltre 100 grotte, le maggior parte della quali di modesto sviluppo. La più estesa è il complesso Grotta del Fiume – Grotta Grande del Vento, che si apre sul versante meridionale della Gola. Questa grotta si estende per oltre 15 km, ed è stata parzialmente adattata per permettere visite turistiche.

Ogni piano presenta un andamento essenzialmente ramiforme, con grandi ambienti che terminano improvvisamente su strette fessure e cunicoli, anche con struttura a *spongework*; non mancano tratti labirintici, generalmente impostati su sistemi di fratture. In tutta la grotta si hanno morfologie freatiche: i singoli condotti hanno in prevalenza una sezione tubolare, con diametri variabili da 1 a 10 m, sono complessivamente orizzontali e presentano frequenti anastomosi. Alcuni grandi saloni presentano ampie volte tondeggianti e pavimenti rocciosi pianeggianti; fratture e crepacci sul pavimento costituiscono le originarie vie di afflusso delle acque freatiche. Nei rami inferiori è raggiungibile in molti punti il livello delle acque freatiche, generalmente in gallerie discendenti o alla base di pozzi.

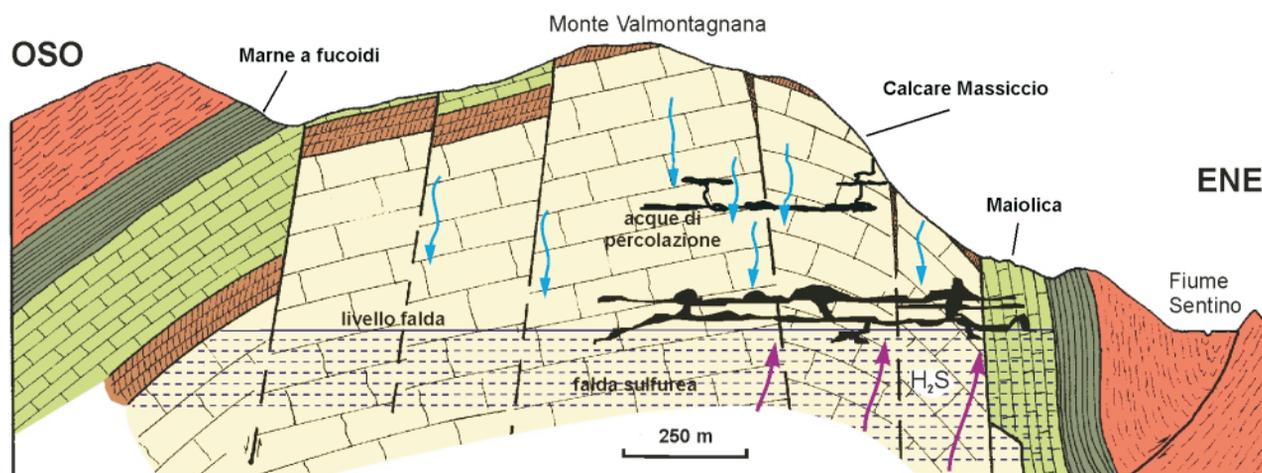


Figura 2 - Sezione schematica del sistema carsico di Frasassi. Si evidenziano la struttura a livelli sovrapposti e le relazioni tra i diversi tipi di acque sotterranee.

## Idrologia

La circolazione idrica sotterranea è fortemente condizionata dalla struttura geologica. Prevale un assorbimento diffuso che alimenta un abbondante stillicidio, responsabile del diffuso concrezionamento caratteristico della grotta. Piccole emergenze idriche si hanno a varie quote sui versanti montuosi sui livelli marnosi intercalati nella successione calcarea, mentre la principale sorgente si trova all'uscita della Gola, dove la valle fluviale incide le coperture marnose che avvolgono il nucleo calcareo.

Le caratteristiche delle acque sotterranee sono ben differenti nella falda freatica e nella zona vadosa di assorbimento e di percolazione (Fig. 2). All'interno della struttura carsificata sono stati distinti tre gruppi principali di acque (Cocchioni *et al.*, 2003; Galdenzi *et al.*, 2008): a) le acque bicarbonato calciche di percolazione, presenti con caratteristiche relativamente uniformi; b) le acque sulfuree diluite dell'acquifero principale; c) le acque sulfuree poco diluite risalenti da zone profonde dell'acquifero.

Le acque bicarbonatiche derivano dall'assorbimento diffuso su superfici carsiche coperte, ubicate quasi interamente al di sotto dei 700 m di quota. Il chimismo di queste acque è bicarbonatico-calcico, si ha una bassa salinità (circa 200-400 mg/L), un basso contenuto di solfati ed alta concentrazione di ossigeno disciolto. Si ritrovano in tutta la zona aerata, dove percolano lentamente verso il basso, costituendo anche piccoli ristagni permanenti di acque, sospesi rispetto al livello di base. Quando queste acque raggiungono il livello di base, possono formare corpi stratificati al di sopra delle acque sulfuree della falda per via della differente densità..

Le acque della falda sulfurea sono fredde (~13,5 °C) e si differenziano per la salinità più elevata (fino ad oltre 2 g/L) e per l'alto contenuto di cloro, sodio e solfati. Il carattere più significativo è tuttavia la presenza di H<sub>2</sub>S, con concentrazioni fino a 2,5 mmol/L. Queste acque risentono sensibilmente di variazioni stagionali, e nel periodo invernale e primaverile si registra un abbassamento di conducibilità e concentrazione salina dovuto alla maggiore diluizione causata dagli abbondanti apporti di acque bicarbonatiche di origine meteorica. Queste acque sono quelle quantitativamente più rappresentate nelle emergenze sulfuree.

In alcune località (Lago Verde, Pozzo dei Cristalli, Sorgente della fessura) si trovano acque sulfuree poco diluite, con maggiore concentrazione ionica e temperature che si mantengono 0,5-1°C più elevate rispetto al resto della falda. Queste acque risalgono in superficie da zone profonde dell'acquifero, ed alimentano direttamente alcuni specchi d'acqua sulfurea. La loro origine più profonda è confermata dalla minore variabilità stagionale dei parametri chimici, che risentono in misura minore dei fenomeni di diluizione ad opera degli apporti di acque meteoriche.

La composizione superficiale delle acque freatiche può variare anche per fenomeni di stratificazione di acque vadose a minore densità sopra le acque sulfuree in siti con scarso scorrimento. Lo strato idrico superficiale ha spessori variabili, da pochi centimetri fino a 5 metri in

alcune località e può risultare puramente bicarbonatico o avere salinità intermedia (Galdenzi, 2001; Mariani *et al.*, 2007).

I gradienti idraulici nella falda sono bassi (Galdenzi & Campagnoli, 2015) ed il flusso idrico è complessivamente lento: solo presso le emergenze e nella zona orientale le acque sono spesso in movimento, anche se in genere non si hanno veri corsi d'acqua, ma piuttosto una serie di specchi d'acqua collegati da canali sommersi. Nelle zone più interne le acque risultano pressoché stagnanti, favorendo i fenomeni di stratificazione superficiale. L'ambiente riducente delle acque sulfuree consente la conservazione di fanghi organici di colore nero, poco addensati, che possono raggiungere spessori fino ad alcuni decimetri.

### **Gli ambienti aerati**

L'ambiente interno della grotta è piuttosto stabile per quanto concerne i parametri fisici. La temperatura si mantiene vicina ai 13,2 °C nei piani inferiori, e diminuisce leggermente negli ambienti ubicati a quote più elevate. La complessa struttura tridimensionale del sistema ipogeo e l'esistenza di più ingressi origina complessi movimenti delle masse d'aria all'interno della grotta. L'ingresso artificiale della parte turistica influenza sensibilmente le condizioni dell'ambiente sotterraneo nella parte direttamente interessata dai flussi turistici, con variazioni di minore entità che si propagano nelle zone più interne (Galdenzi & Menichetti, 2002). Le più importanti modifiche prodotte dall'uso turistico della grotta sono l'afflusso di grandi masse d'aria dall'esterno tramite l'ingresso artificiale, lo sviluppo di lampenflora, e l'apporto di polveri e materiali estranei, l'immissione di acque di lavaggio. Le grandi dimensioni del complesso e la buona circolazione d'aria limitano l'entità delle perturbazioni termiche e chimiche indotte nell'atmosfera delle parti non turistiche della grotta.

La composizione dell'aria nella grotta è assai simile a quella esterna. La maggior differenza è il contenuto più alto di CO<sub>2</sub>, oltre che la più elevata Umidità Relativa. La concentrazione della CO<sub>2</sub> subisce variazioni cicliche di origine non definita. L'elevata capacità di recupero del sistema consente di assorbire rapidamente le variazioni di composizione dovute a perturbazioni esterne, anche in caso di forti afflussi di aria esterna, come verificato nella parte turistica del sistema (Galdenzi & Menichetti, 2002).

