

## Rassegna degli indici basati sui macroinvertebrati bentonici come indicatori di qualità degli ecosistemi lacustri

Marco LE FOCHE (a), Tatiana NOTARGIACOMO (b) e Laura MANCINI (c)

(a) Agenzia per la Protezione Ambientale del Lazio, Sezione Provinciale, Latina

(b) Agenzia per la Protezione Ambientale dell'Umbria, Dipartimento Provinciale, Perugia

(c) Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

**Riassunto.** - Viene qui presentata una rassegna dei principali indici basati sui macroinvertebrati bentonici per la valutazione della qualità degli ambienti lacustri. Gli indici biotici possiedono una buona capacità di evidenziare alterazioni ambientali ed il loro utilizzo può essere vantaggioso se si scelgono taxa facilmente identificabili e dei quali siano note le relazioni con l'ambiente. Il principale svantaggio consiste nel fatto che le specie indicatrici possono essere utilizzate in ambiti geografici definiti. Per contro, l'uso degli "indici di comunità" (diversità, similarità ecc.), la cui applicazione è più generalizzabile, comporta alcune difficoltà legate sia al riconoscimento specifico di molti taxa sia alla necessità di effettuare campionamenti quantitativi. Inoltre, la relazione tra "indici di comunità" e "integrità biologica" è tuttora in discussione. Le metodologie multimetriche, infine, incorporano tolleranza all'inquinamento di singoli taxa, diversità e funzioni ecologiche, sintetizzando tutto in un unico valore indicatore della salute della comunità. Tra gli indici esaminati il *lake biotic index* sembra essere il più adatto per la semplicità di applicazione al monitoraggio routinario degli ambienti lacustri.

*Parole chiave:* laghi, macroinvertebrati, indici biotici, indici di comunità, indici multimetrici, qualità ambientale.

**Summary** (*A review on benthic macroinvertebrates indices for assessing the biological quality of lakes*)

- Biotic indices, community indices (diversity and similarity indices) and multimetric indices based on benthic macroinvertebrates are reviewed considering their application for assessing the quality of lakes. Biotic indices are suitable for assessing environmental impairment, but are limited to a particular area in which tolerance lists were compiled. Community indices need quantitative sampling and a substantial amount of taxonomic expertise. Moreover, the relation between "diversity" and "biotic integrity" is still being debated. The multimetric approach combines tolerance, diversity and ecological functions. The combination of these attributes forms an index that provides valuable assessments of environmental quality. Among the indices reviewed, the *lake biotic index* appears to be the most easily applicable and useful for routine monitoring.

*Key words:* lakes, macroinvertebrates, biotic indices, community indices, multimetric indices, environmental quality.

### Introduzione

Uno dei modi più efficaci per indagare lo stato di salute di un ecosistema acquatico consiste nell'osservare le sue componenti biologiche. L'inquinamento e le alterazioni fisiche dell'ambiente, infatti, influiscono sulle comunità biotiche sia direttamente sia indirettamente; pertanto, è possibile valutare l'entità dei disturbi attraverso la risposta degli organismi.

A livello globale, il biomonitoraggio è diventato un metodo ampiamente accettato di indagine della salute degli ecosistemi acquatici in fiumi, laghi e aree umide [1]. Nel Nord America si è diffuso in risposta al mandato del Clean Water Act (CWA) di ripristinare e mantenere

l'integrità biologica delle acque degli Stati Uniti [2-4]. In Europa il biomonitoraggio ha una lunga storia [5], iniziata ai primi del '900 con lo sviluppo del *Saprobienindex* [6] e proseguita con l'affermarsi di numerosissimi metodi biologici applicati con successo nella valutazione della qualità ambientale, soprattutto per le acque correnti.

La direttiva comunitaria europea 2000/60/EC (Water Framework Directive), che istituisce il quadro di riferimento per la politica comunitaria in materia di acque e stabilisce gli obiettivi ambientali di prevenzione, tutela, risanamento e usi sostenibili della risorsa, attribuisce importanza prioritaria ai parametri biologici come elementi qualitativi per la valutazione dello stato ecologico delle acque superficiali.

### I macroinvertebrati bentonici

I macroinvertebrati colonizzano tutte le diverse tipologie di corpi idrici e la loro distribuzione è influenzata principalmente da natura del substrato, profondità dell'acqua, corrente, termica, chimismo e cibo disponibile. Svolgono funzioni importanti tra cui: consumo diretto del materiale organico prodotto o convogliato nell'ambiente, frantumazione del particolato in elementi più facilmente assimilabili dalla componente microbica, oltre a costituire una fonte di cibo per pesci e uccelli.

I macroinvertebrati rappresentano, quindi, un importante sistema depurante del corpo idrico, insieme al *periphyton* e alla vegetazione acquatica e ripariale; la presenza di una comunità ben diversificata, favorita da una buona diversità ambientale e dalla ricchezza di microhabitat, assicura una risposta pronta ed efficace alle variazioni temporali del carico organico e, quindi, una maggiore efficienza depurativa e una maggiore stabilità dell'ecosistema [7]. Lo *zoobenthos* costituisce, pertanto, una comunità particolarmente sensibile, con un ruolo essenziale nella catena alimentare, nella produttività, nel trasferimento dei nutrienti e nella decomposizione; nessun ecosistema acquatico, può funzionare a lungo senza una comunità bentonica in salute e la conoscenza dello stato di questa è essenziale per la valutazione della qualità dell'intero ecosistema [8].

Le comunità di macroinvertebrati bentonici sono utilizzate da decenni come bioindicatori a lungo termine della salute di un ecosistema acquatico [9-11]. La composizione di una comunità bentonica dipende, infatti, da diversi fattori naturali come la disponibilità di habitat, la predazione, la capacità di competizione e di ricolonizzazione delle specie componenti, ma anche dalla frequenza e dal tipo di disturbi di origine antropica [12, 13]. Una delle caratteristiche più importanti delle comunità di macroinvertebrati è la capacità di rispondere in modo adeguato a differenti tipi di impatto, all'inquinamento così come alle alterazioni fisiche del corpo idrico che, spesso, determinano un degrado anche maggiore rispetto all'inquinamento. La struttura della comunità mostrerà, quindi, un certo grado di allontanamento da una condizione ottimale, tipica della comunità che colonizza il corpo idrico in condizioni di buona efficienza dell'ecosistema [14].

### I macroinvertebrati come bioindicatori degli ambienti lacustri

L'interesse per l'uso dei macroinvertebrati come bioindicatori negli ambienti di acque correnti è sempre stato rilevante, mentre per le acque ferme è stato rivolto prevalentemente alle comunità planctoniche.

Nello studio degli ecosistemi acquatici lacustri, a partire da Thienemann [15], i sistemi di classificazione dei laghi sono stati basati sul contenuto di fosforo e sui componenti biologici; tra questi hanno acquistato un peso sempre maggiore le comunità di macroinvertebrati bentonici, utilizzate per valutare lo stato trofico dei laghi [16].

Secondo l'Organisation for Economic Cooperation and Development [17] l'indicatore è un parametro, o un valore derivato da parametri, che fornisce informazioni utili per descrivere lo stato di un fenomeno, con un significato che va oltre quello direttamente associabile al valore del parametro stesso.

