



UNIVERSITÀ DI PISA

Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali

Corso di Laurea Specialistica in Biologia Marina

TESI DI LAUREA SPECIALISTICA

**VALUTAZIONE DELLO STATO ECOLOGICO DI ALCUNE
AREE COSTIERE DELLA TOSCANA:
ANALISI COMPARATIVA DI ALCUNI INDICI BIOTICI**

Candidato: Marcello Martini

Relatori:

Prof. Claudio Lardicci

Dott.ssa Mariella Tataranni

Anno Accademico 2007-2008

INDICE

1. INTRODUZIONE	pag.3
2. MATERIALI E METODI	pag.6
2.1 Disegno sperimentale	pag.6
2.2 Indici biotici	pag.9
2.3 Metodi di analisi dei dati	pag.14
2.3.1 Tecniche univariate	pag.14
2.3.2 Tecniche multivariate	pag.14
3. RISULTATI	pag.16
3.1 Analisi della struttura e composizione delle comunità bentoniche	pag.16
3.2 Analisi dei valori degli indici biotici nell'area di studio	pag.20
3.3 Confronto degli indici biotici	pag.24
4. DISCUSSIONI	pag.33
5. BIBLIOGRAFIA	pag.37

1. INTRODUZIONE

Durante l'ultimo secolo, l'influenza delle attività antropiche sugli ambienti naturali è notevolmente aumentata. I cambiamenti indotti da tali attività hanno stimolato una maggior attenzione nel valutarne gli effetti sugli ecosistemi, al fine di proporre ed attuare alcune misure efficaci per il mantenimento e il miglioramento delle condizioni ambientali.

In particolare nell'ambiente marino, la fascia costiera è stata sottoposta ad un aumento di fenomeni, come ad esempio l'eutrofizzazione, la carenza di ossigeno, la presenza di contaminanti e il sovrasfruttamento delle risorse naturali ad opera della pesca professionale, che hanno determinato in molte aree un progressivo peggioramento della qualità ecologica ambientale.

La valutazione dei cambiamenti ecologici in ambiente marino può essere efficacemente effettuata attraverso lo studio degli habitat sedimentari e dei macroinvertebrati bentonici che costituiscono una componente fondamentale per il funzionamento di molti processi ecologici: costituiscono un'importante fonte di cibo per le categorie trofiche superiori, svolgono un ruolo importante nel ricircolo dei nutrienti e nell'elaborazione delle sostanze immesse nell'ambiente (Dauer, 1993; Snelgrove, 1998). Inoltre, le comunità bentoniche sono costituite da un'ampia varietà di specie caratterizzate da diversi gradi di tolleranza a fattori di disturbo di origine naturale o antropica, capaci di rispondere in modo relativamente rapido agli eventuali cambiamenti delle condizioni ambientali locali, essendo dotati di scarsa mobilità (Bilyard, 1987; Warwick, 1993), e sono in grado di fornire informazioni riguardo a perturbazioni recenti (Salen-Picard et al., 1997).

I primi studi sulle comunità bentoniche vertevano soprattutto sulla valutazione della distribuzione spaziale di alcuni organismi – chiave (ad esempio *Capitella capitata*) al fine di discriminare aree impattate dalle non impattate (*i.a.* Reish; 1955). Ricerche successive hanno dimostrato la validità dell'utilizzo, oltre che della distribuzione di specie – chiave, di parametri strutturali delle comunità macrobentoniche quali diversità specifica, abbondanza specifica, ricchezza specifica. Furono applicati indici univariati come l'indice di Sanders (ES) (1968) e, fra i più usati, l'indice di diversità di Shannon-Wiener (H) (1969). Solitamente questi indici prendono in considerazione unicamente la diversità e l'equitabilità. I valori assunti da tali indici sono stati poi utilizzati per individuare diversi gradi di disturbo, basandosi sul principio che un'area soggetta ad alti livelli di disturbo presenta in genere un numero basso di specie con un elevato numero di individui;

viceversa un'area poco disturbata mostra invece un numero elevato di specie con un'abbondanza relativa molto bassa.

Nel 1978 Pearson & Rosenberg proposero un modello qualitativo, sulla base di dati empirici, di quella che era la risposta delle comunità bentoniche a un gradiente di aumento di sostanza organica. Inizialmente l'incremento di sostanza organica provoca un graduale aumento del numero di specie e del numero di individui. Successivamente si osserva una diminuzione delle specie e del numero di individui, e con un aumento ulteriore del disturbo il loro graduale declino. Contemporaneamente le specie opportuniste, capaci di resistere all'aumento di sostanza organica, cominceranno a colonizzare l'ambiente portando nuovamente ad un aumento del numero di individui. Numerosi studi hanno confermato l'applicabilità del modello di Pearson e Rosenberg in diverse aree geografiche (*i.a.* Clarke, 1993; Heip, 1995; Mistri et al., 2002; Ponti et al., 2002; Kennedy 2006) e con differenti tipologie di disturbo riconducibili, direttamente o indirettamente, ad un arricchimento di sostanza organica (*i.a.* Boesch e Rosenberg, 1981; Swartz et al., 1985; Rhoads e Germano, 1986). Basandosi sul modello proposto da Pearson e Rosenberg, vari autori hanno sviluppato indici multivariati con lo scopo di desumere lo stato ecologico dell'ambiente identificando le specie in esso presenti e valutandone la loro abbondanza (Word, 1978; Grall et Glémarec, 1997; Massart, 1997; Borja et al., 2000; Orfanidis et al., 2001; Simboura et Zenetos, 2002; Rosenberg et al., 2002; Grall et Glémarec, 2003).

Attualmente la composizione e l'abbondanza degli invertebrati bentonici sono state inserite dalla direttiva europea sulle acque (Water Framework Directive, WFD, 2000/60/EC) come uno degli elementi biologici da utilizzare, in associazione agli elementi chimico-fisici per definire lo stato di qualità ecologica (EcoQS), degli ambienti acquatici. Questa direttiva obbliga gli stati membri a classificare tutte le tipologie di acque, interne e marine, in cinque categorie (classi ecologiche) comprese fra "alto" stato ecologico (condizioni prive di disturbo) e "pessimo" stato ecologico (condizioni di elevato disturbo).

Negli ultimi anni sono stati proposti ed esaminati numerosi indici bentonici come strumento per valutare la qualità ecologica nell'ambiente marino (Occhipinti-Ambrogi e Forni, 2004; Salas et al., 2006). La maggior parte di tali indici si basano su specie, o altre unità tassonomiche, indicatrici; tra questi vi sono gli indici AMBI (Borja et al., 2000), BENTIX (Simboura e Zenetos, 2002), BQI (Rosenberg et al., 2004) e BOPA (Dauvin e Ruellet, 2007). Tali indici sono basati su differenze nell'abbondanza relativa di gruppi tassonomici con diversi gradi di sensibilità o tolleranza, in relazione a differenti gradi di disturbo. In particolare AMBI usato in numerose regioni d'Europa oltre che Nord America,

Sud America ed Asia (Muniz et al., 2005; Muxika et al., 2005; Cheung et al., 2008; Borja et al., 2008), considera i seguenti cinque gruppi: specie sensibili, indifferenti, tolleranti, opportunisti di primo e secondo ordine (*sensu* Grall e Glémarec, 1997). La versione più recente dell'indice BENTIX, ampiamente impiegata nel mar Mediterraneo Orientale (Albayrak et al., 2006; Simboura e Reizopoulou, 2007, 2008), considera solo due gruppi, differenziando le specie in sensibili e le tolleranti. L'indice BOPA, invece, considera unicamente due gruppi tassonomici, in particolare esamina il rapporto tra policheti opportunisti e crostacei anfipodi che sono considerati sensibili all'inquinamento (Dauvin & Ruellet, 2006). Alcuni autori hanno comparato fra loro le classi ecologiche assegnate dai diversi indici alle medesime stazioni (*i.a.* Reiss e Kröncke, 2005; Albayrak et al., 2006; Labruno et al., 2006; Dauvin et al., 2007; Pranovi et al., 2007; Zettler et al., 2007), ottenendo in molti casi risultati discordanti a seconda dell'indice usato. Si è resa necessaria quindi la possibilità di intercalibrare i risultati ottenuti con metodi differenti al fine di avere una simile valutazione ecologica di una medesima area (Borja et al., 2006; Muxika et al., 2007; Fleischer et al., 2007).

Lo scopo del presente lavoro è stato quindi quello di indagare il grado di correlazione fra cinque indici biotici differenti (indice di diversità di SHANNON, AMBI, BENTIX, BOPA, m-AMBI), nella valutazione dello stato ecologico di due aree costiere della costa toscana.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Disegno sperimentale

I campionamenti sono stati realizzati nel Settembre 2005, seguendo un disegno gerarchizzato (Figura 1). Le aree oggetto di studio sono state i settori Donoratico, compreso tra Marina di Castagneto e San Vincenzo, e Grosseto, compreso tra Castiglione della Pescaia e Marina di Grosseto. Entrambi i settori rappresentano tratti di litorale ampi circa 10 Km. All'interno di ciascun settore, sono state casualmente individuate 3 località (tratti di costa ampi 1 Km) in cui sono prelevate 12 repliche, campionando ad una profondità compresa tra 5-10 m.

Le località esaminate e i tratti di costa corrispondenti, sono elencati in tabella 1 e rappresentati graficamente nelle figure 2 e 3.