Significative modifiche nella composizione atmosferica si hanno in prossimità degli ambienti sulfurei. Le analisi condotte (Galdenzi *et al.*, 2008) evidenziano un arricchimento di CO<sub>2</sub> e la presenza di H<sub>2</sub>S a basse concentrazioni. Il contenuto di ossigeno si mantiene comunque analogo a quello dell'atmosfera esterna. I gas rilasciati dalle acque sulfuree diffondono verso i piani superiori della grotta, favoriti anche da un debole gradiente termico (Fig. 3), fino a distanze di

poche decine di metri dagli specchi d'acqua. L' $H_2S$  rilasciato nell'atmosfera è rapidamente ossidato a  $H_2SO_4$ , che interagisce con le pareti calcaree producendo gesso di neoformazione. Il più evidente effetto ambientale di queste esalazioni è la forte acidificazione di tutte le zone esposte alle esalazioni, nonostante l'effetto tampone esercitato dalle pareti calcaree. Valori molto bassi

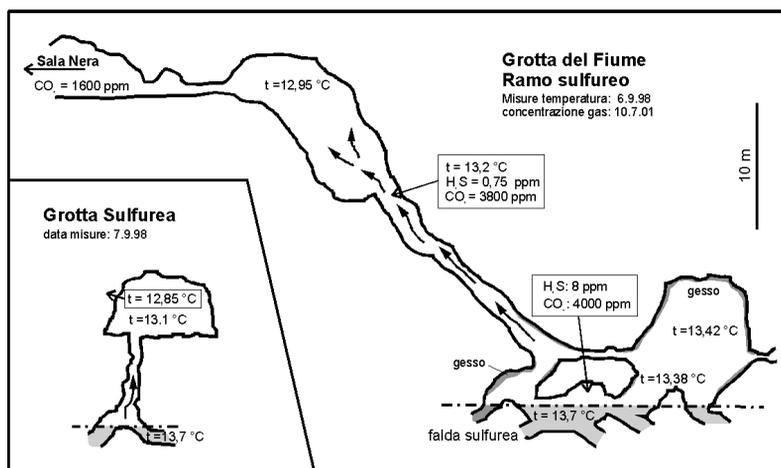


Figura 3 - Schema sulle variazioni delle concentrazioni gassose negli ambienti sulfurei (da Galdenzi, 2001).

di pH, fino a 0, sono stati misurati sulle pareti, in associazione a biofilm e gesso.

Le acque di infiltrazione, seppure causano significativi cambiamenti nel chimismo delle acque di falda, non rappresentano un importante vettore di materiali estranei dalla superficie verso le zone profonde dell'acquifero, anche per la prevalenza di un assorbimento diffuso. Nella zone più prossime alla superficie topografica si trovano coni detritici di materiale clastico, la cui messa in posto è probabilmente avvenuta in condizioni periglaciali. Molto diffusi in larghe parti delle grotte depositi limo-argillosi di differente tipo lasciati dalle acque.

Nelle zone iniziali delle grotte, la frequentazione di animali, il vento, la gravità causano il trasporto dall'esterno di materiali detritici, spesso ricchi di una componente organica. La frequentazione delle grotte da parte dei pipistrelli ha favorito l'accumolo di escrementi (guano) anche in zone interne. Piccoli accumuli di guano sono conosciuti in numerose località, mentre grossi depositi si trovano nelle Grotte dell'Infinito, Frasassi e del Mezzogiorno, frequentate attualmente o in passato da importanti colonie di chiroteri.

## I SITI STUDIATI

### Grotta del Fiume

La Grotta del Fiume è la grotta più estesa della zona di Frasassi e al suo interno si trova il maggior numero di ambienti in cui affiora la superficie freatica, generalmente al fondo di pozzi o di ambienti sub-verticali. La grotta si estende al nucleo e nel fianco orientale della struttura anticlinale, principalmente all'interno della formazione del Calcarea Massiccio. Solo nella zona orientale si trovano alcuni diramazioni che si sviluppano all'interno della Maiolica, calcarea cretacico in contatto per faglia con il Calcarea Massiccio sul fianco della piega. La G. del Fiume è

in comunicazione con la Grotta Grande del Vento, ubicata nella zona assiale dell'anticlinale, e, attraverso passaggi di piccole dimensioni e difficile percorribilità, anche con Grotta Sulfurea e Grotta Bella. Queste due grotte rappresentano a tutti gli effetti la parte più esterna del complesso carsico, prossima alle sorgenti sulfuree (Fig. 1).

La Grotta del Fiume è sviluppata su due importanti livelli carsificati, a circa +25 e +50 sul livello di base. Nella zona più esterna, comprendente anche Grotta Bella e Grotta Sulfurea, si riconoscono ulteriori livelli carsificati di minore importanza, ubicati tra il livello di base ed il piano carsico principale di quota +25, pochi metri sopra il livello delle acque sulfuree. Spostandosi verso le zone più interne, l'importanza di questi livelli minori decresce progressivamente, e le acque della falda possono essere raggiunte direttamente dal piano carsico principale attraverso pozzi.

Questa differente conformazione morfologica modifica le condizioni dell'ambiente fisico: nelle zone interne gli ambienti sulfurei si trovano al fondo di ambienti sub-verticali e sono reciprocamente isolati, almeno nella parte aerea; nelle zone esterne la presenza di una rete di gallerie orizzontali in prossimità del livello delle acque favorisce la creazione di numerose polle di acque sulfuree, anche all'interno di una stessa sala. In queste condizioni gli specchi di acqua sulfurea sono molto più numerosi e vicini rispetto alle zone più interne, e risultano anche interconnessi attraverso gallerie ubicate pochi metri sopra il livello delle acque.

Anche le condizioni idrologiche differiscono nelle varie parti della grotta (Galdenzi & Campagnoli, 2015). Le zone esterne prossime alle emergenze e le zone orientali sono interessate da un attivo flusso delle acque sulfuree, che raramente tuttavia avviene in condizioni di turbolenza. Nelle parti interne il flusso è molto lento ed in conseguenza di ciò diventano più comuni fenomeni di stratificazione delle acque, con acque bicarbonatiche di origine vadosa o mista al di sopra di quelle sulfuree. L'interfaccia tra i due tipi di acque si trova a profondità differenti in ciascun lago. Ulteriori variazioni nelle condizioni idrologiche sono dovute a flussi ascendenti di acque sulfuree a più elevata mineralizzazione provenienti da zone profonde che raggiungono le parti superficiali dell'acquifero.

#### *Lago del Rinoceronte (sigla RN)*

Si tratta del lago più interno nella grotta con acque sulfuree in lento movimento. Il lago si trova al fondo di un pozzo inclinato, dove le intense esalazioni sulfuree causano la formazione di abbondanti depositi di gesso sulle pareti, rivestite anche da vermicolazioni argillose. Rispetto alla superficie, il lago si trova al di sotto di una copertura costituita da calcari intensamente carsificati, per uno spessore totale di ~ 300 m; non si hanno evidenze di significativi apporti di materiali dalla superficie. Le acque sulfuree, in lento movimento, risentono di oscillazioni di livello anche superiori ad 1 m in occasione dei periodi di forte apporto idrico. Si hanno ricche popolazioni di

*Niphargus* sp. e di *Androniscus dentiger*, mentre non è stato individuato il ragno *Nesticus eremita*, che apparentemente non ha colonizzato questa regione della grotta.

### *Ramo Sulfureo (sigla RS)*

Il Ramo sulfureo rappresenta la più importante località sulfurea della grotta, e qui sono state condotte approfondite ricerche sugli aspetti idrologici, geochimici, sulla speleogenesi, sulla fauna ipogea e sull'ecosistema (Sarbu *et al.*, 2000; Galdenzi, 2012). In questa località sono state incentrate le precedenti ricerche sui rapporti trofici (Sarbu *et al.*, 2000), qui sono state segnalati il maggior numero di endemismi (Sarbu *et al.*, 2000) e sono state scoperte le formazioni biogeniche note come mucoliti (Vlasceanu *et al.*, 2000, Macalady *et. al.*, 2007). Le zone sulfuree sono una serie di sale interconnesse, ubicate al fondo di un crepaccio fortemente inclinato sviluppato negli interstrati del Calcarea Massiccio. Un livello di gallerie pochi metri sopra il livello delle acque dà accesso in numerosi punti a piccoli specchi d'acqua sulfurea, in lento movimento, con locali turbolenze (Fig. 4).

Le condizioni morfologiche favoriscono gli scambi gassosi con l'atmosfera, e gesso di sostituzione si forma nelle zone più direttamente esposte alle esalazioni sulfuree. In alcuni punti l'ossidazione solo parziale dell' $H_2S$  porta alla formazione di zolfo elementare sopra le poltiglie di gesso di neoformazione. Negli ambienti limitrofi, non direttamente esposti alle esalazioni sulfuree, abbondanti coperture di vermicolazioni argillose scure, di spessore elevato, rivestono le pareti calcaree.

Verifiche sulle concentrazioni gassose e sulle temperature (Galdenzi, 2001) hanno evidenziato l'entità dei fenomeni di diffusione della  $CO_2$  e dell' $H_2S$  dagli specchi sulfurei verso le gallerie del livello principale sovrastante, 25 m più in alto (Fig. 3). Successive ricerche (Galdenzi *et al.*, 2008) hanno verificato l'esistenza di variazioni stagionali nella concentrazione dei gas, correlabili ai cicli idrologici, con concentrazione massime dell' $H_2S$  nelle stagione secca (estate-autunno) e per la  $CO_2$  nella stagione umida (inverno-primavera).



Figura 4 - Gli specchi di acqua sulfurea al Ramo Sulfureo.

Questa zona si trova al di sotto di una copertura rocciosa costituita da calcari carsificati con spessori di ~200 m, e non si hanno evidenze di apporti diretti di materiali dalla superficie. Le campionature relative alla presente ricerca sono state effettuate sia negli specchi di acqua sulfurea e nelle zone limitrofe, sia nella galleria superiore, soggetta a deboli influssi dei gas risalenti.