Se nell'interpretazione di un fenomeno si combinano i segnali di più indicatori si ottengono gli indici, espressioni numeriche che integrano la risposta di indicatori con diversa sensibilità nei confronti dei fattori ambientali.

Nella sorveglianza biologica della qualità delle acque si applicano attualmente varie categorie di indici:

- indici biotici, basati sul valore indicatore di singole specie o di gruppi di specie;
- indici a livello di comunità;
- indici multimetrici.

### Indici biotici

Sono indici basati sul valore indicatore di singole specie o di gruppi di specie indicatrici, la cui presenza o assenza indica una particolare condizione ambientale. Talvolta vengono definiti indici saprobici quelli basati sul valore indicatore di singole specie o di gruppi di specie, mentre vengono definiti indici biotici quelli che combinano il valore indicatore di specie o gruppi di organismi con indicazioni relative alla diversità di specie [14].

Fino agli anni 50 l'unico metodo biologico in uso per la valutazione della qualità biologica degli ambienti acquatici era il *Saprobienindex* [6], basato sulle modificazioni della composizione della comunità biologica in relazione ai processi di autodepurazione che si verificano lungo il profilo longitudinale di un corpo idrico, a valle di uno scarico organico. Successivamente sono stati sviluppati altri indici, sempre per le acque correnti, fra cui citiamo: il *biotic score* [18], il *trent biotic index* [19], successivamente modificato nell'*extended biotic index* [20] che ha ispirato l'indice biotico esteso [14], il *biological monitoring working party* [21], modificato per i corsi d'acqua spagnoli [22]. Ghetti [14] cita 51 indici biotici e 14 indici comparativi, basati interamente o in parte sui macroinvertebrati, utilizzati attualmente per la valutazione della qualità delle acque correnti.

Uno dei primi indici sviluppati appositamente per i laghi è stato il *Beak's lake index* o *bivariate control charts* [23]. Il metodo consiste nel determinare la densità

di una o più specie all'interno di due anelli concentrici a diverse distanze da uno scarico. Il cambiamento delle densità nei due anelli è indice di inquinamento. L'indice di Beak non considera il numero delle specie, ma solo la densità degli individui.

Il metodo presenta alcuni vantaggi: non è richiesta un'elevata abilità tassonomica; è possibile determinare statisticamente se vi siano stati cambiamenti significativi nella comunità; i risultati possono essere espressi in scala graduata. Sono presenti, tuttavia, anche svantaggi: gli organismi scelti possono essere resistenti a condizioni ambientali sfavorevoli; l'assenza di specie, che può essere causata da fattori naturali, può rendere inapplicabile il metodo.

Per il territorio Nord americano Hilsenhoff [24] ha proposto un indice basato su valori di tolleranza attribuiti alle specie di macroinvertebrati:

$$Hilsenhoff = \sum_{i=1}^k \frac{n_i Q_i}{n}$$

dove Q è il valore di qualità (tolleranza) di ciascuna specie.

L'indice è stato successivamente modificato [25] nel *family biotic index*, nel quale i valori di tolleranza sono riferiti alle famiglie, anziché alle specie, con valori che variano da 0 (famiglie sensibili) a 10 (famiglie tolleranti).

Il Ministero dell'Ambiente dell'Ontario [26] suggerisce, invece, l'uso di una serie di indici basati tutti sul calcolo della proporzione fra le abbondanze di un particolare gruppo tassonomico ed il totale degli individui: (%) oligocheti; (%) anfipodi; (%) EPT (efemerotteri, plecoteri, tricoteri); (%) insetti; (%) non-ditteri, (%) gasteropodi; (%) bivalvi.

Wiederholm [27] basandosi sugli studi di Thienemann, ha creato il *benthic quality index* (BQI), che utilizza cinque specie indicatrici di chironomidi, con valori che vanno da punteggi bassi per laghi eutrofici, dove predominano larve di *Chironomus plumosus*, ai punteggi più alti per laghi oligotrofici, dominati da larve di *Heterotrissocladius subpilosus*.

Il BQI è utilizzato in Svezia e negli altri paesi scandinavi, dove è in attuazione un esteso programma di monitoraggio dei numerosi laghi attraverso l'uso dei macroinvertebrati, in particolare utilizzando le comunità delle acque profonde per la valutazione dei carichi organici. Il BQI, basato sulla presenza di poche specie indicatrici di chironomidi, è calcolato come segue:

$$BQI = \sum_{i=0}^5 \frac{k_i n_i}{N}$$

dove k rappresenta un valore costante dato a ciascuna specie, che rappresenta la posizione empirica di ciascuna specie in un intervallo che va dalla oligotrofia alla eutrofia:  $K_i = 5$  per *Heterotrissocladius subpilosus* (Kieff), 4 per *Micropsectra* spp. e *Paracladopelma* spp.,

3 per *Phenospectra coracina* (Zett.) e *Stictochironomus roseschoeldi* (Zett.), 2 per *Chironomus anthracinus* (Zett.), 1 per *Chironomus plumosus* (Zett.), 0 se questi indicatori sono assenti;  $n_i$  = numero di individui per ciascun gruppo, N = numero totale delle specie indicatrici.

L'indice è stato sviluppato con le specie dei laghi paleartici ma, con opportune modificazioni, è applicabile anche alla regione nordamericana. Il vantaggio del metodo risiede nella semplicità di calcolo. Per contro, l'identificazione delle larve di chironomidi da parte di non specialisti è difficile e consente l'utilizzo solo di una lista parziale di specie. È stato auspicato [28] l'inserimento di ulteriori specie per migliorare l'accuratezza dell'indice.

Gli oligocheti sono stati usati meno frequentemente nella classificazione dei laghi per le difficoltà nell'identificazione a livello di specie. Osservando che la specie *Limnodrilus hoffmeisteri* aumentava in abbondanza con l'inquinamento organico, Brinkhurst [29] propose di impiegare la proporzione di questa specie relativamente alle altre come indice di inquinamento organico.

Utilizzando specie di oligocheti tolleranti e intolleranti Ahl e Wiederholm [30] hanno creato un sistema indicatore simile al BQI, con valori basati sulla presenza/assenza di cinque specie e compresi tra punteggi bassi per laghi oligotrofici dominati da *Limnodrilus hoffmeisteri* e punteggi più alti per laghi eutrofici, dove predomina *Stylodrilus heringianus*

$$BQI = \sum_{i=0}^4 \frac{k_i n_i}{N}$$

dove  $k_i = 4$  per *Stylodrilus heringianus* (Claparede) e *Rhynchelmis limosella* (Hoffmeister), 3 per *Peloscocox ferox*, 2 per *Potamothenix hammoniensis* (Michaelson) e 1 per *Limnodrilus hoffmeisteri*.

Specie tolleranti come *Limnodrilus hoffmeisteri* e *Tubifex tubifex* tendono ad aumentare in abbondanza, relativamente ai chironomidi sedentari, con l'aumento di inquinamento, pertanto lo stesso Wiederholm [27] suggerì che il rapporto tra oligocheti e chironomidi sedentari poteva essere usato come indice d'inquinamento.