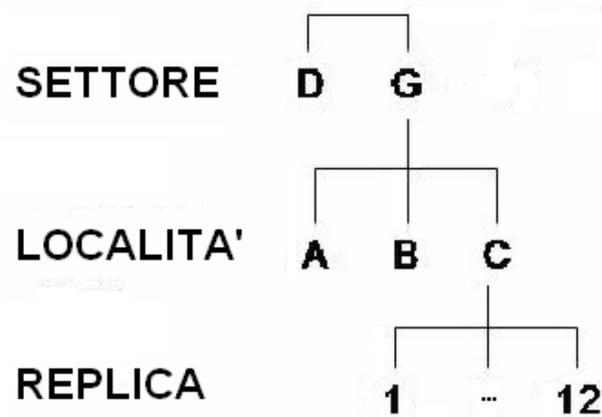


Figura 1 - Disegno di campionamento

Località	Inizio		Fine		Area geografica corrispondente
	latitudine (x° N)	longitudine (y° E)	latitudine (x° N)	longitudine (y° E)	
DA	43.187	10.527	43.183	10.527	Marina di Castagneto – nord
DB	43.150	10.531	43.146	10.531	Marina di Castagneto – sud
DC	43.127	10.532	43.120	10.532	San Vincenzo – nord
GA	42.763	10.853	42.759	10.863	Castiglione della Pescaia
GB	42.751	10.897	42.748	10.905	Le Marze
GC	42.742	10.922	42.736	10.933	Marina di Grosseto

Tabella 1 – Tratti di costa corrispondenti alle sigle identificative, con relative coordinate di inizio e di fine

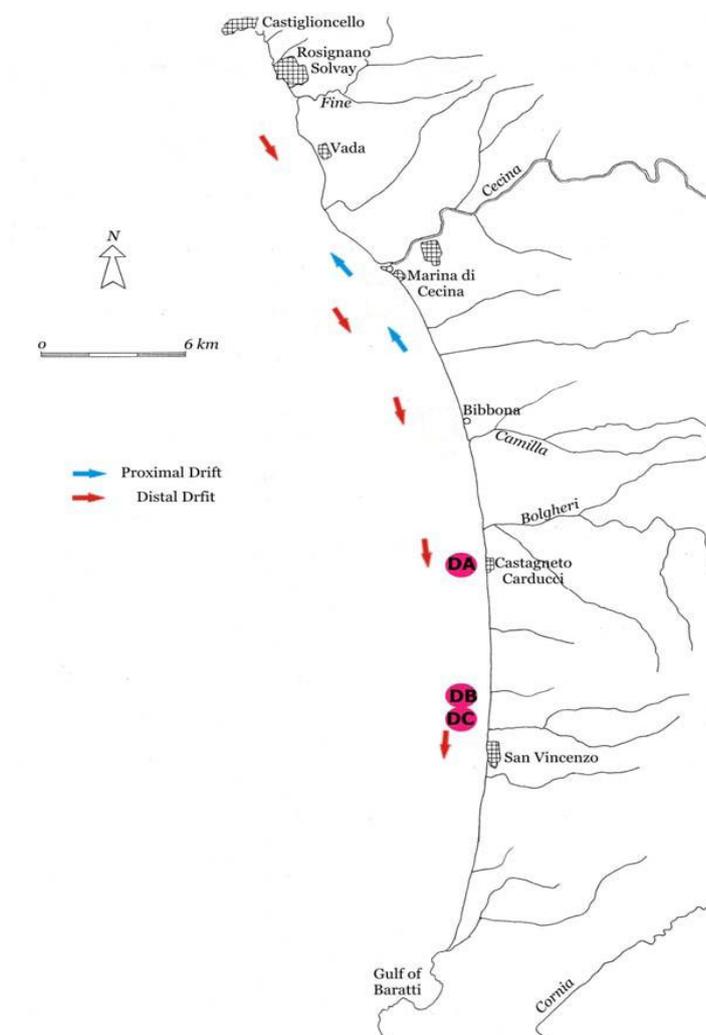


Figure 2 - Il settore di Donoratico (D) con le tre località.

In figura è anche mostrato schematicamente l'andamento delle correnti sottocosta.

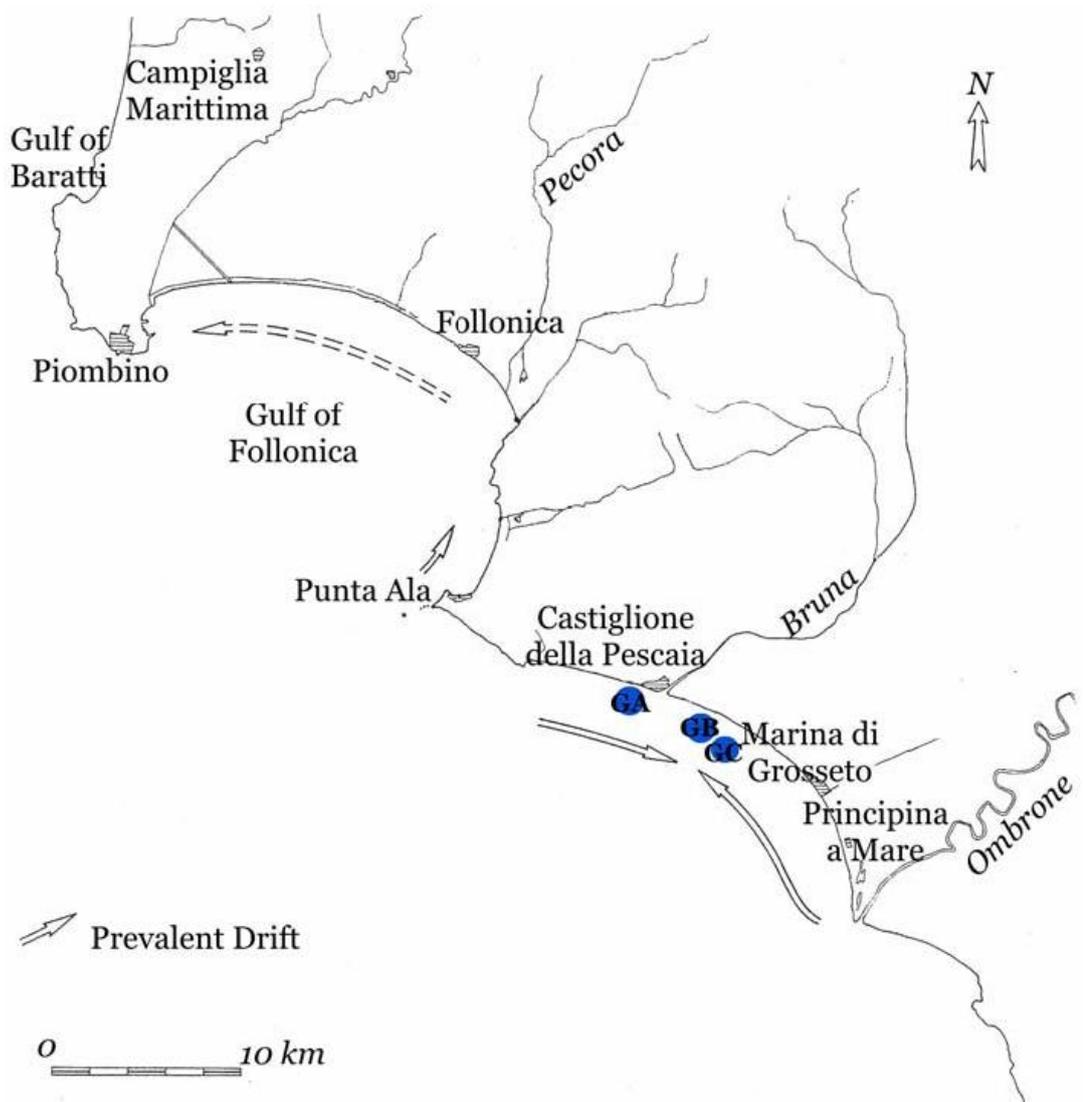


Figure 3 – Il settore di Grosseto, tra Castiglione della Pescaia e Marina di Grosseto con le tre località.
 In figura è anche mostrato schematicamente l'andamento delle correnti sottocosta.

Il campionamento è stato eseguito prelevando del sedimento mediante benna Van Veen con superficie di presa di $0,1 \text{ m}^2$. Il materiale raccolto è stato quindi setacciato a $0,5 \text{ mm}$, in modo da trattenere la macrofauna presente, e quindi fissato con formalina tamponata al 4% in acqua di mare. In laboratorio i campioni sono stati smistati e classificati fino al livello di specie (quando possibile).

2.2 Indici biotici

- **Indice di Shannon**

Uno degli indici biotici più comunemente utilizzati in ecologia per valutare lo stato di qualità ambientale è l'indice di Shannon, dato dall'equazione:

$$H' = -\sum n_i/N \log_2 n_i/N$$

dove: n_i = numero degli individui della specie i -esima ; N = numero totale degli individui. Questo indice contiene informazioni sia sulla ricchezza di specie sia su come gli individui sono ripartiti tra esse. Esso esprime in termini quantitativi il grado di diversità della comunità biologica e della struttura biotica. Può assumere valori compresi tra 0 e $+\infty$; ha valore 0 quando tutti gli individui appartengono alla stessa specie, mentre a parità di numero di specie ha valore massimo quando tutte le specie hanno lo stesso numero di individui.

Considerando la scala proposta da Simboura & Zenetos (2001), si utilizza il valore assunto dall'indice di Shannon per definire 5 categorie che determinano lo stato di salute ambientale (Tabella 2).

Valore di H'	Classificazione dell'area
$H' > 4,6$	Alto
$4,0 < H' \leq 4,6$	Buono
$3,0 < H' \leq 4,0$	Moderato
$1,5 < H' \leq 3,0$	Povero
$H' \leq 1,5$	Pessimo

Tabella 2 - Classificazione dell'area sulla base dei valori assunti dall'indice di diversità di Shannon.

- **AMBI (ATZI's Marine Biotic Index)**

L'AMBI (Borja et al., 2000), sviluppato nell'ambito di studi condotti lungo la costa atlantica, è stato proposto come indice biotico per valutare lo stato ecologico dei fondi molli di acque costiere e salmastre.

Esso utilizza una lista di riferimento per la suddivisione delle specie in 5 gruppi ecologici in relazione a diversi gradi di tolleranza ad un progressivo incremento di stress dovuto

principalmente ad un aumento di sostanza organica, come descritto da Grall & Glemarec (1997).