*Ramo del Rinoceronte (imbocco) (RIN)*

In molte parti della grotta del Fiume sono presenti piccoli depositi di guano, in vari stadi di mineralizzazione, in cui non sono presenti quantitativi significativi di fauna. In uno di questi depositi presso l'imbocco del Ramo del Rinoceronte durante i sopralluoghi del 2014 sono stati trovati numerosi esemplari di *A. dentiger*, utilizzati per la ricerca genetica. Si tratta della località di campionatura non legata ad ambienti sulfurei ubicata più all'interno nella grotta

*Ramo dell'Ala (sigla ALA)*

Diramazione del livello a + 25 m che si diparte dal Ramo Sulfureo verso le emergenze sulfuree. Nella sala principale, un pozzo consente di raggiungere la falda idrica, dove però è stata trovata acqua bicarbonatica senza evidenza di fauna. Nella galleria, abbondanti depositi di breccie alloctone a matrice argillosa testimoniano apporti gravitativi dall'alto in condizioni climatiche periglaciali, sotto una copertura costituita da poco meno di 100 m di calcari carsificati. Piccoli depositi di guano ospitano una comunità di invertebrati.

*Lago Verde (sigla LV)*

Si tratta di due laghi vicini, intercomunicanti lateralmente, collegati in profondità ed alimentati dal basso (Fig. 5). I laghi si trovano sotto una copertura costituita da ~100 m di calcari carsificati. Nelle aree limitrofe sono presenti depositi detritici testimoniati da afflussi di materiali dalla superficie in un differente contesto morfoclimatico, probabilmente in condizioni periglaciali. È una delle località studiate per la definizione delle condizioni dell'ecosistema da Sarbu *et al.* (2000). Le ricerche idrologiche condotte (Galdenzi *et al.*, 2008) hanno evidenziato che la concentrazione degli ioni disciolti è più elevata rispetto alla sorgente principale, al Ramo sulfureo, ed alla maggioranza degli altri laghi sotterranei. Queste acque più mineralizzate provengono da regioni profonde dell'acquifero, e risentono solo in parte di una diluizione dovuta alla miscelazione con acque meteoriche. Il fondale è occupato da sapropeliti nere, non rivestite da biofilm batterici evidenti macroscopicamente. Materiale biologico di provenienza esterna, principalmente legno, è presente nel lago, trasportato dai visitatori.

Gli apporti diretti di acque percolanti in occasione degli eventi meteorici causano una diluizione degli strati superficiali del lago (Fig. 6). In occasione del periodo dei rilievi, in condizioni di forte siccità protrattesi fino alla primavera 2008, le acque bicarbonatiche, ossigenate, hanno formato nel lago ad est uno strato superficiale di alcuni decimetri, giacente sopra le acque sulfuree. Condizioni simili non erano mai state osservate in precedenza. In occasione di queste anomale condizioni idrologiche, sono stati osservati biofilm, in particolare come materiale galleggiante nel lago ovest e come rivestimento di placchette calcaree utilizzate per la misura della corrosione ad opera delle acque sulfuree (Galdenzi, 2012).

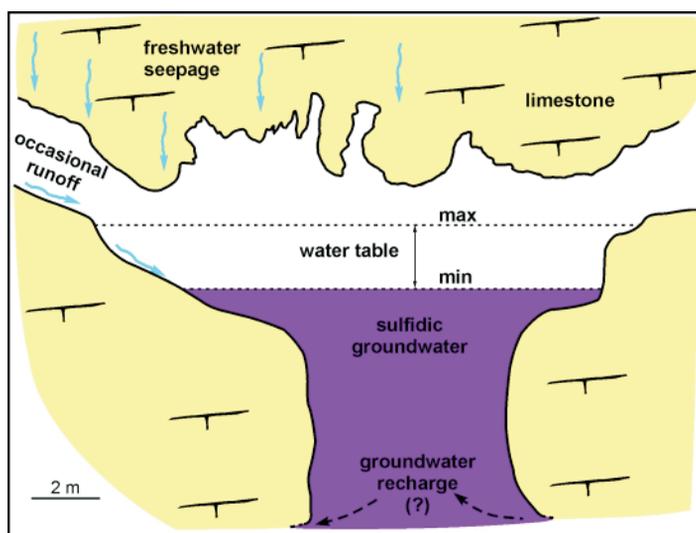


Figura 5 - Uno dei due specchi d'acqua del Lago Verde.

Le campionature sono state effettuate nei laghi e nelle loro immediate vicinanze. Alcuni campioni per analisi isotopiche sono stati prelevati anche alla sommità del ramo di accesso dei laghi, a quota relativa +15 rispetto alla falda, in zone non esposte alle acque sulfuree.

#### *Pozzo dei Cristalli (sigla CR)*

Alla base del pozzo, una polla di acqua sulfurea alimenta un breve ruscello fino a raggiungere alcuni specchi di acqua sulfurea stagnante, dove il deflusso avviene attraverso canali totalmente sommersi (Fig. 7). Questo sito è stato oggetto di un accurato studio sull'importanza dei differenti processi che causano la perdita di H<sub>2</sub>S nella parte superficiale della falda (Jones *et al.*, 2015).



Una galleria con alcuni ambienti laterali prosegue verso le emergenze, con

Figura 6 - Schema idrologico del Lago Verde (da Galdenzi *et al.*, 2007)

numerose piccole polle raggiungibili attraverso crepacci verticali o brevi diramazioni discendenti. Questi ambienti, vicini al Lago Verde, si sviluppano sotto una copertura costituita da ~100 m di calcari carsificati. Le acque sulfuree della polla sorgiva sono poco diluite, come nel Lago Verde, mentre in molte delle polle isolate con acqua stagnante si osserva una stratificazione di acque ossigenate sopra quelle



Figura 7 - La pollo sulfurea che alimenta il flusso idrico al fondo del Pozzo dei Cristalli.

sulfuree (Fig. 8). Questo strato superficiale ha uno spessore di pochi decimetri, e l'acqua ha composizione intermedia tra quelle sulfuree della falda e quelle bicarbonatiche vadose.

Allo stato attuale esalazioni sulfuree riguardano solo la parte iniziale della diramazione, nella zona della pollo sorgiva. I cospicui depositi di gesso presenti lungo tutta la galleria testimoniano che nel passato tutta la diramazione era soggetta ad una diretta azione delle acque sulfuree (Fig. 9). Diffuse ovunque le vermicolazioni argillose. Alcuni cumuli di materiale detritico, costituiti da ghiaie a matrice argillosa, testimoniano passati apporti di materiali dalla superficie esterna per gravità. Presenti nella zona iniziale materiali in legno trasportati dai visitatori, a diretto contatto con le acque sulfuree.

La fauna ipogea è presente con elevate densità nelle polle di sola acqua sulfurea; esemplari di fauna sono comunque presenti anche nelle polle con acqua stratificata e lungo la galleria fossile. Alcuni campioni per analisi isotopiche sono stati prelevati anche alla sommità del pozzo di accesso dei laghi (quota + 15), in zone debolmente esposte ad esalazioni sulfuree.



Figura 8 - Stratificazione delle acque nella falda; il colore nero rivela la presenza di un ambiente riducente nelle acque sulfuree sotto un primo strato di acque ossigenate a composizione mista (Pozzo dei Cristalli).

*Sala della Felicità (FL)*

Piccola sala ubicata sopra il Pozzo dei cristalli, al di là della strettoia artificialmente allargata che dà accesso alle zone interne del sistema, esplorate dopo il 1971. La sala si trova nel livello principale a + 25 m, sotto una copertura costituita da ~100 m di calcari carsificati. Depositi di gesso testimoniano la passata azione di esalazioni sulfuree. Sulle pareti, riccamente concrezionate, sono presenti estese coperture di



Figura 9 - I depositi di gesso presenti sulle pareti e sul pavimento sono derivati dall'attacco di gas sulfurei prima dell'abbassamento delle acque freatiche (Pozzo dei Cristalli).

vermicolazioni argillose. Un piccolo deposito di guano ospita una ricca fauna, costituita principalmente da *A. dentiger* e dal predatore *Duvalius* sp.; alcuni esemplari di *Nesticus eremita* sono stati individuati sulle pareti della sala, non in contiguità con il deposito di guano. Numerosi esemplari di ditteri erano presenti nella stessa zona.

Oltre che nella zona del deposito, campioni per analisi isotopiche sono stati prelevati sulle pareti fino alla sommità del Pozzo dei Cristalli.

*Sala della Croce e cumulo guano vecchio ingresso (GN)*

Situati nella "parte vecchia" della Grotta del Fiume, questi due siti sono a breve distanza dalla superficie. La Sala della Croce, ospita una colonia di pipistrelli ed ha un'entrata nella volta che dà direttamente all'esterno. Un cono detritico, composto in prevalenza da materiale di origine vegetale frammisto a elementi litoidi si trova proprio sotto l'entrata alta. Le campionature sono state effettuate nelle zone vicine al cono detritico.

Un altro deposito di guano, prodotto da una colonia residente di pipistrelli, si trova a pochi metri di distanza dall'entrata occidentale della grotta; anche questa località è stata campionata.

*Laghi di Lucia (sigla LL)*

Sono due laghi contigui accessibili da un pozzo che scende dal piano principale di +25. Si trovano sotto una copertura rocciosa di 500 m, in una zona lontana da apporti di materiali superficiali. Il regime idrologico nei laghi risente di variazioni stagionali, e si hanno periodi con intense

esalazioni sulfuree, ben percettibili anche sopra i pozzi, che causano formazione di gesso sulle pareti del pozzo e localmente anche sopra di esso. Abbondanti le vermicolazioni argillose sulle pareti, sia presso i laghi che sopra il pozzo di accesso. L'acqua nei laghi può risultare in lento movimento, ma possono aversi fenomeni di stratificazione con acque superficiali poco saline, ma ricche di solfati (Galdenzi *et al.*, 2008). All'atto dei rilievi, durante il periodo di siccità, non c'era circolazione di acque sulfuree ed il lago appariva stagnante. Sono stati individuati soltanto un paio di esemplari di *A. dentiger*, pertanto ci si è limitati a campionare il substrato fangoso ed i depositi parietali, sia presso il lago che negli ambienti del sovrastante piano carsico di +25.