In Finlandia sono state apportate modifiche al BQI consistenti nella modificazione della costante empirica attribuita a ciascun taxon preso in considerazione: nel BQI relativo agli oligocheti è stato attribuito il valore 2 a *Limnodrilus hoffmeister* ed il valore 1 a *Potamothenix hammoniensis*. Per quanto riguarda i chironomidi, invece, è stata ampliata la lista di specie passando da 7 a 22 taxa di chironomidi, ai quali sono stati attribuiti i punteggi riportati in Tab. 1 [31].

Kansanen *et al.* [28] hanno verificato, tuttavia, nonostante l'incremento del numero delle specie indicatrici, la difficoltà nell'utilizzo dell'indice a

causa dell'assenza frequente di molte delle specie di chironomidi, mentre si è dimostrato soddisfacente l'utilizzo del BQI basato sugli oligocheti.

La misura del rapporto oligocheti/chironomidi si riferisce alla relazione fra oligocheti e chironomidi sedentari (viventi in tubi alla superficie del sedimento), escludendo forme mobili e predatrici come *Procladius*, che sembra essere, almeno come gruppo, piuttosto euritopo [27]. Il rapporto riflette il fatto che le popolazioni di oligocheti tolleranti (quali *Limnodrilus hoffmeisteri*, *Potamothenix hammoniensis* e *Tubifex tubifex*) tendono ad aumentare la propria abbondanza relativa rispetto ai chironomidi in condizioni di arricchimento di nutrienti. Per evitare valori infiniti del rapporto è opportuno esprimere il valore come

$$\frac{\text{oligocheti}}{\text{oligocheti} + \text{chironomidi sedentari}}$$

Anche il rapporto chironomidi/oligocheti, per essere utilizzato a fini generali e per comparazioni fra laghi diversi, deve essere corretto per il fattore di profondità, poiché gli oligocheti tendono ad incrementare la dominanza all'aumentare della profondità. Per i laghi svedesi è stata osservata una correlazione fra concentrazioni di clorofilla *a* e il valore del suddetto rapporto [27].

**Tabella 1.** - Punteggi da attribuire ai chironomidi nell'applicazione del *benthic quality index*

Punteggi	Chironomidi
5	<i>Heteroclissocladus subpilosus</i> (Kieff.)
4	<i>Heteroclissocladus maari</i> (Br) <i>Heteroclissocladus grimshavi</i> (Edw.) <i>Heterotanytarsus apicalis</i> (Kieff.) <i>Mesocricotopus thienemani</i> (G.) <i>Monodiamesa ekmani</i> (Br) <i>Paracladopelma nigrifulva</i> (G.) <i>Micropsectra</i> spp. <i>Lauterbornia coramina</i> (Kieff.) <i>Stempellinella brevis</i> (Edw.) <i>Tanytarsus lugens</i> group
3	<i>Protanypus morivo</i> (Zett.) <i>Monodiamesa bathyphila</i> (Kieff.) <i>Zalutscia zalutschicola</i> Lipina <i>Polypedilum pullum</i> (Zett.) <i>Sergentia coramina</i> (Zett.) <i>Stichtochironomus rosenscholdi</i> (Zett.)
2	<i>Chironomus anthracinus</i> (Zett.) <i>Chironomus neocorax</i> (Wulker & Butler) <i>Chironomus thummi</i> -type <i>Chironomus plumosus</i> coll. <i>Chironomus plumosus</i> -type

In Italia sono stati condotti diversi studi su ambienti lacustri utilizzando la comunità bentonica come indicatore di qualità [32-34].

In particolare Margaritora *et al.* [35], nello studio delle comunità littorali, hanno utilizzato i seguenti parametri:

- rapporto naididi/tubificidi;
- numero delle specie di nematodi;
- rapporto tra tubificidi indicatori di eutrofizzazione (*Limnodrilus hoffmeisterii*, *Limnodrilus hoffmeisteri*, *L. claparedeianus*, *L. udekemianus*, *Potamothenix heuschleri*, *P. hammoniensis*, *Tubifex tubifex*) e fauna totale.

Mentre per le comunità sublittorali e profonde sono stati utilizzati:

- numero dei taxa sensibili (*Psammoryctides barbatus*, *Peloscoclex velutinus*, *Lumbriculidae*, *Echinogammarus veneris*, *Niphargus* sp., *Proasellus coxalis*, *Micropsectra*, *Microtendipes*, *Paratendipes*, *Pisidium* spp., *Gastropoda*);
- numero dei taxa tolleranti (*Potamothenix heuschleri*, *P. hammoniensis*, *Tubifex tubifex*, *Chaoborus flavicans*, *Procladius choreus*, *Chironomus* gr. *plumosus*, *Limnodrilus hoffmeisteri*).

È stata verificata la concordanza generale fra la classe di qualità risultante dai parametri chimici e fisici e quella dedotta dai parametri biologici, mentre risulta evidente una discrepanza fra la qualità dell'*epilimnion* e della zona littorale rispetto a quella dell'*ipolimnion*, che ha mostrato un gradiente di deterioramento che va aumentando con la profondità. I metodi biologici sono in grado di riconoscere una simile tendenza al peggioramento anche in laghi aventi diversi livelli trofici. In particolare, gli indici utilizzati per valutare lo stato trofico possono fornire buoni risultati per gli ambienti epilimnetici, ma non necessariamente sono adatti per valutare la qualità lacustre nel suo insieme [34].

Verneaux *et al.* [35] hanno proposto recentemente il *lake biotic index* (LBI) per valutare la qualità dei laghi utilizzando il macrobenthos. Questo indice è basato sulla comparazione delle comunità littorali e profonde campionate nei sedimenti molli. In pratica vengono campionate due diverse comunità: una rappresentativa della zona littorale, alla profondità di 2 m, per definire l'indice littorale ( $B_L$ ), l'altra alla profondità corrispondente al 66% della profondità massima, rappresentativa della zona profonda, per calcolare l'indice di deficit tassonomico ( $D_F$ ). I due indici sono combinati nel LBI, che ha un intervallo che varia tra 0 e 20.

La scelta di campionare solo substrati molli è utile ad evitare la grande variabilità della fauna littorale indotta dall'eterogeneità del substrato. Inoltre, per semplificare l'applicazione del metodo, è stato scelto di utilizzare il genere come unità tassonomica per il riconoscimento degli organismi, ad eccezione dei ditteri diversi dai chironomidi (famiglia), dei nematodi (*phylum*) e degli oligocheti per i quali sono stati distinti

tre gruppi (tubificidi con setole, tubificidi senza setole, altri oligocheti). Per il calcolo dell'indice vengono definiti i seguenti parametri:

- $v_L$  : ricchezza tassonomica littorale = numero di taxa raccolti a 2 m di profondità ( $Z_L$ );
- $d_L$  : densità littorale = numero di individui/ m<sup>2</sup> a 2 m di profondità ( $Z_F$ );
- $v_F$  : ricchezza tassonomica profonda = numero di taxa raccolti al 66% della profondità massima;
- $B_L$  : indice biotico =  $\sqrt{v_L \times \ln d_L}$  ;
- $K$  : coefficiente di correzione per il deficit tassonomico tra  $Z_L$  e  $Z_F$ ,  $k = 0,033$ ;
- $q_L$  : indice di qualità della fauna littorale
- DF : indice di deficit tassonomico =  $\sqrt{k \times \frac{v_F}{v_L} \times q_L}$
- LBI : lake biotic index =  $2,5 \times \sqrt{b_L \times d_F}$

I punteggi da attribuire ai taxa campionati sono indicati nella Tab. 2. Il taxon indicatore utilizzato per determinare  $q_L$  è quello meno tollerante campionato almeno nel 50% dei siti della zona littorale.