I 5 gruppi ecologici sono:

- ❖ Gruppo I: specie molto sensibili ad arricchimento organico, presenti in aree non impattate o leggermente impattate.
- ❖ Gruppo II: specie non influenzate dall'arricchimento organico, sempre presenti in basse densità, con variazioni non significative nel numero di individui.
- ❖ Gruppo III: specie che tollerano l'eccesso di sostanza organica; possono essere presenti anche in condizioni normali, di ambiente non stressato, ma i loro popolamenti sono stimolati dall'arricchimento organico.
- ❖ Gruppo IV: specie opportuniste di secondo ordine.
- ❖ Gruppo V: specie opportunistiche di primo ordine; detritivori, che proliferano nei sedimenti anossici.

L'indice è stato calcolato mediante un apposito software, AMBI© ver.4.0, che si basa su una lista di specie e relativo gruppo ecologico di appartenenza continuamente aggiornata. In alcuni casi la specie non è presente nella lista di riferimento e ciò rende impossibile un'assegnazione precisa; tuttavia, se non sono presenti valori discordanti, le specie non riconosciute sono considerate come appartenenti alla stessa categoria ecologica delle congeneriche. In ogni caso la percentuale di taxa non assegnati è sempre risultata inferiore al 20%, come indicato da Borja et al. (2005).

L'AMBI è calcolato con la seguente formula

$$AMBI = [(0 \times \%GI) + (1.5 \times \%GII) + (3 \times \%GIII) + (4.5 \times \%GIV) + (6 \times \%GV)] / 100$$

in base ai valori assunti, compresi tra 0 e 6, è possibile classificare le aree di studio seguendo lo schema proposto dagli autori (Borja et al., 2000; Muxika et al., 2005) (Tabella 3).

Valore di AMBI	Classificazione dell'area
0.0<AMBI≤1.2	Alto
1.2<AMBI≤3.3	Buono
3.3<AMBI≤4.3	Moderato
4.3<AMBI≤5.5	Povero
5.5<AMBI≤6.0	Pessimo

Tabella 3 - Classificazione dell'area sulla base dei valori assunti dall'indice AMBI, l'indice può assumere anche valore 7 in caso di substrato azoico.

- **BENTIX**

L'indice Bentix (Simboura & Zenetos, 2002) è un indice biotico che si propone di valutare lo stato ecologico delle aree costiere attraverso lo studio dei macroinvertebrati bentonici. Basandosi sul concetto delle specie indicatrici, utilizza una lista di riferimento per calcolare le percentuali di abbondanza degli organismi in tre gruppi ecologici, ognuno dei quali rappresenta un raggruppamento di taxa con diversa sensibilità ad un gradiente di stress generale:

- ❖ GI: specie sensibili ed indifferenti
- ❖ GII: specie tolleranti e organismi opportunisti di secondo ordine
- ❖ GIII: organismi opportunisti di primo ordine

L'indice può essere calcolato secondo la formula:

$$\text{BENTIX} = [6 \times \% \text{GI} + 2 \times (\% \text{GII} + \% \text{GIII})] / 100$$

Successivamente gli autori hanno definito solamente due suddivisioni; in quanto, nella formula, il gruppo due e il gruppo tre si sommano.

L'indice fornisce una serie di valori continui da 2 a 6, mentre i valori compresi tra 0 (che corrisponde al sedimento azoico) e 2 non vengono riportati nella scala in quanto se non esistono specie tolleranti, GI è pari a 0, e l'indice assume valore 2 (Tabella 4).

BENTIX	Classificazione dell'area
$4.5 \leq \text{BENTIX} \leq 6.0$	Alto
$3.5 \leq \text{BENTIX} < 4.5$	Buono
$2.5 \leq \text{BENTIX} < 3.5$	Moderato
$2.0 \leq \text{BENTIX} < 2.5$	Povero
$\text{BENTIX} < 2.0$	Pessimo

Tabella 4 -Classificazione dell'area sulla base dei valori assunti dall'indice BENTIX.

- **BOPA**

L'indice BOPA (indice bentonico di policheti opportunisti e anfipodi), utilizzato per valutare la qualità ecologica delle acque costiere ed estuarili europee, esamina il rapporto tra policheti opportunisti e crostacei anfipodi che, ad eccezione del genere *Jassa*, sono considerati sensibili all'inquinamento (Dauvin & Ruellet, 2006).

Tale indice è stato calcolato su ogni campione utilizzando la seguente formula:

$$\text{BOPA} = \log \left(\frac{fp}{(fa+1)+1} \right)$$

dove fp è la frequenza dei policheti opportunisti (data dal rapporto tra il numero di policheti opportunisti e il numero totale di individui nel campione) e fa è la frequenza dei crostacei anfipodi.

Per poter valutare i risultati ottenuti, Dauvin & Ruellet (2006) hanno identificato i limiti di BOPA basandosi su quelli ottenuti utilizzando l'indice AMBI, definendo quindi 5 classi di qualità a cui assegnare le comunità costiere analizzate.

Valore di BOPA	Classificazione dell'area
$0.0 \leq \text{BOPA} \leq 0.04$	Alto
$0.04 < \text{BOPA} \leq 0.14$	Buono
$0.14 < \text{BOPA} \leq 0.19$	Moderato
$0.19 < \text{BOPA} \leq 0.27$	Povero
$0.27 < \text{BOPA} \leq 0.30$	Pessimo

Tabella 5 Valori soglia dell'indice BOPA per la classificazione dell'area

- **m-AMBI (Multivariate AMBI)**

Il m-Ambi è un indice cumulativo sviluppato di recente da Muxika et al. (2007), in cui vengono combinati l'indice di diversità di Shannon, l'indice AMBI e la ricchezza specifica, con lo scopo di integrare in un unico indice più variabili descrittive delle comunità bentoniche in esame. I valori assunti dall'indice vengono poi partizionati nelle diverse classi di stato ecologico (Tabella 6).

Valore m-AMBI	Classificazione dell'area
$0.82 < \text{m-AMBI}$	Alto
$0.62 \leq \text{m-AMBI} \leq 0.82$	Buono
$0.41 \leq \text{m-AMBI} \leq 0.61$	Moderato
$0.20 \leq \text{m-AMBI} \leq 0.40$	Povero
$0,00 \leq \text{m-AMBI} < 0.20$	Pessimo

Tabella 6 - Valori soglia dell'indice m-AMBI per la classificazione dell'area di studio

2.3 Metodi di analisi dei dati

2.3.1 Tecniche univariate

- **Modello di regressione lineare**

Il modello di regressione lineare è stato applicato sui risultati ottenuti dagli indici esaminati, con lo scopo di indagare il rapporto esistente fra coppie di indici.

2.3.2 Tecniche multivariate

- **Indice di similarità di Bray-Curtis**

Mediante l'indice di similarità di Bray-Curtis (1957), a partire dalle matrici di abbondanza delle specie, è stato calcolato il valore di similarità associato ad ogni coppia di campioni prelevati. L'indice applicato è calcolato secondo la formula seguente:

$$S_{jk} = 100[1 - \sum |y_{ij} - y_{jk}|] / [\sum (y_{ij} + y_{ik})]$$

dove y_{ij} rappresenta l'abbondanza della i -esima specie nel j -esimo campione.

L'indice di Bray-Curtis mette a confronto a due a due le coppie di campioni basandosi sull'abbondanza di ciascuna specie che li compone; come risultato dà un valore compreso tra 0 e 100 che esprime l'effettiva similarità tra i due campioni esaminati. L'indice assumerà valore 0 (valore minimo) se i due campioni non hanno alcuna specie in comune, e valore 100 (valore massimo) se sono identici sia nel numero di specie che nel numero d'individui.

Applicando l'indice sulla matrice d'abbondanza specifica, si ottiene una matrice di similarità triangolare, che contiene $n(n-1)/2$ valori, dove n è il numero di campioni che corrisponde al numero delle righe e delle colonne.

Tuttavia, prima dell'esecuzione delle analisi, i dati sono stati pre-trattati trasformandoli con radice quadrata per ridurre l'influenza delle specie con un numero maggiore d'individui.

- **nmMDS (non-metric multidimensional scaling)**

L'nMDS (Kruskal & Wish, 1978), analisi di ordinamento non parametrico, crea una rappresentazione grafica dei campioni sottoposti su cui è stato precedentemente applicato l'indice di Bray-Curtis, per cui nel grafico la distanza tra i punti (cioè tra i campioni) corrisponde al valore di similarità tra di essi (campioni più simili saranno rappresentati da punti più vicini). La corrispondenza tra la rappresentazione grafica e gli effettivi valori di

similarità è data dal coefficiente di stress il cui valore soglia è posto uguale a 0,2, al di sopra di questo il grafico non è più considerato attendibile ed è quindi necessario scegliere una rappresentazione grafica con un numero maggiore di dimensioni.

L'algoritmo su cui opera l'nMDS segue un processo iterativo: dopo aver convertito la matrice triangolare, che contiene i valori di similarità calcolati per ogni coppia di campioni, in matrice di ranghi, colloca i punti corrispondenti ai campioni nello spazio in modo casuale, ripete il ciclo per un numero definito di volte; quindi, fra tutte le rappresentazioni create, sceglie quella con il coefficiente di stress più basso, che quindi rispetta meglio i valori dati dalla matrice di similarità.

Nello studio è stata utilizzata questa analisi per evidenziare graficamente il grado di similarità fra campioni, Località e Settori basandosi sui dati di similarità fra le diverse repliche.

- **PERMANOVA**

La permanova è un'analisi semiparametrica della varianza (PERMANOVA, Anderson, 2001).

Questa tecnica permette, attraverso permutazioni delle repliche, di assegnare all'ipotesi nulla H_0 (non vi sono differenze fra i gruppi di repliche) una probabilità "P", la cui bassa significatività ($<0,05$) porta al rigetto di H_0 .

L'algoritmo calcola sia il P(perm) che il P(MC) (P di Montecarlo). Qualora il numero delle possibili permutazioni sia elevato viene considerato il P(perm), nel caso, invece, in cui il numero delle permutazioni sia esiguo (≤ 10) viene utilizzato il P di Montecarlo.