### Grotta Sulfurea

Questa grotta rappresenta la parte più esterna del complesso carsico, vicino alle emergenze delle acque sulfuree, e si sviluppa interamente entro la formazione della Maiolica, costituita da calcari selciferi, fittamente stratificati, che nella zona hanno giacitura sub-verticale. L'elevato grado di carsificazione, la giacitura degli strati, il ridotto spessore della copertura rocciosa rappresentano condizioni che rendono possibili apporti di sostanze dall'esterno, veicolate dalle acque di infiltrazione meteorica o semplicemente dalla gravità. In aggiunta, il livello della falda idrica risente direttamente di oscillazioni prodotte dalla vicinanza del Fiume Sentino.

Al tempo stesso, le condizioni di flusso relativamente rapido delle acque sulfuree assicurano un rapido ricambio delle acque freatiche, le cui caratteristiche (temperatura e conducibilità) seguono il trend generale dell'acquifero, senza risentire in maniera significativa di variazioni direttamente prodotte dagli apporti locali di acque meteoriche. Le campionature sono state effettuate in due differenti località.

#### *Laghi sala centrale (Sigla GS)*

La sala centrale della grotta è costituita da un ambiente articolato, impostato su di una faglia, con una zona centrale ingombra di materiale clastico, da cui è raggiungibile in più punti la falda sulfurea. Sono stati campionati i laghi ubicati nella parte sud della sala: una galleria con fondo allagato ed acqua in lento flusso e da una piccola polla, attraversata da acque che entrano e defluiscono tramite passaggi completamente sommersi (Fig. 10). I

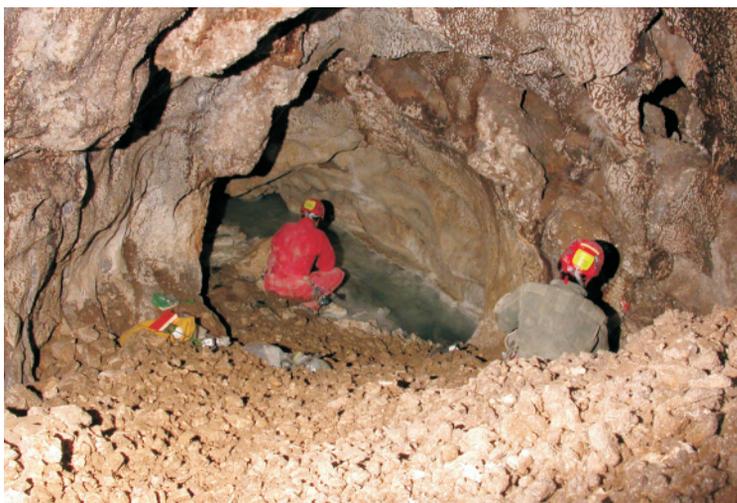


Figura 10 - Grotta sulfurea: il sito di campionamento, allo sbocco di un canale sommerso da cui risalgono le acque sulfuree.

livelli idrici nei sopralluoghi effettuati sono stati sempre molto bassi, ma in occasione di piene verificatesi in anni precedenti l'acqua è salita fino a +1,5 m sul livello di magra. In tutta la zona si trova una fauna ricca e variegata, sia in ambiente acqueo che nelle zone aeree immediatamente limitrofe. In occasione di un precedente sopralluogo, nel 1978, è stata personalmente osservata una grossa anguilla viva ai margini di una pozza di acqua sulfurea. La pareti della grotta sono completamente rivestite di vermicolazioni argillose.

#### *Lago esterno (sigla MT)*

Si tratta di un piccolo lago, ubicato nella parte più esterna della grotta, a pochi metri di distanza dalla superficie topografica esterna. Il lago si trova al fondo di una sala, accessibile dall'alto tramite un stretto cunicolo che dà su un salto di alcuni metri. Sono presenti ingenti depositi di fango che limitano le possibilità di movimento. Un'abbondante fauna, costituita principalmente da *Niphargus* sp., *A. dentiger* e ragni caratterizza le zone vicine allo specchio d'acqua, in lento movimento. La particolare conformazione del sito contribuisce ad isolarlo rispetto agli ambienti sovrastanti, dove, in occasione di un sopralluogo, sono stati osservati decine di esemplari di geotritone.

#### **Grotta Bella (sigla BL)**

Anche questa grotta si trova nella parte del complesso carsico più vicina alle emergenze sulfuree. Rispetto alla Grotta Sulfurea, si apre nella formazione del Calcere Massiccio, a ridosso della faglia che lo mette a contatto tettonico con la Maiolica sul fianco della piega. L'intensa fratturazione, l'elevato grado di carsificazione e la vicinanza alla superficie topografica rendono facili gli scambi con l'ambiente esterno e gli apporti di materiali organici dalla superficie; gli stessi apparati radicali delle piante raggiungono in più punti gli ambienti ipogei.

Le acque sulfuree possono essere raggiunte pochi metri sotto le sale principali in differenti località, sempre in ambienti di piccole dimensioni. Le acque sono in movimento, con flussi lenti e prevalentemente non turbolenti. Una piccola sala, interamente allagata, si trova al fondo di un crepaccio; la parte aerea della sala è interessata dalla diffusa formazione di gesso per sostituzione, con abbondanti vermicolazioni sulle pareti. In questa località sono state effettuate le campionature dei *Niphargus*; negli stessi ambienti sono stati trovati numerosi esemplari di ragni (*Nesticus eremita*), ma pochi esemplari di *A. dentiger*. Per quest'ultima specie le campionature sono state effettuate nella sala principale, pochi metri sopra il livello delle acque freatiche, in una zona non direttamente esposta ad esalazione sulfuree.

Anche in questa grotta, in vicinanza delle emergenze, il rapido ricambio delle acque fa sì che le caratteristiche delle acque seguano il trend generale dell'acquifero, senza risentire in maniera importante di variazioni direttamente prodotte dai locali apporti di acque meteoriche.

### **Grotta Grande del Vento**

È la parte più orientale del complesso, ed è in parte adattata alle visite turistiche. La grotta si sviluppa nei piani carsici principali di +25 e + 50 m, mentre i piani carsici minori ubicati a quote vicine all'attuale livello della falda sono poco estesi. L'accesso alla falda è generalmente rappresentato da pozzi, che danno accesso a laghi con acque ferme e stratificate. Attualmente non si hanno zone esposte ad esalazioni sulfuree, ma i grandi depositi di gesso – i maggiori della grotta – testimoniano passate condizioni con diffuse interfacce tra la falda e l'atmosfera della grotta. È una zona della grotta sviluppata al di sotto di una copertura calcarea che supera dappertutto i 500 m, tranne che nella zona prossima agli ingressi.

#### *Pozzo della galleria artificiale*

Breve e stretta diramazione di andamento verticale, intercettata durante i lavori di scavo della galleria artificiale di accesso alla parte turistica della grotta. Permette di raggiungere il livello delle acque di falda, in un lago profondo alcuni metri, ubicato sotto la verticale del pozzo. In superficie sono presenti acque bicarbonatiche, e non è stata trovata fauna. In passato è stato utilizzato per prelievi di acque per lavaggio nella grotta turistica, arrivando ad esaurire il livello superficiale fino ad aspirare acqua sulfurea.

#### *Pozzi dell'Orsa*

Nella zona del Lago dell'Orsa, al fondo di un grande pozzo molto ampio che scende dal piano superiore di +55, si può raggiungere in più punti la superficie freatica, con evidente stratificazione delle acque. Lo spessore dello strato bicarbonatico superficiale varia in ogni specchio d'acqua, e supera i 4,5 m nel lago più settentrionale, accessibile dalla Sala delle Candeline ed esplorato con immersioni fino a profondità di oltre 10 m. Non è stata trovata fauna. Uno di questi laghi è utilizzato per prelievi di acque per lavaggio nella grotta turistica, e più volte il livello superficiale è stato esaurito, fino a pompare acqua sulfurea.

*Sala Claudia (sigla BX)*

Ubicato nella parte interna della grotta, vi si trovano numerosi piccoli specchi di acque sulfuree, completamente stagnanti, da cui in genere non si originano esalazioni sulfuree per la presenza di un livello superficiale di acque bicarbonatiche; soltanto nel settembre 2015 sono state chiaramente percepite continue esalazioni sulfuree senza che fosse stato prodotto alcun disturbo negli specchi d'acqua. Sono del tutto assenti apporti detritici superficiali, il concrezionamento è debole e sono presenti scarsi sedimenti fangosi. La fauna negli ambienti aerati è scarsa e sono stati osservati solo alcuni esemplari di *A. dentiger* sulle sponde dei laghi sulfurei. Nella falda c'è abbondante fauna, con numerosi esemplari di *Niphargus* e *Islamia* sp., che vive nello strato superficiale di acqua ossigenata, il cui spessore è risultato variabile, e comunque non superiore a pochi decimetri.

**Bugianardo (sigla BD)**

Questa grotta, che si sviluppa principalmente nella Maiolica, è ubicata sulla sinistra idrografica del Fiume Sentino, di fronte alla Grotta Sulfurea. La grotta consiste di ambienti che si trovano pochi metri sopra il livello di base, non lontano dalla superficie topografica. Depositi di gesso testimoniano la passata circolazione di acque sulfuree. Allo stato attuale un piccolo lago ubicato nella parte più depressa della grotta rappresenta probabilmente il livello delle acque freatiche, ma non sono presenti acque sulfuree. Nello specchio d'acqua vive una colonia di *Niphargus*.