### Indici a livello di comunità

Questi indici si basano sulle caratteristiche strutturali della comunità che più sono influenzate da modificazioni fisiche e chimiche dell'ambiente: composizione in specie e numero totale delle specie, numero di individui per ogni specie, proporzioni relative delle specie entro la

comunità, struttura trofica (rapporti tra differenti livelli trofici e gruppi funzionali), funzionamento della comunità (misure di biomassa e produzione). Dal momento che utilizzano caratteristiche proprie di qualsiasi comunità di macroinvertebrati questi indici mostrano il grande vantaggio di essere applicabili su vasta scala.

Uno dei sistemi più utilizzati dagli ecologi per sintetizzare l'informazione contenuta nella struttura di una comunità animale o vegetale è l'utilizzo degli indici di diversità. La diversità specifica, definita da Odum [36] come il rapporto tra il numero delle specie ed il loro valore di importanza (biomassa, numero, produttività) è il parametro più usato per caratterizzare la comunità. Ci sono diverse definizioni degli indici di diversità. Un indice di diversità dovrebbe rappresentare una relazione tra il numero delle specie ed il numero di individui. C'è generale accordo fra gli autori sul fatto che un indice di diversità debba contenere sia la componente del numero di individui, sia la componente della uniformità (*evenness*) o una componente che misura l'abbondanza degli individui all'interno di ciascuna specie.

Thienemann [15] aveva sviluppato alcuni principi che spiegavano le variazioni stagionali e spaziali nella diversità delle specie bentoniche: maggiore è la diversità delle condizioni ambientali in una località, più ampio è il numero di specie che formano la comunità; più le condizioni deviano dalla norma, quindi dalle condizioni ottimali per la maggior parte delle specie, minore è il numero di specie presenti e maggiore è il numero di individui delle specie presenti; più a lungo una località è stata in condizioni stabili, più ricca è la sua comunità biotica.

**Tabella 2.** - Punteggi da attribuire ai taxa campionati per l'applicazione del *lake biotic index*

$q^+$	Taxa campionati a $Z_L$ (2 m) con una frequenza $\geq 50\%$ nei siti di campionamento
1,0	<i>Ephemera</i> , <i>Parapendipes</i> , <i>Heterotrissocladius</i> , tutti i generi di Plecoptera
0,9	Tutti i generi di Thricoptera ed Ephemeroptera ad eccezione di <i>Ephemera</i> e <i>Caenis</i>
0,8	Tutti i generi di Diamesianae ed Ortocladinae eccetto <i>Cricotopus</i> ( <i>lato sensu</i> ) e <i>Heterotrissocladius</i> ; tutti i generi di Tanytarsininae eccetto <i>Cladotanytarsus</i> , <i>Paratanytarsus</i> e <i>Tanytarsus</i>
0,7	Tutti i generi di Tanypodinae eccetto <i>Procladius</i> e <i>Tanypus</i> ; tutti i generi di Chironominae eccetto <i>Paratendipes</i> , <i>Dicrotendipes</i> , <i>Glyptotendipes</i> , <i>Tribelos</i> e <i>Chironomus</i>
0,6	<i>Sialis</i> , <i>Pisidium</i> , <i>Cladotanytarsus</i> , <i>Paratanytarsus</i> , <i>Tanytarsus</i>
0,5	<i>Caenis</i> , <i>Tanypus</i> , <i>Dicrotendipes</i> , <i>Glyptotendipes</i> , <i>Tribelos</i> , <i>Cricotopus</i> ( <i>sensu lato</i> )
0,4	<i>Chironomus</i> , <i>Procladius</i>
0,3	Oligochaeta eccetto Tubificidae
0,2	<i>Chaoborus</i> , Tubificidae senza setole
0,1	Tubificidae con setole, Nematodi

La diversità specifica di una comunità animale può essere misurata in vari modi, tra cui i più utilizzati sono la ricchezza specifica, l'eterogeneità e, a essa strettamente connessa, l'uniformità.

Tra tutti gli indici di diversità il più noto è quello di Shannon-Weaver [37]:

$$H = -\sum_{i=1}^p \frac{n_i}{N} \log_2 \frac{n_i}{N}$$

dove  $p$  è il numero di specie,  $n_i$  è il numero di organismi che appartengono alla specie  $i$ -esima ed  $N$  è il numero totale degli individui appartenenti a tutte le specie del campione. La formulazione originaria prevede il logaritmo in base 2, ma possono essere utilizzate anche la base  $e$  dei logaritmi naturali e la base 10 poiché sono tutte tra loro convertibili moltiplicando per un'appropriata costante. Si può facilmente dimostrare che il massimo valore di  $H$  si ottiene quando tutte le specie hanno la medesima frequenza, mentre il minimo si osserva quando tutte le specie sono rappresentate da un solo individuo tranne una, a cui appartengono tutti i rimanenti individui. In altre parole l'indice  $H$  aumenta con l'aumentare di specie nella comunità ed, a parità di specie, aumenta con l'aumentare dell'eterogeneità.

Quando si considera solamente il numero di specie in una comunità, come misura della sua diversità specifica, viene trascurato un importante aspetto quantitativo. Infatti la diversità specifica è ovviamente differente nel caso di due comunità entrambe con 10 specie, ma di cui la prima ha ogni specie rappresentata da un numero uguale di individui e la seconda ha una specie con il 90% degli individui totali della comunità. Ecco, allora, che si rende necessaria l'adozione di misure di eterogeneità, che possano fornire informazioni precise su come sono distribuiti gli individui della comunità nelle diverse specie ivi rappresentate. Generalmente, il concetto di eterogeneità è considerato sinonimo di diversità. La più semplice misura che tenga conto sia delle distribuzioni delle abbondanze sia della ricchezza specifica è l'indice di diversità di Simpson [38], che si calcola determinando, per ciascuna specie, la proporzione di individui o la biomassa relativa sul totale del campione rappresentativo della comunità:

$$D = \frac{\sum_{i=1}^S n_i(n_i - 1)}{n(n - 1)}$$

dove:  $D$  = indice di diversità di Simpson;  $S$  = numero di specie (ricchezza specifica);  $n$  = numero di individui nel campione,  $n_i$  = numero di individui appartenenti alla specie  $i$ -esima.

Secondo questa formulazione l'indice aumenta di valore all'aumentare dell'equipartizione degli individui della comunità tra le singole specie. È stato osservato che non è completamente indipendente dalla numerosità

del campione [39] ed è influenzato dalla presenza di poche specie abbondanti, mentre attribuisce un peso basso alle specie rare.