La Permanova è stata utilizzata per indagare l'esistenza di differenze nella struttura e composizione delle comunità bentoniche presenti nei due settori indagati e nelle località all'interno di ciascun settore.

3. RISULTATI

3.1 ANALISI DELLA STRUTTURA E COMPOSIZIONE DELLE COMUNITÀ BENTONICHE

Nell'intero settore Donoratico sono stati raccolti 13663 individui appartenenti a 155 specie. Considerando il numero di individui, Molluschi e Crostacei hanno rappresentato, ambedue, il 36% dell'abbondanza totale, seguiti da Policheti (28%) (Figura 4); mentre, considerando il numero di specie, il gruppo maggiormente rappresentativo è risultato quello dei Policheti (61), seguito da Molluschi (49) e da Crostacei (45).

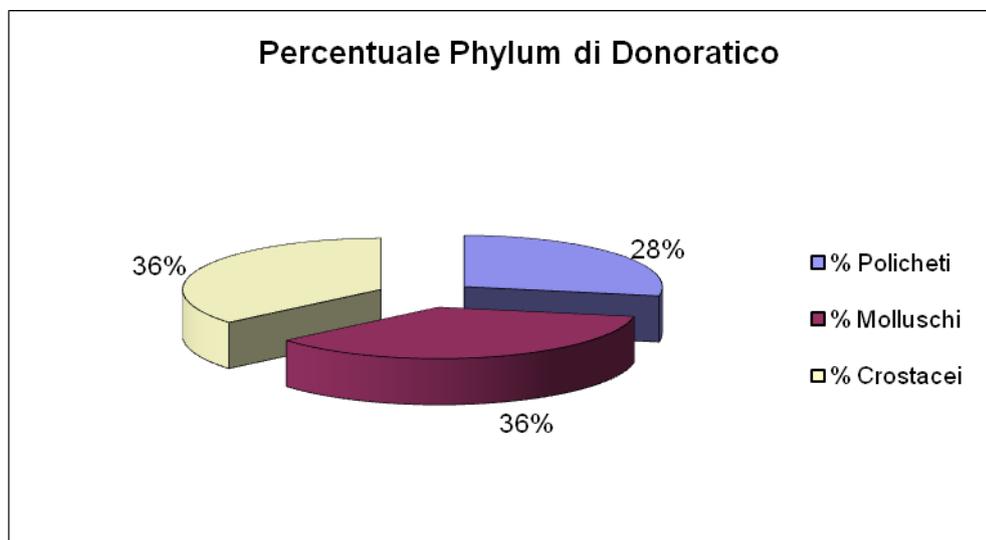


Figura 4 – Percentuale di individui raggruppati per phylum, ritrovati nei campioni di Donoratico.

Solo 9 specie hanno presentato un'abbondanza relativa maggiore del 3% e complessivamente hanno rappresentato il 55% dell'abbondanza totale nell'intero settore: i molluschi *Anodonta fragilis* (13%), *Tellina fabula* (8%), *Spisula subtruncata* (4%) i crostacei *Ampelisca tenuicornis* (7%), *Perioculodes longimanus* (5%), *Bathyporeia guilliamsoniana* (4%), *B. phaiophthalma* (4%) ed i policheti *Paradoneis armata* (5%) e *Scolaricia typica* (5%) (Figura 5).

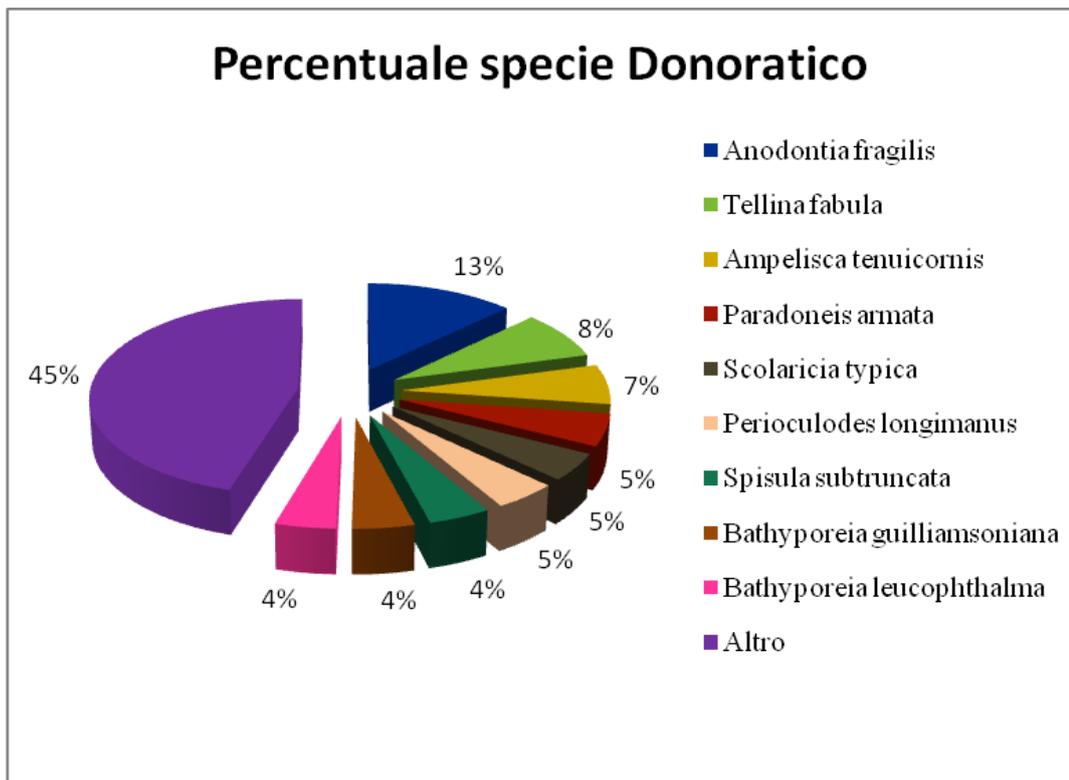


Figura 5 – Percentuale delle specie con abbondanza relativa superiore al 3%, nel settore Donoratico.

Nel settore Grosseto sono stati raccolti 14673 individui appartenenti a 182 specie. Valutando il numero di individui, i Molluschi hanno costituito il 46% dell'abbondanza totale, seguiti da Policheti (39%) e Crostacei (12%); il restante 3% degli individui raccolti appartenevano ai Phylum Echinodermata e Pycnogonida (Figura 6). Considerando il numero di specie, sono stati raccolti 82 Policheti, 54 Molluschi e 46 Crostacei.

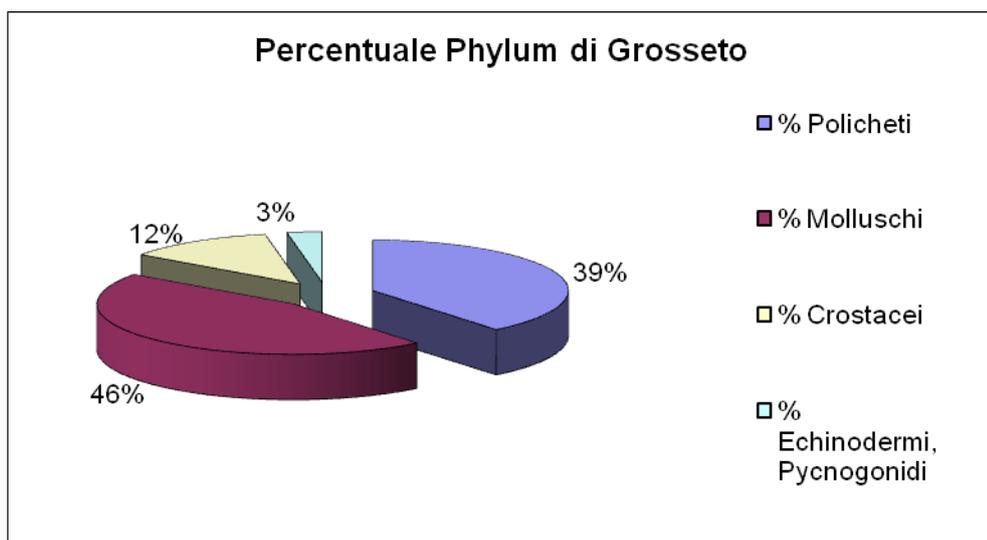


Figura 6 – Percentuale di individui raggruppati per phylum, ritrovati nei campioni di Grosseto

In Grosseto, solo 8 specie hanno esibito un'abbondanza relativa maggiore del 3%, ed hanno spiegato complessivamente il 61% dell'abbondanza totale: i molluschi *A. fragilis* (29%), *T. fabula* (5%), il crostaceo *Apseudes latreillii* (3%), ed i policheti *Mediomastus fragilis* (10%), *Prionospio caspersi* (4%), *P. armata* (4%), *Scoletoma impatiens* (3%) e *Capitomastus minimus* (3%) (Figura 7).