**Grotta di Frasassi (sigla BV)**

Si tratta della maggiore grotta sul versante idrografico sinistro della Gola. Si sviluppa interamente a quote elevate rispetto al fondovalle, tra i 340 ed i 490 m di altitudine. Ospita una grossa colonia di pipistrelli, e sono presenti diffusi depositi di guano. Le pareti sono spesso ricoperte di vermicolazioni argillose, di aspetto più esile rispetto a quelle presenti nelle zone sulfuree. Sono stati campionati esemplari della fauna e del substrato lungo la galleria principale ubicata alle spalle del Santuario, nella zona compresa tra i pozzi ascendenti verso i Rami dei Maceratesi e la Grotta del Mezzogiorno.

**Grotta dell'Infinito (sigla INF)**

Questa grotta si apre fuori della Gola, sul versante orientale della dorsale montuosa, a quota 480. Ospita una grossa colonia di pipistrelli, e sono presenti diffusi depositi di guano. Sono stati campionati esemplari della fauna e del substrato all'imbocco del salone principale.

### **Antro dei Baffoni**

Ampia caverna sul versante idrografico sinistro della Gola, di fronte alla Grotta del Fiume, a 255 m di altitudine. È costituita da un unico salone, direttamente collegato all'eterno da una bassa entrata, con alcune ampie diramazioni minori. All'atto dei rilievi, in condizioni invernali, non sono stati trovati esemplari di *A. dentiger*.

### **Grotta del Vernino (sigla VER)**

Questa grotta si apre a 574 di altitudine, 4 km a NNE della Gola di Frasassi. È formata da una galleria principale che si articola su più livelli ed ospita una importante colonia di pipistrelli. Depositi di guano sono molto diffusi, ed ospitano una fauna abbondante e diversificata.

## **METODOLOGIA**

Coerentemente con le finalità del lavoro, in ogni sito sono stati prelevati campioni con differenti modalità per le ricerche sull'ecologia e sulla genetica delle popolazioni. Per la ricostruzione della struttura trofica sono stati catturati alcuni esemplari di *Androniscus dentiger* e *Niphargus* sp., il substrato su cui si nutrono gli animali, ed eventualmente altri organismi ritenuti significativi presenti nella stessa area. Nelle località più ricche di fauna sono stati collezionati anche campioni di *A. dentiger* e *Niphargus* per le analisi genetiche. Affinché fosse possibile una valutazione statistica è stato necessario prelevare almeno 40 esemplari per tipo in ogni sito. Tenuto conto dell'elevato numero di organismi campionati, si è evitato di catturare individui giovani per non compromettere il rinnovamento delle popolazioni.

I campioni sono stati trasportati vivi in laboratorio, conservando i *Niphargus* in un flacone con acqua, gli *Androniscus* in un terrario con base porosa ed utilizzando un frigorifero portatile per la conservazione fuori dalla grotta.

Gli animali sono stati lavati, e trattati in maniera differente per i diversi tipi di analisi previste.

I campioni per le analisi genetiche sono stati conservati in alcol etilico assoluto. I campioni per le analisi isotopiche sono stati essiccati a bassa temperatura e conservati in microprovette in luogo buio. Lo stesso trattamento è stato utilizzato per tutti i campioni organici da sottoporre ad analisi isotopiche.

Il substrato, costituito da materiale limo-argilloso contenente sostanza organica, ha invece subito uno specifico trattamento preliminare per la rimozione del carbonio inorganico. Il campione è stato essiccato a bassa temperatura, poi frantumato in mortaio fino a ridurlo in polvere. La polvere è stata trattata con acido cloridrico, fino a completa dissoluzione dei carbonati. Una volta

terminata la reazione, la soluzione acida è stata diluita con acqua distillata e fatta decantare. Il liquido acido è stato aspirato, evitando di disturbare il sedimento. La diluizione della soluzione è stata ripetuta più volte, fino ad ottenere un pH > 4,5. A questo punto il campione è stato essiccato a bassa temperatura. Il sedimento è stato conservato in microprovette chiuse, al buio ed al riparo dall'umidità. I campioni così preparati sono stati inviati ai laboratori per le analisi previste.

## ISOTOPI STABILI (SIRA)

L'analisi dei rapporti tra gli isotopi stabili del carbonio e dell'azoto (SIRA) consente di determinare l'origine del materiale organico utilizzato dalle popolazioni nelle diverse zone della grotta. Questo metodo può essere utilizzato in quanto possono essere previsti i valori del frazionamento isotopico di carbonio ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) e azoto ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) dovuti all'azione degli organismi viventi. I microrganismi chemioautotrofi solfoossidanti possono causare un frazionamento isotopico pari a circa il -25‰ tra il carbonio inorganico e quello contenuto nella biomassa, mentre gli eterotrofi sono tipicamente arricchiti di circa il 1-2‰ in  $^{13}\text{C}$  e del 3-5‰ in  $^{15}\text{N}$  rispetto alle loro fonti alimentari. Lo studio dei rapporti isotopici di carbonio ed azoto è già stato utilizzato nella grotta, dove ha consentito di verificare che gli organismi presenti nelle zone sulfuree della grotta si nutrono di materiale organico prodotto *in situ* per chemiosintesi dai solfobatteri (SARBU *et al.*, 2000).

La metodologia è utilizzabile nella grotta, in quanto gli ioni bicarbonato disciolti nelle acque sulfuree contengono carbonio con valori di  $\delta^{13}\text{C}$  compresi tra -7.5‰ e -9‰, inferiori a quelli del carbonio utilizzato dagli organismi fissatori negli ambienti epigei.

I dati acquisiti sui campioni prelevati nella grotta sono riportati nella tabella sottostante. Per alcuni campioni inviati ai laboratori il materiale organico è risultato insufficiente o, in alcuni casi, i risultati analitici non sono risultati sufficientemente precisi. Questi valori non sono stati riportati nella tabella. I campioni indicati come substrato rappresentano il terreno su cui sono stati prelevati gli organismi terrestri analizzati, principalmente *Androniscus*.

### Tabella con risultati analisi isotopi stabili

	Grotta	Tipologia campione	azoto: % massa	carbonio: % massa	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
1	Bella	Niphargus	8,2	39,6	-7,06	-36,38

ECOLOGIA E MICROEVOLUZIONE FAUNA CAVERNICOLA DI FRASASSI

2	Bella	Nesticus	12,7	47,1	-2,56	-35,45
3	Bella	biofilm	3,6	18,4	-6,03	-38,43
4	Bella	biofilm	3,3	17,3	-7,05	-38,03
5	Bella	sapropeliti nere	0,1	0,9	2,69	-28,70
6	Bella	biofilm	0,8	4,5	-9,60	-38,93
7	Bella	mucoliti	1,6	19,4	-24,86	-34,49
8	Bugianardo		0,1	0,6	5,70	-29,92
9	Bugianardo	fango lago	0,2	1,4	2,73	-31,54
10	Bugianardo	Niphargus	7,9	39,9	1,24	-30,53
11	Fiume	Androniscus	10,9	38,3	5,84	-25,10
12	Fiume	substrato	1,6	7,8	7,37	-26,39
13	Fiume	Nesticus				
14	Fiume	Androniscus	10,7	29,6	-7,24	-31,64
15	Fiume	Androniscus	10,5	34,5	-8,03	-28,02
16	Fiume	substrato	0,4	2,6	-5,04	-34,18
17	Fiume	substrato	0,6	4,8	-9,82	-35,67
18	Fiume	Niphargus	7,2	53,6	-4,17	-33,66
19	Fiume	ragni	11,5	45,7	-4,41	-35,13
20	Fiume	substrato	0,2	1,4	3,81	-33,30
21	Fiume	Androniscus				
22	Fiume	fango nero		3,5		-38,87
23	Fiume	Androniscus				
24	Fiume	substrato	0,2	1,5	3,34	-33,31
25	Fiume	Nesticus				
26	Fiume	vermicolazioni marroni	0,5	4,4	3,98	-38,10
27	Fiume	vermicolazioni scure	3,5		1,21	
28	Fiume	vermicolazioni marroni	0,4	3,1	4,62	-37,66
29	Fiume	Androniscus	8,2	39,4	8,73	-24,53

ECOLOGIA E MICROEVOLUZIONE FAUNA CAVERNICOLA DI FRASASSI

30	Fiume	substrato	8,6	37,8	3,97	-26,61
31	Fiume	vermicolazioni marroni	0,6	4,7	6,39	-38,52
32	Fiume	vermicolazioni marroni	0,4	4,3	3,27	-38,46
33	Fiume	Androniscus	8,3	38,4	6,38	-26,23
34	Fiume	ragni		47,5		-27,13
35	Fiume	substrato	0,3	1,6	7,71	-27,01
36	Fiume	Androniscus				
37	Fiume	ragni		47,2		-27,08
38	Fiume	substrato	6,1	25,3	5,95	-27,86
39	Fiume	fango marrone	0,1	0,4	1,30	-32,63
40	Fiume	vermicolazioni chiare	4,6	29,8	1,80	-39,13
41	Fiume	vermicolazioni marroni	2,3	16,7	-3,46	-38,10
42	Fiume	mucoliti	1,0		-26,13	
43	Fiume	substrato	2,3	16,2	-8,71	-35,74
44	Fiume	vermicolazioni scure	2,3	18,5	-9,34	-39,72
45	Fiume	Niphargus	6,6	50,4	-5,20	-30,52
46	Fiume	substrato	0,1	0,6	-2,14	-32,24
47	Fiume	Androniscus	9,1	32,1	-19,18	-34,65
48	Fiume	Androniscus	10,1	50,8	-15,83	-36,15
49	Fiume	Nesticus				
50	Fiume	Androniscus		0,3		-28,37
51	Fiume	substrato	8,3	32,9	-0,61	-31,47
52	Fiume	Androniscus	12,6	45,7	1,30	-34,91
53	Fiume	biofilm	1,9	11,3	-9,55	-31,46
54	Fiume	mucoliti				
55	Fiume	Niphargus	8,4	39,8	-4,84	-35,85