Il *community loss index*, che può essere considerato un indice di similarità, è stato adottato in Nova Scotia (Canada) dalla Halifax Regional Municipality [40-43] in una strategia multimetrica in cui hanno avuto un posto di rilievo diversi indici a livello di comunità nella valutazione della qualità lacustre; in particolare gli indici di Simpson e di Shannon-Weaver e la ricchezza di taxa ai quali sono stati aggiunti diversi indici biotici.

Il *community loss index* si calcola come segue:

$$\text{community loss} = \frac{d - a}{e}$$

in cui  $d$  è il numero di taxa presenti in un sito di riferimento,  $e$  è il numero di taxa presenti nel sito di studio,  $a$  è il numero dei taxa comuni ad entrambi i siti.

Esso può variare da zero ad infinito ed aumenta all'aumentare della dissimilarità fra i due siti.

Il *community index* è concettualmente simile allo *species deficit index* di Kothe [44], che si calcola come segue:

$$\text{species deficit index} = \frac{d - e}{d} \times 100.$$

Tale indice è stato successivamente modificato da Helawell [45], che sostituì  $e$  con  $m$  (in cui  $m$  è il numero di specie mancanti nel sito di studio rispetto al sito di riferimento).

La diversità di specie è poco usata per caratterizzare il benthos dei laghi, probabilmente per la difficoltà di identificazione degli organismi. Inoltre, molti indici tendono a sottovalutare la presenza delle specie più rare costituendo un ostacolo all'uso di questi indici, in particolare nei laghi dove poche specie tendono ad essere dominanti [27]. Per questi motivi il *numero totale di taxa* o *ricchezza di specie* costituisce una misura migliore della diversità. Poiché il numero delle specie generalmente decresce con la profondità è stato proposto un fattore di correzione, che si ottiene moltiplicando la ricchezza di specie per la profondità del campionamento.

La ricchezza di specie è espressa come numero medio di specie per campionamento (su un certo numero di repliche, con benna Ekman o con altro dispositivo per campionamenti quantitativi).

Gli indici basati sulla struttura trofica e l'analisi dei diversi gruppi funzionali sono stati ampiamente utilizzati come indicatori della qualità degli ambienti lacustri.

Un indice molto utilizzato è quello che si basa sul rapporto tra il numero dei trituratorini rispetto agli altri gruppi funzionali [40-43]. I trituratorini, infatti, sono molto sensibili agli impatti che agiscono sulle zone riparie ed alla presenza di sostanze tossiche che possono

essere assorbite dal materiale corpuscolato grossolano (CPOM). Nel monitoraggio di laghi canadesi è stato utilizzato di frequente anche il rapporto raschiatori/filtratori [40-43, 46], comparando lo spostamento della dominanza di un gruppo sull'altro tra il sito di studio ed un sito di riferimento.

### Indici multicentrici

Integrano le informazioni fornite dalle caratteristiche della comunità bentonica con i dati relativi alla presenza di taxa indicatori, per rilevare gli effetti di disturbo sulla comunità stessa. Un indice multimetrico consiste in una serie di misure, ognuna delle quali rappresenta una caratteristica misurabile della comunità (*metric*) [2], che cambia in modo prevedibile con la variazione delle condizioni ambientali [3, 47]. L'informazione delle variabili biologiche è trasformata in punteggi numerici, che riducono la complessità e l'incertezza di dati multidimensionali. La somma o la media dei punteggi assegnati ad ogni *metric* si traduce in valori dell'indice multimetrico. Il vantaggio dell'uso di questi indici è che possono essere applicati su vasta scala e in habitat diversi. Ogni *metric* descrive una caratteristica specifica del sito di campionamento; sebbene nessuna da sola sia sempre un indicatore attendibile di degrado, insieme forniscono informazioni su una serie di aspetti funzionali e strutturali di un ecosistema e sono in grado di rispondere sia a cambiamenti minimi sia ad ampi *range* di disturbo [11]. La valutazione dell'integrità biologica, in genere, si concentra su poche classi di proprietà ecologiche che rispondono agli impatti antropici [48, 49] tra cui:

- salute di individui o popolazioni;
- struttura e composizione delle specie (numero e tipo di specie in una comunità); la struttura di specie include sia la diversità che la presenza di specie tolleranti all'inquinamento;
- struttura trofica (proporzione relativa dei differenti livelli trofici);
- funzionalità del sistema (produttività e riciclaggio di materia del sistema).

Negli indici biologici multimetrici tipicamente sono incluse misure di almeno tre proprietà (struttura delle specie, struttura trofica e funzionalità del sistema). Le *metrics* sono standardizzate in un punteggio confrontato ad uno standard di riferimento e la valutazione biologica segue una procedura di base che consiste nei seguenti passaggi:

- campionamento delle comunità biologiche selezionate dal programma, registrando l'abbondanza relativa ed altre caratteristiche di ogni specie;
- calcolo delle *metrics* scelte usando l'abbondanza relativa o altre misure tra cui numero di specie, numero di specie intolleranti, abbondanza percentuale di filtratori;

- confronto di ogni *metric* con i valori attesi in condizioni di riferimento e assegnazione di un punteggio numerico corrispondente a buono (simile al riferimento), discreto (differente dal riferimento), o scarso (sostanzialmente diverso dal riferimento);

- somma dei punteggi di tutte le *metrics* di una comunità in un punteggio totale;

- confronto del punteggio totale con il criterio biologico, basato in parte sui punteggi totali attesi in condizioni di riferimento.

Le condizioni di riferimento sono definite attraverso l'identificazione di siti impattati al minimo, la caratterizzazione della condizione biologica di questi siti e l'individuazione di punteggi per le misure. Per situazioni in cui i laghi di riferimento sono troppo pochi o non individuabili, un'alternativa consiste nel selezionare le condizioni di migliore qualità tra tutti i siti [50]. Secondo l'United States Environmental Protection Agency (USEPA) [4] gli elementi che devono essere usati per stabilire le condizioni di riferimento nella valutazione biologica dei laghi sono: indagine biologica dei siti; paleolimnologia; valutazione dei dati storici; previsione di condizione attese usando modelli; valutazione di esperti.

L'indagine biologica fornisce la migliore informazione attuale sulle comunità dell'ecosistema ed è essenziale per determinare la condizione di riferimento e sviluppare successivamente criteri biologici. Caratteristiche del biota come la ricchezza di specie, la presenza o assenza di taxa indicatori, la distribuzione di gruppi trofici, permettono di stabilire la comunità biologica normale, come dovrebbe essere in sistemi non impattati.

Il metodo multimetrico è più efficace quando è modificato in rapporto a specifiche condizioni regionali, basandosi su una selezione e calibrazione delle misure specifiche per la regione e su una caratterizzazione regionale delle condizioni di riferimento.

Il *lake macroinvertebrate integrity index (LMII)* [51] è un indice multimetrico che è stato sviluppato per i laghi e gli invasi del New Jersey, utilizzando analisi statistiche per selezionare un sottoinsieme di parametri da un insieme numeroso di parametri candidati. L'indice è stato creato specificamente per la zona sublittorale di laghi ed invasi con sedimento costituito da limo e sedimenti intermedi. Per giungere alla scelta dei parametri sono stati studiati 37 laghi contaminati e 21 laghi aventi minimi livelli di disturbo e che, pertanto, sono stati considerati di riferimento. Sono stati scelti inizialmente 33 parametri basati su: ricchezza di specie, tolleranza all'inquinamento, gruppi trofico-funzionali. Per ciascun indice o parametro sono stati utilizzati 4 criteri di scelta: potere discriminatorio, capacità di distinguere deterioramento ambientale rispetto a condizioni di riferimento, relazione con i fattori di *stress*, minima ridondanza.