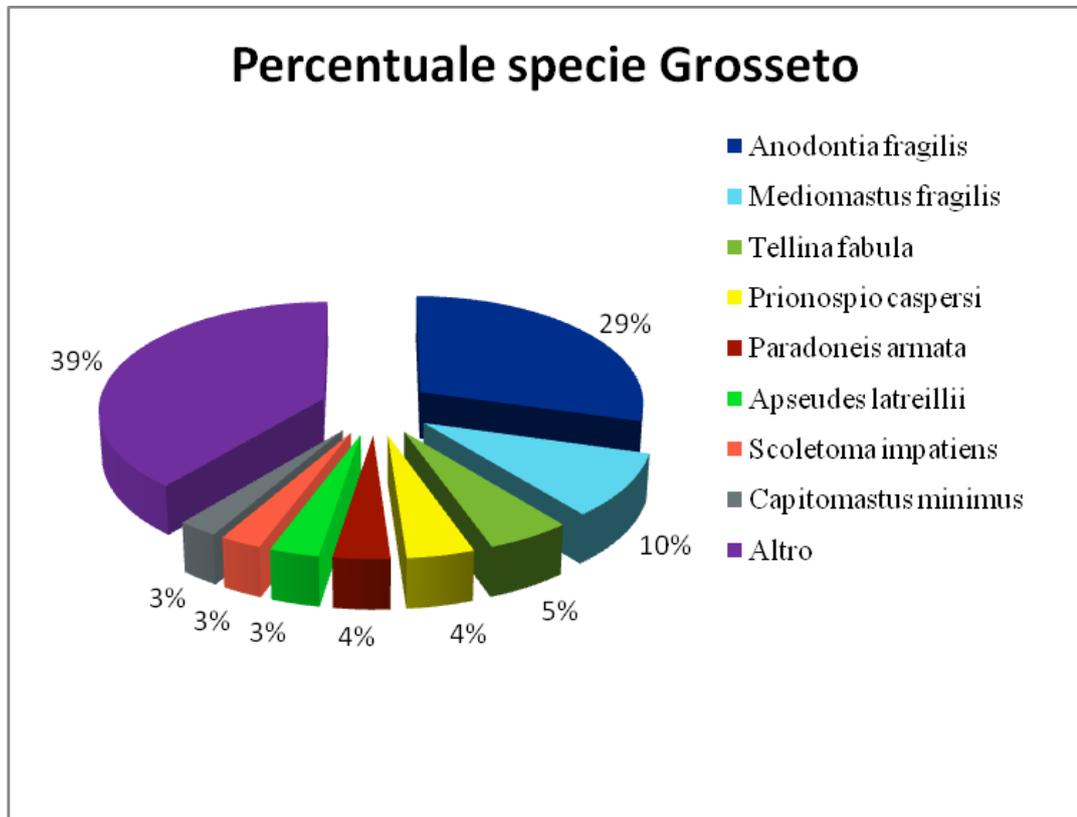


Figura 7 – Percentuale delle specie maggiormente rappresentate nel settore Grosseto.

Dall'analisi di ordinamento grafico non-costretta nmMDS è risultata una netta distinzione tra le repliche appartenenti al settore Donoratico e quelle del settore Grosseto. All'interno di ciascun settore, sono emerse differenze fra le singole località; in particolare i campioni corrispondenti alla località DA si separavano dalle altre due località del settore Donoratico; che presentano un elevato grado di sovrapposizione.

Anche per il settore Grosseto, due località mostrano una minor differenza apparendo sovrapposte (GB e GC); mentre la località GA si discosta maggiormente da esse (Figura 8).

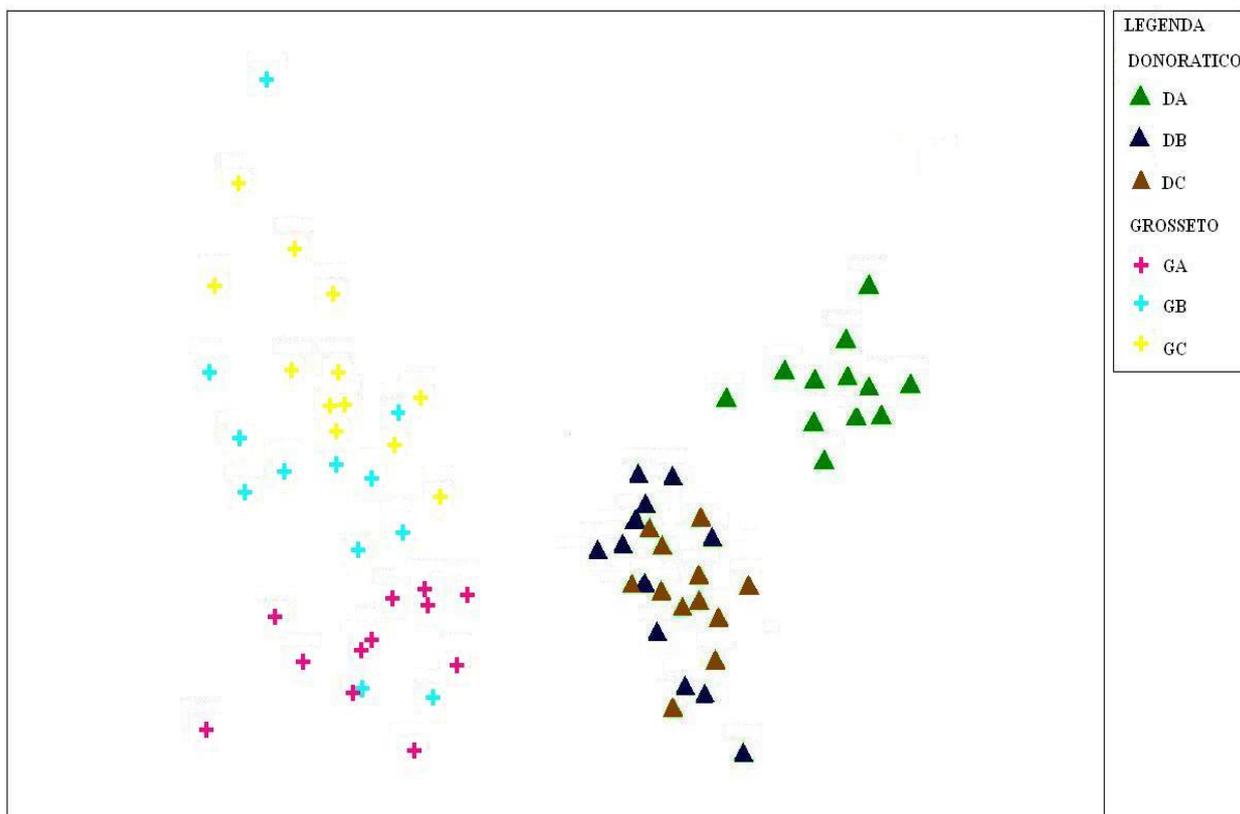


Figura 8 – Grafico nmMDS delle 72 stazioni: in giallo, celeste e viola sono rappresentate le repliche del settore Grosseto ed in verde, marrone e blu quelle del settore Donoratico. Il valore di stress pari a 0.15

La netta differenziazione tra i due settori analizzati è stata statisticamente confermata anche dall'analisi multivariata della varianza (PERMANOVA), condotta sui dati di abbondanza delle comunità macrobentoniche presenti nelle aree di studio. All'interno di ciascun settore sono emerse, inoltre, differenze del fattore località (tabella 8) ad indicare differenze fra le comunità di località appartenenti allo stesso settore.

Sorgente di variabilità	df	SS	MS	F	P(perm)	P(MC)	Numero permutazioni
Settore	1	17659.4846	17659.4846	4.5764	0.0972	0.0008*	10
Località	4	15435.3246	3858.8312	6.4473	0.0002*	0.0002	4946
Repliche	66	39502.0609	598.5161				
Totale	71	72596.8701					

Tabella 8 – Risultati ottenuti dall'analisi della PERMANOVA. Nello studio verranno considerati il P(perm) per il fattore località e, dato il numero basso di permutazioni effettuate, il P(MC) per il fattore settore (*).

3.2 ANALISI DEI VALORI DEGLI INDICI BIOTICI NELLE AREE DI STUDIO

All'interno del settore Donoratico tutti gli indici esaminati hanno mostrato valori tali da ricadere solo in due classi ecologiche. Gli indici AMBI e BOPA hanno assegnato entrambi alla classe ecologica "Alta" tutte le osservazioni del settore Donoratico. L'indice m-AMBI assegna il 75% delle repliche alla classe "Alta", mentre il restante 25% alla classe ecologica "Buona". L'indice BENTIX individua più della metà dei campioni di Donoratico in stato ecologico "Buono" (61%) e assegna solo il 39% dei campioni alla classe ecologica "Alta". Analogamente l'indice di diversità di SHANNON assegna la maggior parte delle repliche alla classe "Buona" (89%) rispetto alla classe "Alta" (11%) (Tabella 9).

Nel settore Grosseto sono state complessivamente individuate tre differenti classi ecologiche dai vari indici esaminati. Solamente i risultati dell'indice BOPA sono ricaduti tutti all'interno della classe ecologica "Alta". Il secondo indice con una maggior percentuale di repliche in classe ecologica "Alta" è risultato l'indice AMBI (58%), che ha assegnato le rimanenti osservazioni (42%) allo stato "Buono". L'indice m-AMBI mostra, invece, una percentuale maggiore per le repliche assegnate alla classe "Buona" (58%), e il 42% dei campioni assegnati alla classe ecologica "Alta". Anche in questo settore sono stati l'indice BENTIX e l'indice di diversità di SHANNON ad individuare meno osservazioni in stato ecologico "Alto". L'indice di diversità di SHANNON classifica solamente l'8% dei campioni in stato "Alto", il 69% viene assegnato alla classe ecologica "Buona" ed il restante 22% allo stato "Moderato". L'indice BENTIX non ha assegnato campioni alla classe ecologica "Alta" ma ha riscontrato il 67% in stato ecologico "Moderato" ed il 33% in stato "Buono" (Tabella 10).