ECOLOGIA E MICROEVOLUZIONE FAUNA CAVERNICOLA DI FRASASSI

56	Fiume	sapropelite con "tartufi"	2,5	15,9	-0,45	-42,91
57	Fiume	biofilm	3,8	21,2	-10,00	-37,89
58	Fiume	biofilm	4,6	32,6	-11,67	-39,49
59	Fiume	vermi	9,6	44,5	-5,63	-36,41
60	Fiume	Niphargus	7,9	40,5	-2,21	-34,44
61	Fiume	sapropeliti	0,2	1,5	-1,57	-34,72
62	Fiume	sapropeliti	0,4	2,7	-3,35	-36,21
63	Fiume	Androniscus				
64	Fiume	substrato	1,1	6,8	2,67	-33,97
65	Fiume	Nesticus	12,4	47,1	6,97	-39,21
66	Fiume	Androniscus	8,2	33,3	2,55	-39,12
67	Fiume	substrato	2,5	24,3	3,41	-43,68
68	Fiume	fango nero secco	0,0	0,3	5,12	-24,15
69	Fiume	fango grigio	1,8	14,0	3,97	-38,72
70	Fiume	Nesticus	12,7	45,5	4,82	-38,52
71	Fiume	substrato	1,0	6,4	1,59	-37,77
72	Fiume	Androniscus	10,7	29,5	-3,04	-35,64
73	Fiume	sapropeliti	0,9	5,9	0,16	-39,72
74	Fiume	Niphargus	9,4	41,6	-6,39	-35,47
75	Fiume	Androniscus	8,2	34,0	2,87	-37,50
76	Fiume	Nesticus	12,6	46,6	5,52	-40,24
77	Fiume	substrato	0,7	6,0	5,33	-41,54
78	Fiume	mucoliti	3,7	32,2	4,40	-44,12
79	Fiume	biofilm	0,5	2,8	-10,04	-38,25
80	Fiume	Androniscus	15,8	38,4	-10,89	-37,46
81	Fiume	biofilm	1,9	13,8	-10,77	-38,11
82	Fiume	fango nero secco		0,5		-29,88
83	Frasassi	vermicolazioni nere	0,8	13,7	14,24	-4,01

ECOLOGIA E MICROEVOLUZIONE FAUNA CAVERNICOLA DI FRASASSI

84	Frasassi	vermicolazioni chiare	0,6	13,7	15,49	-2,80
85	Frasassi	Duvalius	11,0	47,0	13,27	-22,15
86	Frasassi	Nesticus	12,6	45,0	16,67	-24,14
87	Frasassi	Androniscus				
88	Frasassi	substrato	1,6	9,7	7,76	-22,23
89	Frasassi	substrato	5,5	19,3	6,34	-26,73
90	Infinito	Nesticus	12,6	45,8	18,42	-24,15
91	Infinito	Androniscus	13,0	31,6	5,39	-24,29
92	Infinito	substrato	0,5	3,6	6,11	-23,14
93	Infinito	substrato	0,9	4,5	5,57	-26,18
94	Sulfurea	verme	11,4	46,1	-1,71	-34,60
95	Sulfurea	Niphargus	7,8	43,0	-6,66	-36,07
96	Sulfurea	Nesticus	11,8	47,8	-4,29	-35,44
97	Sulfurea	sapropeliti	1,0	6,6	-5,81	-37,87
98	Sulfurea	substrato	0,6	4,2	-3,57	-37,45
99	Sulfurea	vermicolazioni scure	0,4	4,1	4,49	-38,77
100	Sulfurea	substrato	0,6	3,7	-1,09	-35,08
101	Sulfurea	vermicolazioni grigie				
102	Sulfurea	Androniscus	9,1	36,3	-5,33	-34,21
103	Sulfurea	Niphargus				
104	Sulfurea	biofilm	2,8	13,9	-8,94	-37,43
105	Sulfurea	sapropeliti	1,0	6,0	-5,13	-36,31
106	Sulfurea	vermi rossi	9,1	46,2	-5,21	-35,83
107	Sulfurea	ragni		49,2		-36,04
108	Sulfurea	organico	1,6		-4,08	
109	Sulfurea	organico	5,7	37,6	1,38	-37,91
110	Sulfurea	organico	8,2	43,4	-5,47	-35,93
111	Vento	Niphargus	8,3	39,0	-1,85	-29,88

112	Vento	sapropeliti	1,6		1,68	-37,52
113	Vento	sapropeliti	2,0		-0,75	
114	Vento	Niphargus	8,4	44,5	-1,91	-33,63
115	Vernino	Androniscus	8,0	36,1	11,62	-24,03
116	Vernino	Nesticus	11,9	47,8	15,63	-24,92
117	Vernino	Nesticus	12,2	46,8	17,60	-24,87
118	Vernino	vermi	12,3	48,1	17,98	-23,96
119	Vernino	substrato	0,4	4,3	9,22	-16,37
120	Vernino	substrato	2,0	11,1	14,84	-25,13
121	Vernino	substrato	9,4	44,0	8,37	-26,97
122	Vernino	incrostazioni	0,2	2,4	0,07	-23,85

## I risultati

I risultati analitici relativi ai campioni prelevati nella grotta durante la realizzazione del progetto sono poi stati integrati con un ulteriore set di dati acquisiti indipendentemente nella grotta dal gruppo di ricerca coordinato della Dr. Dattagupta; L'insieme di questi dati è stato utilizzato per preparare le figure allegate. I dati dei rapporti isotopici sono compresi in un campo di valori paragonabile a quello riscontrato nella già citata ricerca di Sarbu *et al.* (2000). Si riconoscono chiaramente due gruppi, che si differenziano soprattutto per i valori del  $\delta^{13}\text{C}$  (Fig.11).

I rapporti isotopici con valori più elevati (tra  $-22$  e  $-27\text{‰}$ ) si hanno nelle zone dove le fonti alimentari sono rappresentate da materiali di origine superficiale, mentre nelle zone sulfuree i materiali organici sono più ricchi di isotopi leggeri, con valori più negativi del  $\delta^{13}\text{C}$ . Si può notare che la quasi totalità dei campioni provenienti dai rami inferiori sono ricchi di isotopi leggeri del carbonio che denotano una produzione ad opera di

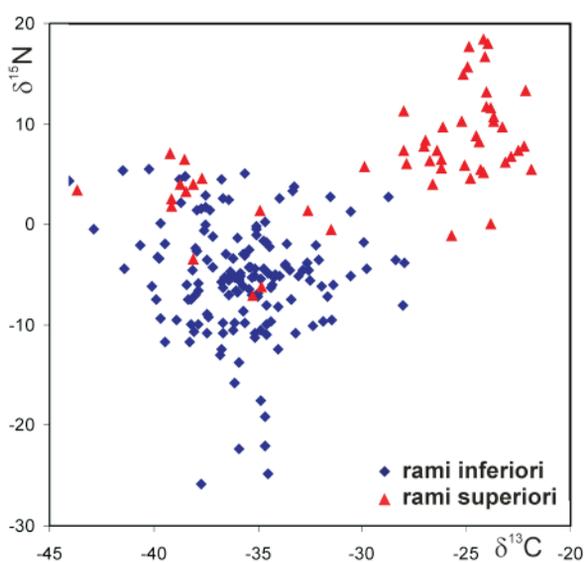


Figura 11 - Diagramma con i dati isotopici totali dei campioni analizzati nella grotta.

organismi chemiosintetici (Fig.11). Al contrario nei rami superiori i contributi di materiale organico superficiale sono più importanti; anche in queste località si trova tuttavia materiale biologico derivante da processi chemiosintetici attivati dalle esalazioni sulfuree che diffondono dal basso o prodotto in passato prima che il livello della falda sulfurea si abbassasse alla quota attuale. Nel dettaglio possono essere evidenziate alcune interessanti relazioni nei diversi ambienti analizzati.

### Falda freatica

I campioni prelevati negli ambienti freatici evidenziano la grande importanza del materiale organico prodotto per chemiosintesi (Fig. 12); solo pochi campioni hanno caratteristiche intermedie, dovute a condizioni anomale locali verificate principalmente nel Lago Verde o a parziale contribuzione di materiale organico di origine superficiale nelle zone esterne.

#### *Produttori primari*

I biofilm campionati nelle acque sulfuree della grotta, costituiti principalmente da batteri solfoossidanti, hanno fornito valori medi di  $-36\text{‰}$  per  $\delta^{13}\text{C}$  (Fig. 13). Questo risultato è assai simile al valore medio di  $-35\text{‰}$  già ottenuto per lo stesso tipo di campioni nella ricerca di Sarbu *et al.* (2000). I biofilm campionati, rappresentano i produttori primari nell'ecosistema ipogeo.