I parametri selezionati sulla base dei suddetti criteri sono stati i seguenti:

- numero di taxa di ditteri;
- percentuale di individui chironomidi;
- percentuale chironomidi/irudinei;
- percentuale taxa raccoglitori-collettori;
- HBI (*Hilsenhoff biotic index*).

Ciascun valore è stato rapportato al 95<sup>mo</sup> percentile (o sul 5<sup>mo</sup> percentile per parametri il cui incremento è indice di cattiva qualità) delle osservazioni nei 21 bacini di riferimento.

L'EPA dell'Ohio utilizza, invece, come indice multimetrico l'*invertebrate community index* (ICI) [52], che si calcola sommando 9 parametri, per ciascuno dei quali vengono assegnati dei punteggi da 0 a 6 (maggiore il punteggio, maggiore è il livello di qualità). I parametri considerati sono illustrati in Tab. 3. Infine, in diversi studi condotti sui laghi della Florida [53, 54] sono stati utilizzati indici multimetrici basati sull'uso di macroinvertebrati e, in particolare, su una serie di parametri che hanno dimostrato di rispondere alle variazioni della qualità ambientale:

- numero di taxa;
- indice di diversità di Shannon;
- percentuale di oligocheti;
- numero di ETO taxa (efemerotteri, tricoteri e odonati);
- indice di tolleranza (simile all'indice biotico di Hilsenhoff).

### Conclusioni

Tradizionalmente la qualità dell'acqua è sempre stata riferita alla qualità chimica e, di conseguenza, gli indici biologici sono stati spesso posti in correlazione con indici chimici per valutarne l'efficacia. Ma è necessario che indici di diversità o indici biotici siano correlati con indicatori o indici di qualità chimica? È noto che la maggior parte degli indici sono correlati con BOD, COD, ossigeno disciolto, ma non ci sono ragioni per cui un indice debba essere scelto solo sulla base della forza della suddetta correlazione. Infatti un indice biologico non deve essere un surrogato di un indice chimico, ma deve dare informazioni sulla struttura della comunità.

Gli *indici di diversità* sono stati largamente usati nello studio dell'inquinamento degli ecosistemi acquatici. Essi si basano su diverse teorie ecologiche fondate sull'ipotesi "diversità/stabilità" [55]. Quindi, la questione di fondo è stabilire quanto la diversità sia in relazione con la stabilità o con quella che viene definita "integrità biologica". L'argomento è oggetto di dibattito [56] che intende stabilire se sia l'elevata stabilità ambientale che porta ad una elevata diversità [57, 58] o se sia la diversità, attraverso un maggior

**Tabella 3.** - Parametri utilizzati nell'*invertebrate community index* e relativi punteggi

Parametro	Valori	Punteggi
Numero totale di taxa	$n < 17$	0
	$17 \leq n < 24$	2
	$24 \leq n < 33$	4
	$n \geq 33$	6
Numero di taxa di efemerotteri	$n = 0$	0
	$n = 1$	2
	$n = 2$	4
	$n \geq 3$	6
Numero di taxa di ditteri	$0 \leq n \leq 1$	0
	$2 \leq n \leq 3$	2
	$4 \leq n \leq 7$	4
	$n \geq 8$	6
Abbondanza relativa di efemerotteri	$n < 1\%$	0
	$1\% \leq 3\%$	2
	$3\% \leq 4\%$	4
	$n \geq 4\%$	6
Abbondanza relativa di tricoteri	$n < 1\%$	0
	$1\% \leq 2\%$	2
	$2\% \leq 4\%$	4
	$n \geq 4\%$	6
Abbondanza relativa di tanitarsini	$n < 1\%$	0
	$1\% \leq 2\%$	2
	$2\% \leq 3\%$	4
	$n \geq 3\%$	6
Abbondanza di ditteri diversi dai tanitarsini	$< 85\%$	6
	$85\% \leq 88\%$	4
	$88\% \leq 91\%$	2
	$n \geq 91\%$	0
Abbondanza relativa di 62 taxa resistenti all'inquinamento fra chironomidi, taniponidi, tubificidi ed altri gruppi tassonomici	$n < 22\%$	6
	$22\% \leq 42\%$	4
	$42\% \leq 63\%$	2
	$n \geq 63\%$	0

numero di *links* nelle reti trofiche [59, 60] a favorire la stabilità o infine se sia la eterogeneità ambientale, come sostiene Murdoch [61], che, favorendo il mantenimento di rifugi per le prede, consente il mantenimento della diversità. Comunque sia, l'ecologia applicata fa uso di indici biologici basandosi sulla assunzione che le modifiche repentine dell'ambiente lasciano le specie senza difese, incidendo negativamente sulla diversità, mentre le alterazioni naturali con le quali le specie si sono evolute causano, a lungo termine, un incremento della diversità [62].

L'applicazione pratica degli indici a livello di comunità presenta numerose difficoltà. Sono indici che richiedono campionamenti quantitativi implicando, quindi, un



notevole impegno. Inoltre, impiegare gli indici di diversità per comparare ambienti diversi non è sempre corretto. Il loro uso può essere accettato per valutare effetti di specifiche alterazioni nello stesso ambiente, ad esempio a diverse distanze da uno scarico [14].

Gli indici biotici sono stati sviluppati empiricamente come mezzo per valutare la qualità ambientale, in particolare, nei fiumi e in riferimento all'inquinamento organico. Gli indici biotici possiedono una buona capacità di sintesi rispondendo, spesso, a diverse alterazioni ambientali; nella maggior parte dei casi sono stati sviluppati, tuttavia, tenendo conto della risposta degli organismi all'inquinamento organico, anche se è noto che alcune specie di tricoteri ed efemeroteri sono molto tolleranti ai metalli pesanti in tracce [63].

In effetti, sebbene i macroinvertebrati siano sempre stati considerati idonei come bioindicatori per il loro ciclo vitale relativamente lungo e per la loro sedentarietà, sono stati messi in evidenza diversi fattori che possono ostacolare la corretta interpretazione dei dati del biomonitoraggio negli ambienti lacustri. Schiusa, crescita, sfarfallamento e morte possono avvenire con ampia variabilità anche locale. Molti insetti hanno cicli acquatici solo per brevi periodi dell'anno, in particolare quelli che vivono nella zona litorale. Per quanto riguarda gli oligocheti, la loro identificazione resta spesso problematica e può essere fatta solo per gli individui sessualmente maturi [10]. I tassi di crescita, la durata di vita ed il periodo della maturazione sessuale di diversi tubificidi variano con la concentrazione di ossigeno disciolto, con la temperatura e con le densità delle popolazioni. Ciò significa che i periodi della maturazione sessuale sono sito-specifici [64].