STAZIONI	Classificazione dei campioni di Donoratico				
	AMBI	m-AMBI	BENTIX	BOPA	SHANNON
DAZ1	H	H	H	H	G
DAZ2	H	H	H	H	G
DAZ3	H	H	H	H	G
DAZ4	H	H	H	H	G
DAV1	H	G	H	H	G
DAV2	H	H	H	H	G
DAV3	H	H	H	H	G
DAV4	H	H	H	H	G
DAU1	H	G	H	H	G
DAU2	H	H	H	H	G
DAU3	H	H	H	H	G
DAU4	H	H	H	H	G
DBZ1	H	H	G	H	H
DBZ2	H	G	G	H	G
DBZ3	H	H	G	H	G
DBZ4	H	H	G	H	G
DBV1	H	H	G	H	G
DBV2	H	G	G	H	G
DBV3	H	H	G	H	G
DBV4	H	H	G	H	G
DBU1	H	G	G	H	G
DBU2	H	G	G	H	G
DBU3	H	G	G	H	G
DBU4	H	H	G	H	G
DCZ1	H	G	H	H	G
DCZ2	H	H	G	H	H
DCZ3	H	H	G	H	G
DCZ4	H	H	G	H	G
DCV1	H	H	G	H	G
DCV2	H	H	G	H	H
DCV3	H	H	G	H	G
DCV4	H	H	G	H	G
DCU1	H	H	G	H	G
DCU2	H	H	H	H	H
DCU3	H	G	G	H	G
DCU4	H	H	G	H	G

Tabella 9 – Classe di assegnazione delle repliche di Donoratico dai cinque indici esaminati

STAZIONI	Classificazione dei campioni di Grosseto				
	AMBI	m-AMBI	BENTIX	BOPA	SHANNON
GAZ1	H	G	M	H	G
GAZ2	G	G	M	H	G
GAZ3	H	G	G	H	G
GAZ4	H	G	M	H	G
GAV1	H	G	M	H	M
GAV2	H	G	M	H	M
GAV3	H	G	M	H	M
GAV4	H	G	M	H	M
GAU1	H	G	M	H	G
GAU2	H	G	G	H	G
GAU3	H	G	M	H	M
GAU4	H	G	M	H	M
GBZ1	H	G	M	H	G
GBZ2	H	H	M	H	G
GBZ3	H	H	M	H	G
GBZ4	H	H	M	H	G
GBV1	G	H	G	H	H
GBV2	H	H	M	H	G
GBV3	G	H	M	H	G
GBV4	G	G	M	H	M
GBU1	H	G	M	H	G
GBU2	H	G	G	H	G
GBU3	H	G	G	H	G
GBU4	H	H	M	H	G
GCZ1	H	G	M	H	M
GCZ2	G	G	M	H	G
GCZ3	G	G	G	H	G
GCZ4	G	H	G	H	G
GCV1	G	H	G	H	G
GCV2	G	H	M	H	G
GCV3	G	G	M	H	G
GCV4	G	H	M	H	G
GCU1	G	H	G	H	G
GCU2	G	H	G	H	H
GCU3	G	H	G	H	G
GCU4	G	H	G	H	H

Tabella 10 – Classe di assegnazione delle repliche di Grosseto dai cinque indici esaminati

Esaminando complessivamente il grado di accordo nell'assegnazione delle classi ecologiche fra i cinque indici esaminati, è emersa una maggior concordanza fra l'indice AMBI e BOPA, con il 79% delle osservazioni classificate in maniera analoga dai due indici. Ad essi seguono gli indici BOPA ed m-AMBI con il 58% di repliche. Esaminando la classificazione ottenuta dagli indici AMBI ed m-AMBI, si è osservato che il 50% delle repliche sono state assegnate alla stessa classe ecologica. Una percentuale simile (49%) viene riscontrata fra l'indice di diversità di SHANNON e BENTIX. Il grado di accordo si abbassa ancora passando a considerare la coppia di indici m-AMBI e SHANNON (40%).

Il 31% delle repliche viene assegnata alla stessa classe dagli indici BENTIX ed m-AMBI. Analogo risultato emerge dal confronto fra l'indice BENTIX ed AMBI (30%). Solamente il 21% dei campioni vengono classificati, dall'indice di diversità di SHANNON ed AMBI, alla stessa classe ecologica. Una percentuale simile (19%) è stata riscontrata fra gli indici BENTIX e BOPA. Infine, il livello più basso di accordo nell'assegnazione delle repliche è stato ritrovato fra l'indice di diversità di SHANNON e l'indice BOPA con solo il 10% (Tabelle 9 e 10).

3.3 CONFRONTO DEGLI INDICI BIOTICI

Inizialmente, per ciascuna coppia di indici esaminati, l'analisi è stata effettuata utilizzando casualmente sei repliche per ogni località nel calcolo di ciascuno degli indici confrontati, per evitare la non-indipendenza dei dati (Figure 9, 10, 11 e 12).

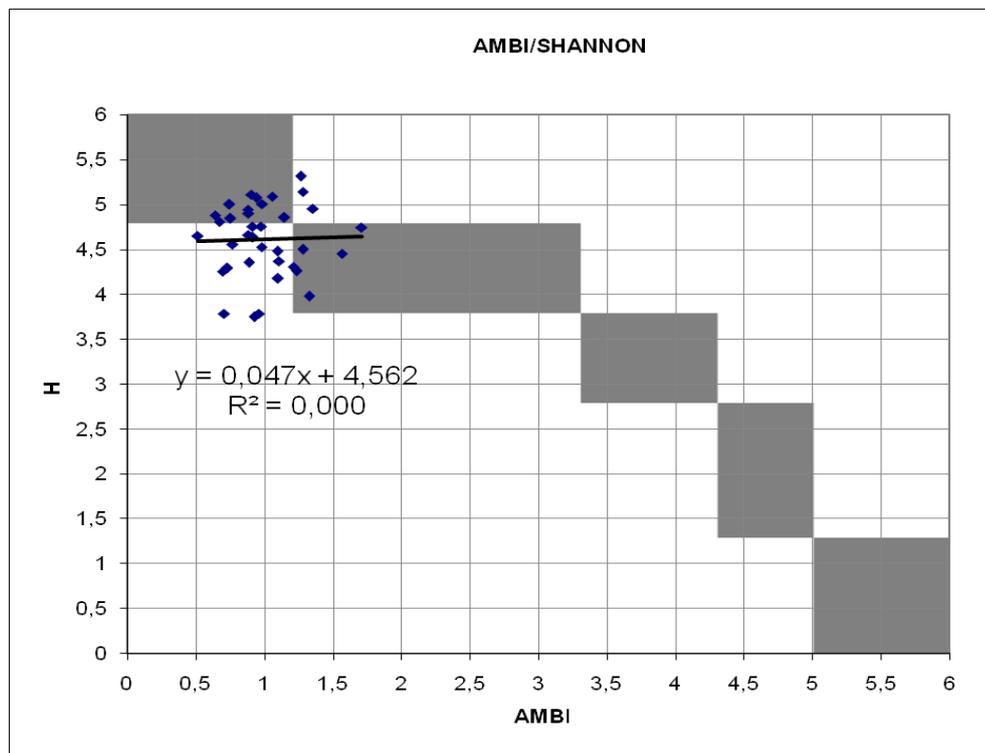


Figura 9 – Correlazione fra l'indice AMBI e l'indice di diversità di SHANNON. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

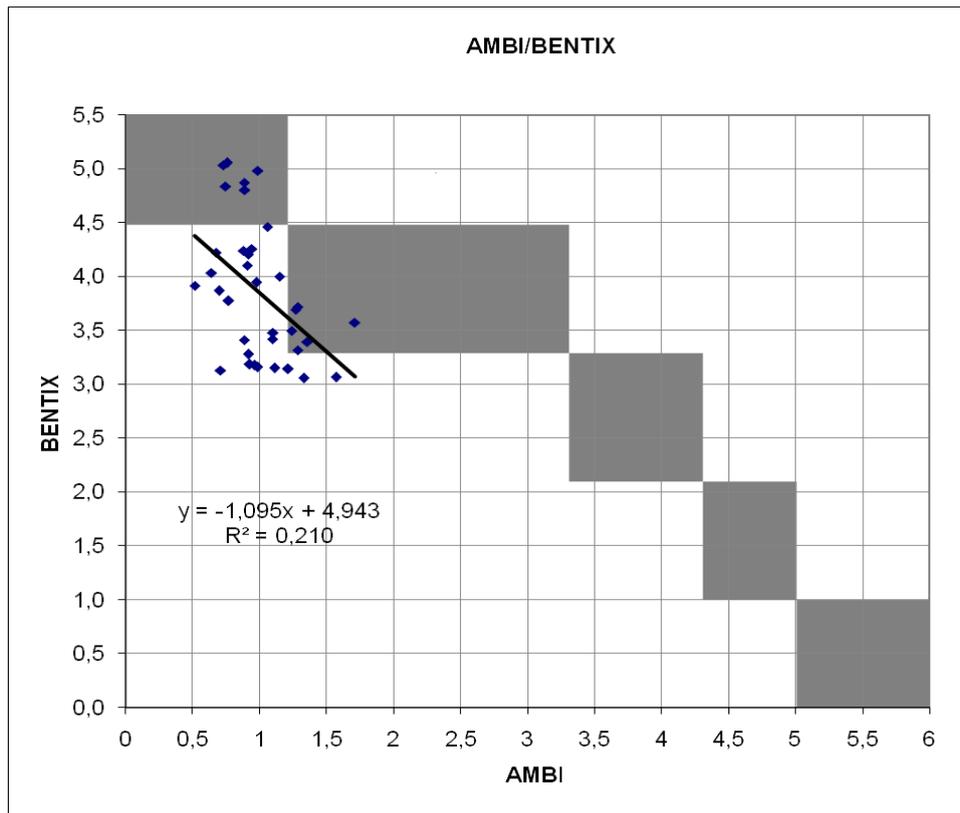


Figura 10 – Correlazione fra l'indice AMBI e BENTIX. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