Essi costituiscono patine che rivestono le pareti della grotta nelle zone più superficiali, dove raggiungono spessori elevati e sono visibili macroscopicamente (Fig. 14). Nelle zone più profonde

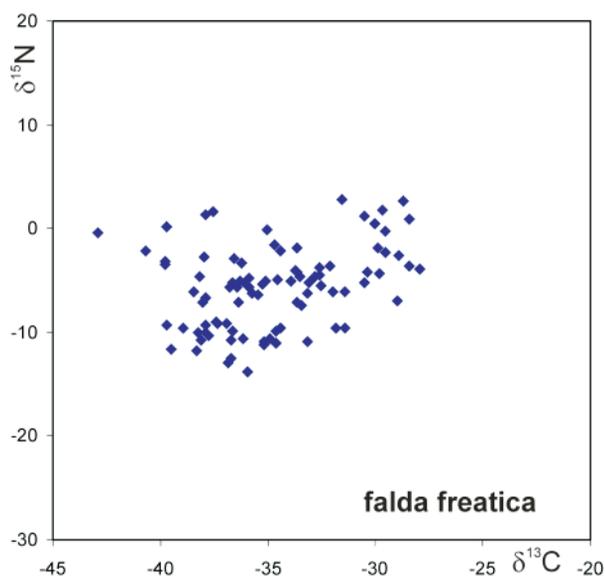


Figura 12 - Diagramma con i dati isotopici totali dei campioni prelevati nella falda.

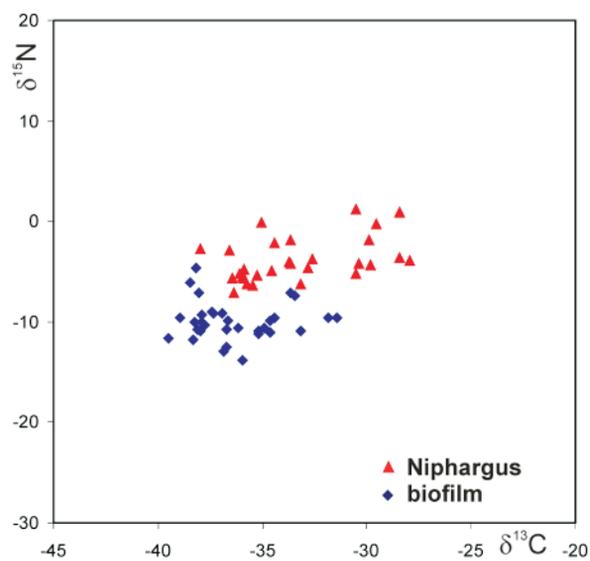


Figura 13 - Diagramma con i dati isotopici relativi a biofilm e *Niphargus*.



Figura 14 - Biofilm nelle acque sulfuree della grotta.

dell'acquifero, sottili filamenti organici sono stati individuati sulle pareti della grotta durante immersioni subacquee. Per la sopravvivenza dei batteri solfoossidanti è necessaria la disponibilità di solfuri ed ossigeno, condizioni che si realizzano più facilmente nelle zone superficiali dell'acquifero, in particolare in presenza di flussi turbolenti. Differenti tipi di associazioni batteriche sono state riconosciute nella grotta, in dipendenza

della maggiore o minore disponibilità di ossigeno (Macalady *et al.*, 2006). In ogni caso, i valori del  $\delta^{13}\text{C}$  risultano fortemente negativi, compresi tra -31 e -39 ‰ indipendentemente dalla distanza dalla superficie e dalla tipologia del biofilm. Risultati simili sono stati ottenuti anche per i campioni di biofilm localizzati nelle sorgenti sulfuree, anche di subalveo, in zone esposte alla luce solare. Il valore meno negativo (-31,5‰) è stato invece misurato nel Lago Verde, su patine organiche che rivestivano placchette calcaree lasciate in acqua per la valutazione della corrosione.

### *Sapropeliti*

Il fondale dei laghi sulfurei è tipicamente occupato da fanghi organici neri, che possono avere spessore di parecchi decimetri. Questi materiali poco compatti e con altissimo contenuto di acqua si formano solo negli ambienti sulfurei, in quanto le condizioni riducenti consentono la conservazione dei materiali organici sui fondali (Fig. 15). In ambiente ossidante la colorazione nera sparisce rapidamente.

Le analisi effettuate hanno evidenziato valori del  $\delta^{13}\text{C}$  fortemente negativi compresi tra -28 e -40‰ nei laghi interni. I valori più elevati si trovano nelle zone esterne del complesso carsico (Fig. 16). I suddetti dati evidenziano come il materiale organico prodotto per chemiosintesi rappresenti la totalità del materiale biologico dei fanghi nelle zone

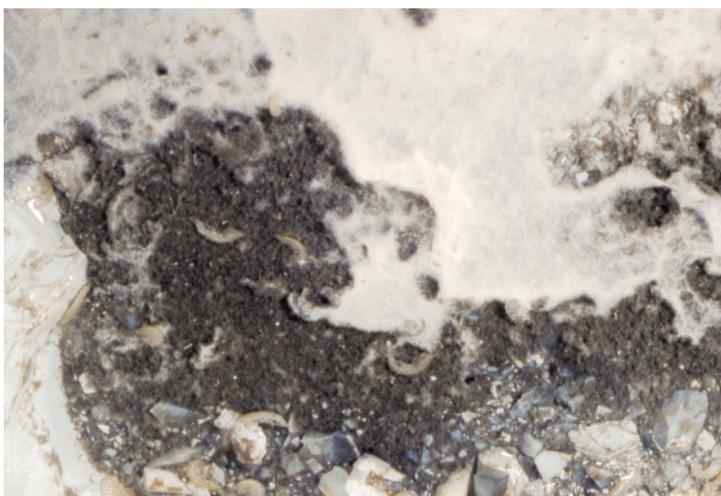


Figura 15 - Sapropeliti ricoperte da biofilm nelle acque sulfuree della grotta, con numerosi *Niphargus*.

interne, mentre l'importanza relativa dei batteri come produttori di materiale organico diminuisce nelle zone più esterne della grotta, dove apporti di materiale biologico dalla superficie si mescolano a quelli prodotti *in situ* dai solfobatteri. Nelle emergenze sulfuree, pure in presenza di biofilm costituiti da materiale biologico isotopicamente leggero, i fanghi organici hanno una composizione che denota una derivazione prevalentemente superficiale.

Da segnalare come all'interno dei fanghi neri si trovano degli ammassi di materiale biologico dotato di una struttura interna complessa, indicato come "tartufi" per via della forma e della struttura, che risulta avere valori estremamente bassi di  $\delta^{13}\text{C}$ , fino a -45,9‰, i valori più bassi misurati nella grotta.

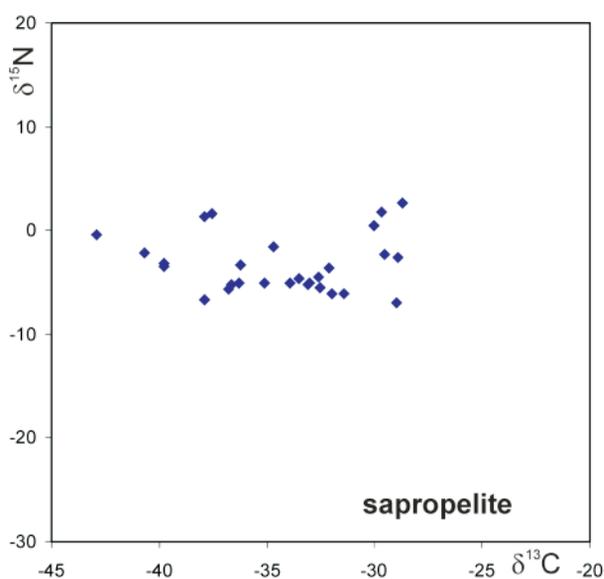


Figura 16 - Diagramma con i dati isotopici relativi alle sapropeliti.

### *Niphargus*

I valori del  $\delta^{13}\text{C}$  relativi a *Niphargus* sp. evidenziano valori leggermente più elevati rispetto a quelli misurati nei biofilm, che sembrano rappresentare il nutrimento di questi organismi (Fig. 13). Nel caso della Grotta Bella, l'elevato valore del  $\delta^{13}\text{C}$  misurato nei fanghi neri, conferma che esso non costituisce il nutrimento per i *Niphargus*, che "pascolano" sui film batterici.

I dati disponibili non sembrano evidenziare differenze legate al tipo di specie di *Niphargus*. Bassi valori di  $\delta^{13}\text{C}$  infatti si trovano sia nei laghi abitati da *N. ictus* che da *N. frasassianus*, le due specie più rappresentate. Valori più elevati si trovano nei laghi con acque stagnanti, privi di evidenti biofilm superficiali, ed in particolare nel Lago Verde, dove i valori misurati sono assai vicini a quelli degli organismi di habitat superficiali.

Valori simili a quelli ottenuti per i *Niphargus* si hanno per gli altri organismi campionati in ambiente acquoso.

### Ambienti aerati

Negli ambienti aerati si rileva chiaramente la distinzione tra le zone sulfuree e no (Fig. 17), caratterizzate da valori tipicamente differenti del  $\delta^{13}\text{C}$ .

#### Zone sulfuree

*Produttori primari* – La presenza di produttori primari è direttamente legata alle esalazioni sulfuree che dalla falda raggiungono gli ambienti circostanti della grotta, dove ha luogo la formazione di gesso per sostituzione del calcare (Fig. 18). I campioni esaminati confermano il valore bassi o estremamente bassi del  $\delta^{13}\text{C}$ , da -34,49 a -44,12‰, in analogia ai valori già ottenuti nelle precedenti ricerche (Vlasceanu *et al.*, 2000).