L'utilizzo di questi indici può essere economico e vantaggioso, soprattutto se si scelgono taxa facilmente identificabili e dei quali siano note le relazioni con l'ambiente. I principali svantaggi sono rappresentati dal fatto che le specie indicatrici possono essere utilizzate solo in ambiti geografici definiti; gli indici, pertanto, devono essere testati in ogni regione zoogeografica. Inoltre, poiché non è possibile risalire secondo una relazione di causa-effetto ai fattori dell'alterazione, hanno una bassa capacità analitica.

Il sistema multimetrico, che ha ricevuto considerevole attenzione negli Stati Uniti, è nato per caratterizzare più pienamente l'impatto umano sugli organismi acquatici. Esso incorpora la tolleranza all'inquinamento, la diversità e le funzioni ecologiche, avendo come scopo principale quello di sommare la diversità d'informazione di tipo biologico in un singolo valore, considerato sinonimo di salute di una comunità [65]. Analoghe considerazioni possono essere espresse per gli indici integrati che, generalmente, utilizzano per la componente biotica un indice multimetrico cui sono aggiunti indicatori chimici ed ecotossicologici.

Ciascuno dei metodi descritti presenta vantaggi e svantaggi. Uno dei principali ostacoli sembra essere la difficoltà ad applicare gli indici su vasta scala, in ambienti eterogenei. L'altro problema può essere quello di garantire facilità di applicazione nonostante le difficoltà legate al riconoscimento di alcuni gruppi (larve di chironomidi, oligocheti).

Alla luce delle considerazioni esposte, per garantire semplicità e speditezza nell'applicazione di indici che dovrebbero essere utilizzati nel monitoraggio di routine, nel contesto delineato dalla Water Framework Directive, appare interessante il *lake biotic index (LBI)* [35] per i motivi di seguito esposti:

- la scelta del genere come unità tassonomica per il riconoscimento degli organismi, ad eccezione dei ditteri diversi dai chironomidi (famiglia), dei nematodi (phylum) e degli oligocheti che vengono distinti in tre gruppi (tubificidi con setole, tubificidi senza setole, altri oligocheti), permette di superare le difficoltà applicative legate al riconoscimento di taxa "difficili";
- la scelta di campionare solo substrati molli è utile ad evitare la grande variabilità della fauna litorale;
- la strategia di campionamento, con la definizione delle isobate su cui campionare e della numerosità dei siti in relazione alla lunghezza delle stesse isobate, è stata standardizzata;
- la scelta di un periodo di campionamento, compreso tra marzo e maggio (variabile in base alle condizioni locali), permette di minimizzare la variabilità nelle abbondanze dovute alle emergenze degli insetti.

Per questi motivi si ritiene utile una sperimentazione per la valutazione dell'applicabilità del metodo a regioni biogeografiche e a tipologie lacustri diverse da quelle nelle quali il metodo è stato sviluppato.

Lavoro presentato su invito.  
Accettato il 3 ottobre 2005.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Rosenberg DM, Resh VH (Ed.). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman and Hall; 1992.
2. Karr JR. Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries* 1981;6:21-7.
3. United States Environmental Protection Agency. *Biological criteria: Technical guidance for streams and small rivers*. Washington: USEPA, Office of Water; 2000. (EPA 822-B-96-001).
4. United States Environmental Protection Agency. *Lake and reservoir bioassessment and biocriteria.technical guidance document*. Washington: USEPA; 1998. (EPA 841B).
5. Cairns J Jr, Pratt JR. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: Rosenberg DM, Resh VH. (Ed.). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman and Hall; 1993. p. 10-27.

6. Kolkwitz R, Marsson M. Ökologie der tierischen Saprobien. Beiträge zur Lehre von des biologischen Gewässerbeurteilung. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 1909;2:126-52.
7. Siligardi M, Bernabei S, Cappelletti C, Chierici E, Ciutti F *et al.* *IFF Indice di funzionalità fluviale*. Manuale ANPA; 2000.
8. Reice SR, Wohlenberg M. Monitoring freshwater benthic macroinvertebrates and benthic processes: measures for assessment of ecosystem health. In: Rosenberg DM, Resh VH (Ed.). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. New York: Chapman and Hall; 1993. p. 287-305.
9. Wilhm JL, Dorris TC. Biological parameters for water quality criteria. *BioScience* 1968;18:447-81.
10. Barton DR. Some problems affecting the assessment of Great Lakes water quality using benthic invertebrates. *J Gt Lakes Res* 1989;15:611-22.
11. France RL. Theoretical framework for developing and operationalizing an index of zoobenthos community integrity: applications to biomonitoring with zoobenthos community in the great lakes. In: C J Edwards and H A Refier (Ed.). An ecosystem approach to the integrity of the Great Lakes in turbulent times. *Gr Lakes Fish Comm Spec Publ* 1990; p.169-93.
12. McAuliffe JR. Competition for space, disturbance and the structure of benthic stream community. *Ecology* 1984;65:894-908.
13. Okland J, Okland KA. The effects of acidic deposition on benthic animals in lakes and streams. *Experientia* 1986;42:471-86.
14. Ghetti P.F. *Indice biotico esteso (IBE) - I macroinvertebrati nel controllo della qualità degli ambienti di acque correnti*. Provincia Autonoma di Trento; 1997.
15. Thienemann A. *DieBinnengewässer Mitteleuropas*. Stuttgart; 1925.
16. Saether O. Chironomid communities as water quality indicators. *Holarctic Ecology* 1975;2:65-74.
17. Organization for Economic Co-operation and Development. *Environmental Indicators*. Paris: OEDC; 1995.
18. Chandler JR. A biological approach to water quality management. *Pollut Control* 1970;69:415-21.
19. Woodiwiss FS. The biological system of stream classification used by the Trent River Board. *Chemistry and Industry* 1964;14: 443-47.
20. Woodiwiss FS. *Comparative study of biological-ecological water quality assessment method. Second Practical Demonstration*. Summary Report. Commission of the European Communities; 1978.
21. Hellawell JM. *Biological surveillance of rivers. A biological monitoring handbook*. Stevenage: Water Research Centre; 1978. p. 332
22. Alba-Tercedor J, Sanchez-Ortega A. Un metodo rapido y simple para evaluar la calidad biologica de la aguas corrientes basato en el de Hellawell (1978). *Limnetica* 1988;4:51-6.
23. Beack TW, De Courval C, Coock NE. Pollution monitoring and prevention by use of Bivariate Control Charts. *Sewage Ind Wastes* 1959;31:1383-94.
24. Hilsenhoff WL. Using a biotic index to evaluate water quality in streams. *Technical Bulletin of Wisconsin Department of Natural Resources* 1982;132:1-22.
25. Hilsenhoff WL. Rapid field assessment of organic pollution with a family-level biotic index. *J N Am. Benthol Soc* 1988;7(1):65-8.
26. Somers KM, Reid RA, David SM. Rapid biological assessments: how many animals are enough? *J N Am Benthol Soc* 1998 17(3) 348-58.
27. Wiederholm T. Use of benthos in lake monitoring. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 1980;52:537-47.
28. Kansanen HP, Paasivirta I, Vayrinen T. Ordination analysis and bioindices based on zoobenthos communities used to assess pollution of a lake in Southern Finland. *Hydrobiologia* 1990;202:153-70.
29. Brinkhurst RO. Guide to the freshwater microdrile Oligochaetes of North America. *Canada Special Publications Fisheries Aquatic Science* 1986;84:1-259.
30. Ahl T, Wiederholm T. *Svenska vattenkvalitetskriterien. Eutrofierende ammen*. SNV PM 918; 1977.
31. Paasivirta L. Macrozoobenthos of lake Pyhäjärvi (Karelia). *Finnish Fish Res* 1987; 8:79-94.
32. Bazzanti M, Ferrara O, Mastrantuono L, Seminara M. Water quality monitoring of Italian lakes using zooplankton and zoobenthos: the case of lake Vico, central Italy. In: Argano R, Ciroto C, Grassi Milano E, Mastrolia L (Ed.). *Contributions to animal biology*. Halocynthia Association; 1994. p. 79-85.
33. Bazzanti M, Seminara M. Eutrophication in a deep, meromitic lake (Lake Albano, Central Italy): spatial -temporal patterns of profundal benthic community as a tool for assessing environmental stress in the hypolimnion. *Limnologica* 1995;25:21-31.
34. Margaritora FG, Bazzanti M, Ferrara O, Mastrantuono L, Seminara M, Vagaggini D. Classification of the ecological status of volcanic lakes in Central Italy. *J Limnol* 2003;62(Suppl.1):49-59.
35. Verneaux V, Verneaux J, Schmitt A, Lovy C, Lambert JC The Lake Biotic Index (LBI): an applied method for assessing the biological quality of lakes using macrobenthos; the Lake Châlain (French Jura) as an example. *Ann Limnol Int J Lim* 2004;40(1):1-9.
36. Odum EP. *Fundamentals of ecology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1971.
37. Shannon CE. A mathematical theory of communications. *Bell System Technical Journal* 1948; 27:379-423,623-56.
38. Simpson EH. Measurement of diversity. *Nature* 1949;163(4148):688.
39. Williams CB. *Patterns in the Balance of Nature, and related problems in quantitative ecology*. New York: Academic Press; 1964. p.14-31,147-92.
40. Gaertner MJ. *Benthic macroinvertebrate diversity and biotic indices for monitoring of Lakes Dollar, Russell, Stillwater, Papermill and Kinsac within the Halifax Regional Municipality (HRM), Nova Scotia, Canada*. Project E-2, Soil & Water Conservation Society of Metro Halifax. xiv, Sections 1-6, Appendices A-I; 1999.