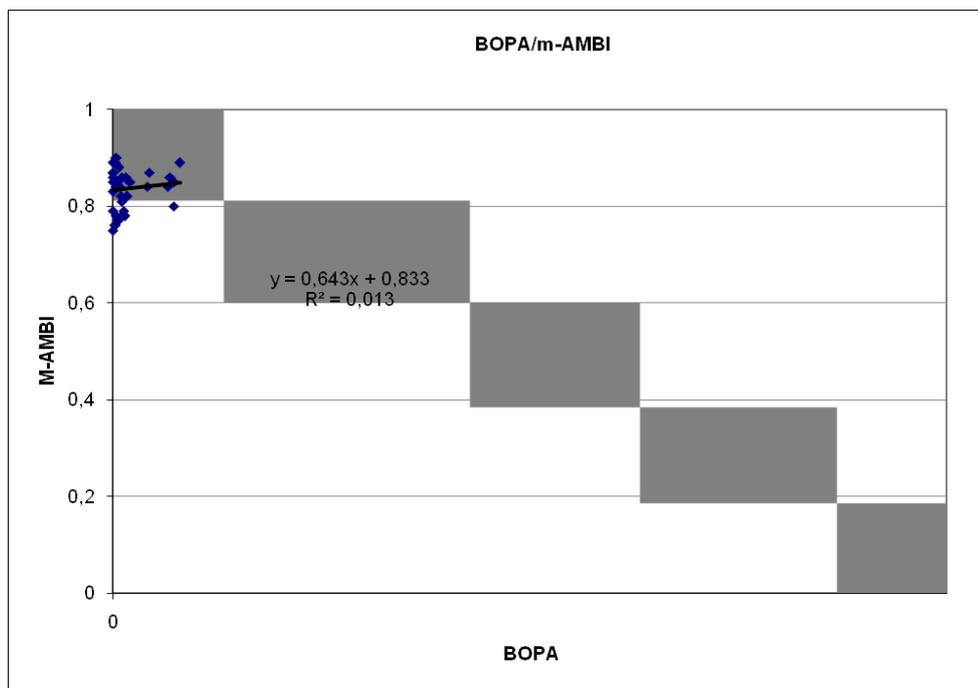


Figura 11 – Correlazione fra l'indice BOPA ed m-AMBI. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

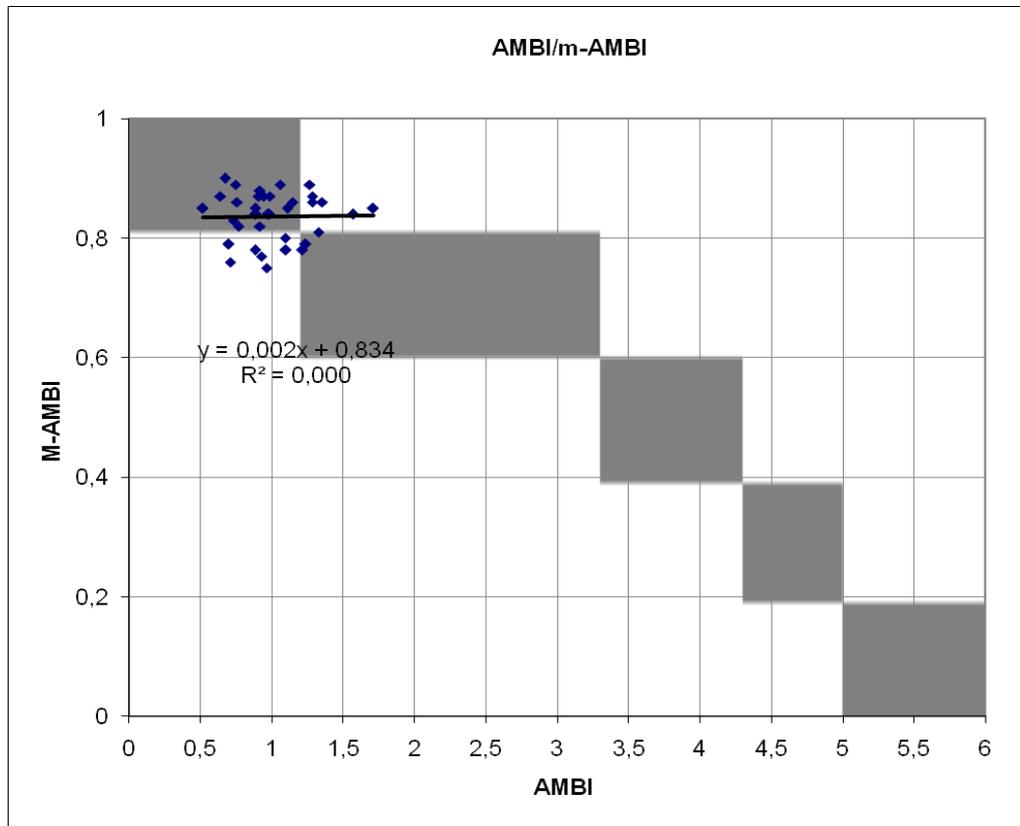


Figura 12 – Correlazione fra l'indice AMBI ed m-AMBI. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

Comunque, risultati analoghi sono stati ottenuti usando tutte le repliche per il calcolo di entrambi gli indici esaminati nei confronti; pertanto, solo questi ultimi risultati vengono spiegati ed analizzati dettagliatamente poiché il maggior numero di osservazioni permette di avere un maggiore potere statistico nei test di regressione lineare.

Analizzando il livello di correlazione fra gli indici si è rilevato un coefficiente di correlazione maggiore fra m-AMBI e l'indice di diversità di SHANNON ($R^2 = 0,641$ $p < 0,001$) (Figura 13).

L'analisi, ha rivelato inoltre un significativo ma moderato grado di correlazione fra gli indici AMBI e BOPA ($R^2 = 0,503$, $p < 0,001$) (Figura 14). Correlazioni ancora minori

sono state rilevate fra BENTIX e l'indice di SHANNON ($R^2 = 0,321$, $p < 0,001$) (Figura 15) così come fra AMBI e BENTIX ($R^2 = 0,247$, $p < 0,001$) (Figura 16).

I valori minori di correlazione sono stati tuttavia riscontrati fra BENTIX e l'indice BOPA ($R^2 = 0,184$, $p < 0,001$) (Figura 17) e BENTIX ed m-AMBI ($R^2 = 0,137$, $p < 0,01$) (Figura 18).

Il grado di correlazione non è risultato, invece, statisticamente significativo ($p > 0,05$) nei confronti fra l'indice di diversità di SHANNON ed AMBI (Figura 19), l'indice SHANNON e BOPA (Figura 20), fra BOPA ed m-AMBI (Figura 21) e fra gli indici AMBI ed m-AMBI (Figura 22).

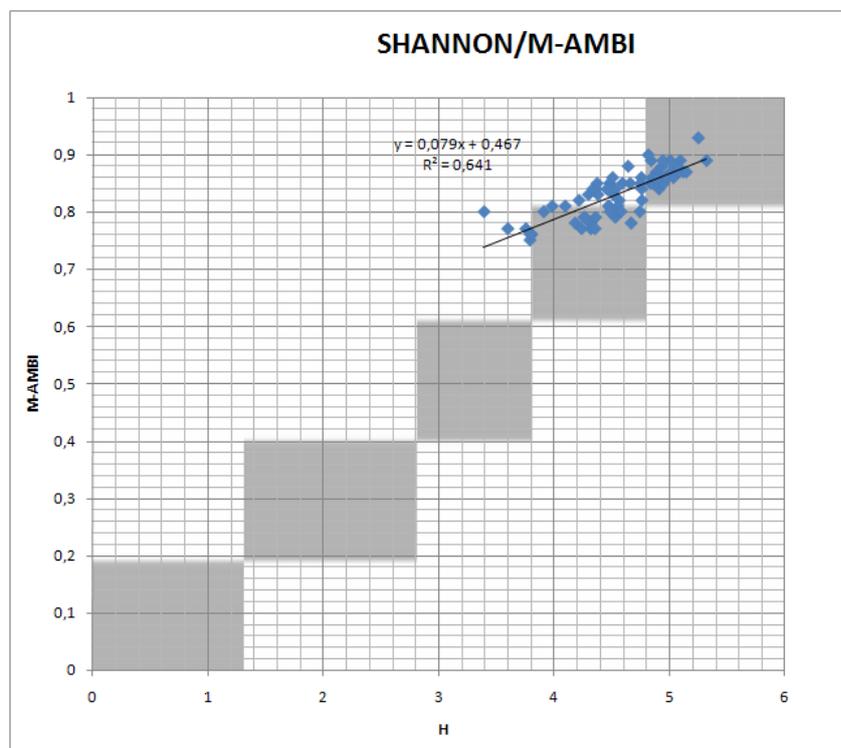


Figura 13 – Correlazione fra l'indice di diversità di SHANNON ed m-AMBI. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

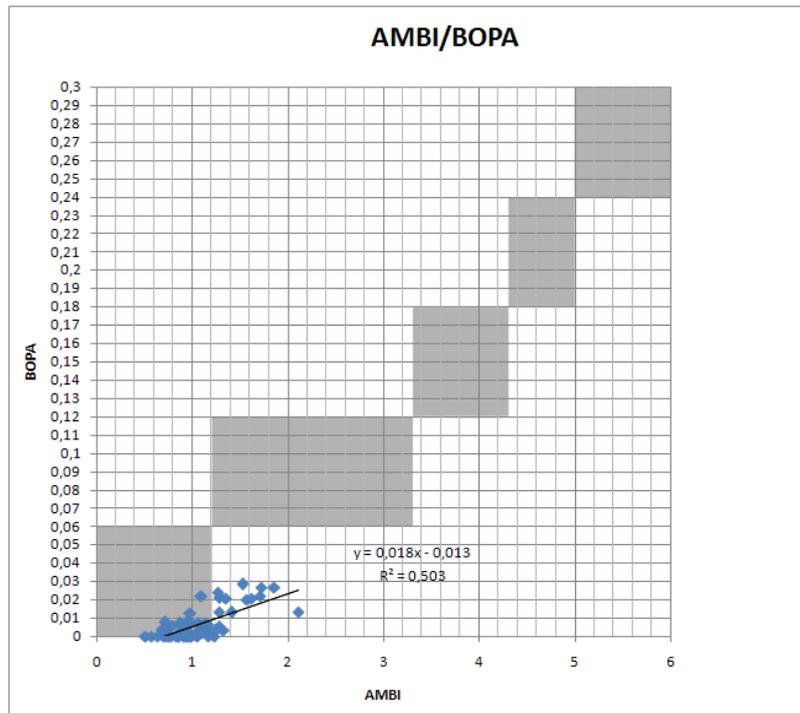


Figura 14 – Correlazione fra AMBI e BOPA. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