Le aree in cui si rinvencono biofilm, attivi o no, corrispondono comunque a zone ristrette, e sono associate alla presenza di rivestimenti gessosi. Il pH estremamente basso che si misura in queste zone non rappresenta una condizione favorevole allo sviluppo di fauna.

*Substrato* - Il substrato su cui si rinviene la maggior quantità di fauna è rappresentato da fanghi di origine detritica sul pavimento delle sale, in zone interessate dalle oscillazioni di livello delle acque sulfuree. I campioni analizzati confermano un'alta percentuale di isotopi leggeri nel materiale organico. I valori  $\delta^{13}\text{C}$ , compresi tra -32 e -38‰, documentano una probabile derivazione dal materiale biologico



Figura 18 - Materiale organico prodotto da batteri solfoossidanti (“Mucoliti”). L’acido prodotto è responsabile della formazione del gesso sulle pareti calcaree.

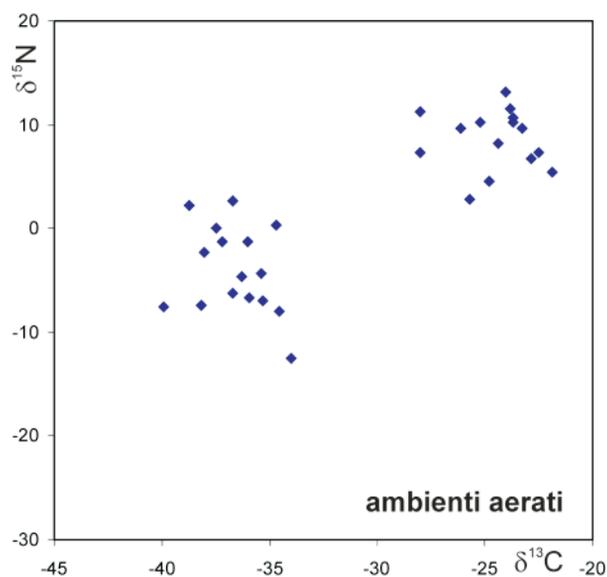


Figura 17 - Diagramma con i dati isotopici totali dei campioni prelevati in atmosfera.

da attività batterica, sia in ambiente acquoso durante i periodi di alto livello idrico che per effetto del rilascio di  $\text{H}_2\text{S}$ .

Materiale organico è anche presente in zone più lontane dagli specchi di acqua sulfurea, in particolare nelle diffuse patine di materiale limo-argilloso che producono caratteristiche vermicolazioni

parietali. Anche in questo caso i valori del  $\delta^{13}\text{C}$  sono molto negativi, essendo compresi tra -34 e -40‰, fino a punte di -41,5‰.

*Organismi* – Gli organismi diffusi in queste zone utilizzano come nutrimento il materiale organico presente nei depositi di fango, principalmente sul pavimento delle sale (Fig. 19). L'organismo più comune, *Androniscus dentiger*, raggiunge la massima densità sui depositi al pavimento delle sale, mentre è assai meno comune nelle zone in cui si trovano biofilm acidi o nelle pareti ricoperte da vermicolazioni. I valori molto bassi del  $\delta^{13}\text{C}$  testimoniano che si nutre esclusivamente del materiale biologico di origine chemiosintetica contenuto nei depositi fangosi.

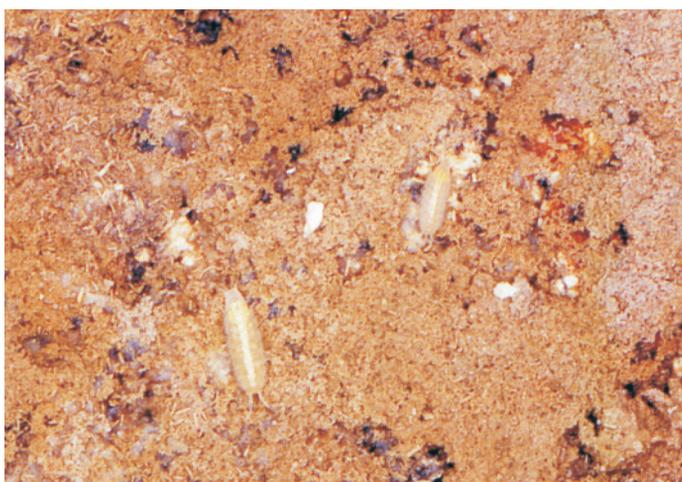


Figura 19 - Esempari di *Androniscus* nel loro habitat.

Il ragno *Nesticus eremita* popola le zone prossime ai laghi sulfurei, nutrendosi sia di *A. dentiger* che catturando esemplari di *Niphargus* sp., quando questi si avvicinano alle sponde o si spostano per brevi tratti fuori dalle acque stesse. Il contenuto isotopico evidenzia sia per questi animali, che per altri tipi di organismi campionati una dieta basata interamente su materiale organico di derivazione chemiosintetica.

#### *Zone non sulfuree*

Negli ambienti superiori è stata riscontrata una diffusa presenza di materiale biologico prodotto per chemiosintesi. In particolare le vermicolazioni argillose, generalmente fossili, presenti in molti ambienti, rivelano valori di  $\delta^{13}\text{C}$ , analoghi a quelli attualmente misurati nelle zone sulfuree, mostrando così che la loro formazione è avvenuta in condizioni passate, prima dell'approfondimento dell'idrografia, quando le acque sulfuree interessavano direttamente gli ambienti oggi fossili. Questi residui organici antichi non sono in generale utilizzati come nutrimento dalla fauna ipogea, molto scarsa in queste zone. Al contrario, nelle zone soggette ad apporti anche deboli di vapori sulfurei può aversi produzione attuale di materiale organico, utilizzato da *A. dentiger*.

Al di fuori delle ristrette zone in cui si verificano gli apporti di gas sulfurei, la presenza di organismi è legata agli isolati depositi di guano e, nelle zone più esterne, ai detriti provenienti dalla superficie.

### Riferimenti bibliografici

Cocchioni M., Galdenzi S., Morichetti L., Nacciarriti L. & Amici V. (2003) – *Studio idrochimico delle acque nel complesso ipogeo di Frasassi*. Le Grotte d'Italia, s. V, **4**, 49-61.

Flot J.F., Wörheide G., Dattagupta S. (2010) - *Unsuspected diversity of Niphargus amphipods in the chemoautotrophic cave ecosystem of Frasassi, central Italy*. BMC Evolutionary Biology, **10**, 171.

Galdenzi S. (2001) – *L'azione morfogenetica delle acque sulfuree nelle Grotte di Frasassi, Acquasanta Terme (Appennino marchigiano - Italia) e di Movile (Dobrogea – Romania)*. Le Grotte d'Italia, s. V, **2**, 49-61.

Galdenzi S. (2012) – *Corrosion of limestone tablets in sulfidic ground-water: measurements and speleogenetic implications*. International Journal of Speleology, **41**(2), 25-35.

Galdenzi S. & Campagnoli A. (2015) – *Piano quotato dell'acquifero carsico di Frasassi*. Atti 22° Congresso Nazionale di Speleologia, Pertosa-Auletta (SA), p. 375-380.

Galdenzi S., Cocchioni M., Morichetti L., Amici V. & Scuri S. (2008) – *Sulfidic ground-water chemistry in the Frasassi Caves, Italy*. Journal of Cave and Karst Studies, **70** (2), 94-107.

Galdenzi S. & Menichetti M. (2002) – *Il monitoraggio ambientale nelle Grotte di Frasassi: struttura della rete di acquisizione e nuove indicazioni sul microclima*. Le Grotte d'Italia, s. V, **3**, 75-86.

Karaman G.S., Borowsky B. & Dattagupta S. (2010) – *Two new species of the genus Niphargus Schiodte, 1849 (Amphipoda, fam. Niphargidae) from the Frasassi cave system in Central Italy*. Zootaxa, **2439**, 35–52.

Jones D.S., Polerecky L., Galdenzi S., Dempsey B.A. & Macalady J.L. (2015) – *Fate of sulfide in the Frasassi cave system and implications for sulfuric acid speleogenesis*. Chemical Geology, in stampa.

Macalady J.L., Jones D.S. & Lyon E.H. (2007) – *Extremely acidic, pendulous microbial biofilms from the Frasassi cave system, Italy*. Environmental Microbiology, **9**, 1402-1414.

Macalady, J.L., Lyon, E.H., Koffman, B., Albertson, L.K., Meyer, K., Galdenzi, S. & Mariani, S. (2006) – *Dominant microbial populations in limestone-corroding stream biofilms, Frasassi cave system, Italy*. Appl. Environ. Microbiol. **72**, 5596-5609.

Mariani S., Mainiero M., Barchi M., van der Borg K., Vonhof H. & Montanari A. (2007) – *Use of speleologic data to evaluate Holocene uplifting and tilting: an example from the Frasassi anticline (northeastern Apennines, Italy)*. Earth and Planetary Science Letters, **257**, 313–328.

Sarbu S. M., Galdenzi S., Menichetti M. & Gentile, G. (2000) – *Geology and Biology of the Frasassi Caves in Central Italy, an ecological multi-disciplinary study of a hypogenic underground ecosystem*. In: H. Wilkens, D. C. Culver, W. F. Humphreys (Eds.) – *Ecosystems of the world*. Elsevier, New York, 359-378.

Vlasceanu, L., Sarbu, S.M., Engel, A.S. & Kinkle B.K. (2000) – *Acidic, cave-wall biofilms located in the Frasassi Gorge, Italy*. Geomicrobiology Journal, **17**, 125-139.

Jesi, 22 ottobre 2015

Dott. Sandro Galdenzi  