41. Hynes KE. *Benthic macroinvertebrate diversity and biotic indices for monitoring of 5 urban and urbanizing lakes within the Halifax Regional Municipality (HRM), Nova Scotia, xiv., Canada.* Soil & Water Conservation Society of Metro Halifax; 1998. p. 114.
42. Kirsch PE. *Benthic macroinvertebrate diversity and biotic indices analysis of Lakes Wrights, Springfield, McGrath, Kearney and Morris, and an upgraded analysis of Lakes Dollar, Russell, Stillwater, Papermill and Kinsac within the Halifax Regional Municipality (HRM), Nova Scotia, Canada.* Project E-3, xxvi, 50p, Appendices A-G. Soil & Water Conservation Society of Metro Halifax; 1999.
43. Mandaville SM. *Bioassessment of freshwaters using benthic macroinvertebrates - A primer.* First Edition. project E-1, Synopses 1,2,3,13 and 14. Soil and Water Conservation Society of Metro Halifax; 1999.
44. Kothé P. Der 'Artenfehlbetrag' ein einfaches Gütekriterium und seine Anwendung bei biologischen Vorfluteruntersuchungen. *Dt Gewässerkundl Mitt* 1962;6:60-5.
45. Hellawell JM. Change in natural and managed ecosystems: detection measurements and assessment. *Proc R Soc London* 1977;B197:31-57.
46. Plafkin JL., Barbour MT, Porter KD, Gross SK, Hughes RM. *Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: Benthic macroinvertebrates and fish.* EPA 440/4-89/001. Washington US: Environmental Protection Agency; 1989.
47. United States Environmental Protection Agency. *Revision to rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: Periphyton, benthic macroinvertebrates, and fish.* (EPA 841-D-97-002). Washington: USEPA, Office of Water; 1997.
48. Barbour MT, Plafkin JL, Bradley BP, Graves CG, Wiseman RW. Evaluation of EPA's rapid bioassessment benthic metrics: Metric redundancy and variability among reference stream sites. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1992;11:437-49.
49. Karr JR. Biological integrity: a long-neglected aspect of water resource management. *Ecological Application* 1991;1:66-84.
50. Tennessee Valley Authority. *Aquatic ecological health determinations for TVA reservoirs: An informal summary of vital signs monitoring results and ecological health determination methods.* Water Management. Chattanooga TVA: Water Resources Division; 1994.
51. Blocksom KA, Kurtenbach JP, Klemm DJ, Fulk FA, Cormier SM. Development and evaluation of the Lake Macroinvertebrate Integrity Index (LMII) for New Jersey lakes and reservoirs. *Environ Moni Assess* 2002;77(3): 311-33.
52. Ohio Environmental Protection Agency. *The use of biocriteria in the Ohio EPA surface water monitoring and assessment program.* Columbus Ohio: EPA, Ecological Assessment Section, Division of Water Quality Planning and Assessments; 1990.
53. Florida Department of Environmental Protection. *Lake bioassessments for the determination of non-point source impairment in Florida.* Tallahassee FDEP: Biology Section, Division of Administrative and Technical Services; 1994.
54. Gerritsen J, White JS. *Development of a biological index for Florida Lakes.* Tallahassee Florida: Department of Environmental Protection; 1997.
55. Goodman D. The theory of diversity-stability relationships in ecology. *Quarterly Review of Biology* 1975;50:237-66.
56. Washington, H.G. Diversity, biotic and similarity indices. A review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Res* 1984;6:653-94.
57. Pielou E.C., *Ecological diversity.* New York: Wiley; 1975. p. 165.
58. May RM. *Stability and complexity in model ecosystems.* Princeton: Princeton University Press; 1973. p. 235.
59. McArthur RH. Fluctuations in animal populations and a measure of community stability. *Ecology* 1955;36:533-6.
60. Margalef R. Information Theory in Ecology. *Gen System* 1958;3: 36-71.
61. Murdoch WW. Diversity, complexity and past control. *J Appl Ecol* 1975;12:795-807.
62. Connell JH. Tropical rainforest and coral reefs as open non-equilibrium systems. In: Anderson RM *et al.* (Ed.). *Population dynamics; 20th symposium of the British Ecological Society.* Oxford: Blackwell Scientific; 1979. p. 141-63.
63. Norris RH, Lake PS, Swain R. Ecological effects of mine effluents on the South Esk River, North-eastern Tasmania. III. Benthic macroinvertebrates. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 1982;33:789-809.
64. Reynoldson TB. The role of environmental factors in the ecology of tubificids oligochaetes - an experimental study. *Holarctic Eco* 1987;10: 241-48.
65. Steedman, RJ. Modification and assessment of an index of biotic integrity to quantify stream quality in southern Ontario Ca. *Fis Aquatic Science* 1987; 45: 492-501.