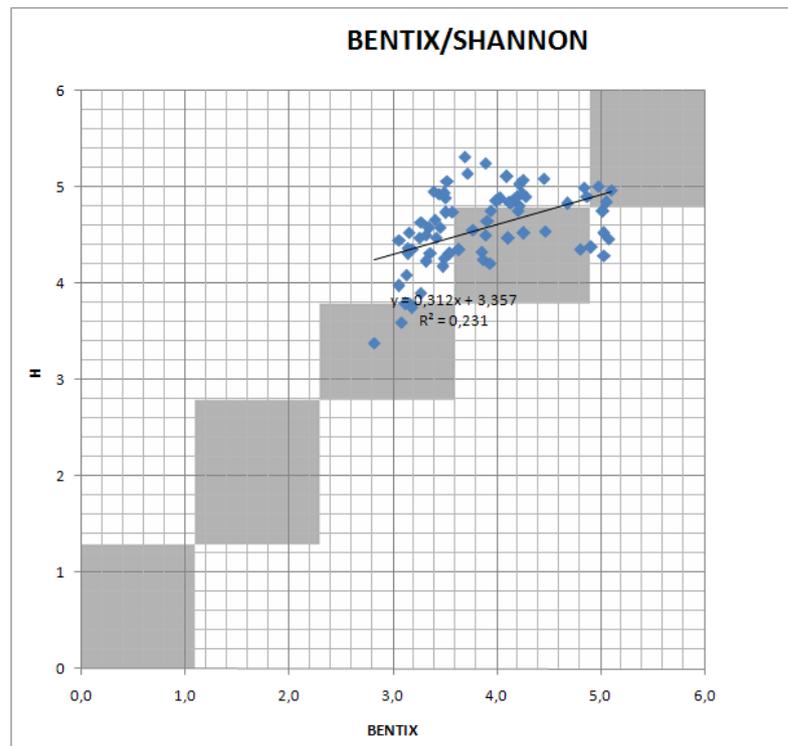


Figura 15 – Correlazione fra BENTIX e l'indice di diversità di SHANNON. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

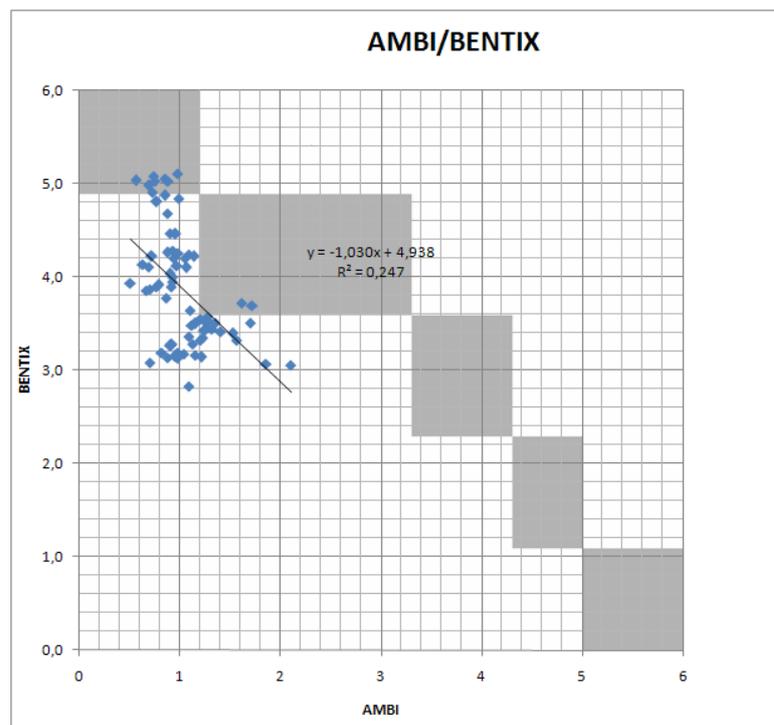


Figura 16 – Correlazione fra AMBI e BENTIX. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

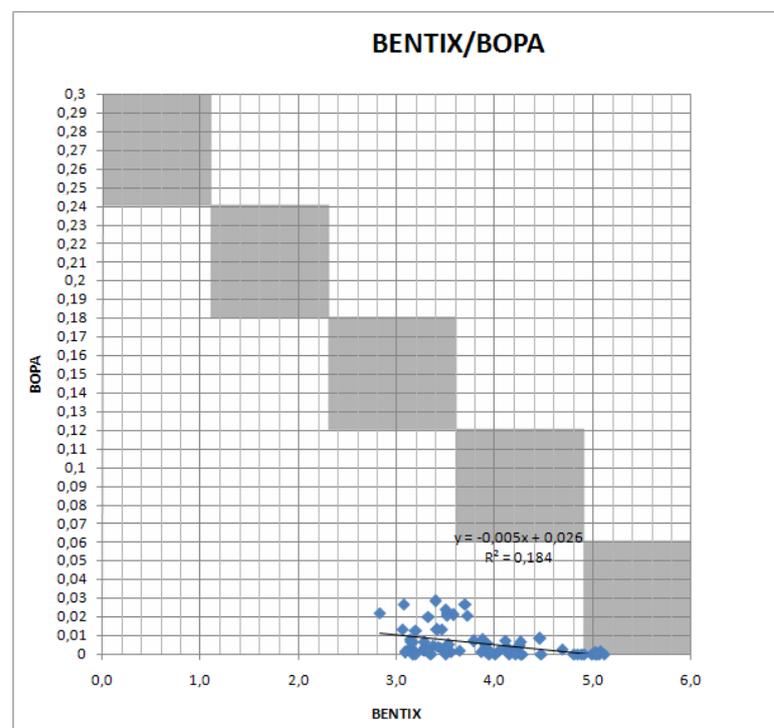


Figura 17 – Correlazione fra BENTIX e BOPA. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

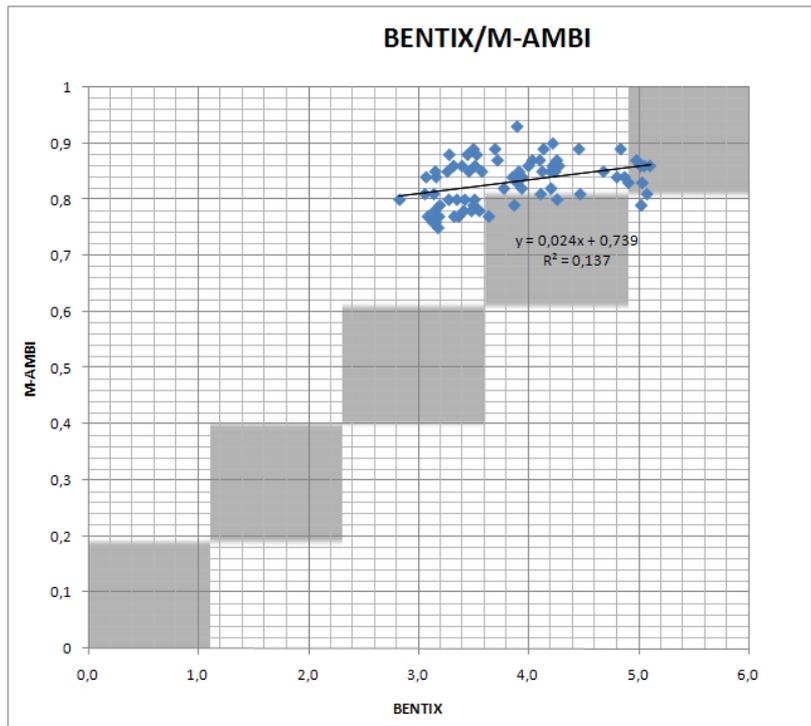


Figura 18 – Correlazione fra BENTIX ed m-AMBI. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

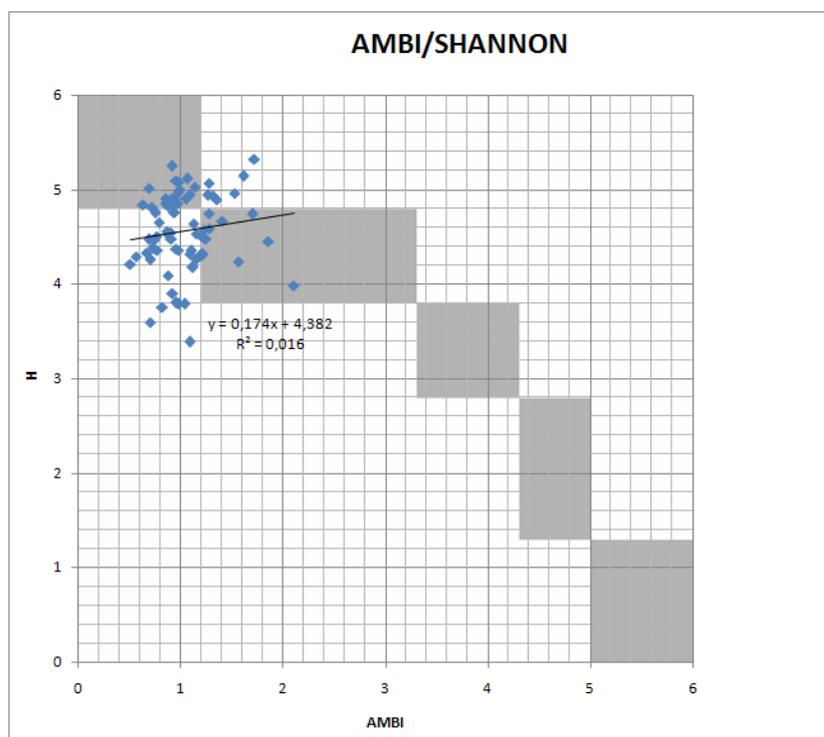


Figura 19 – Correlazione fra AMBI e l'indice di diversità di SHANNON. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

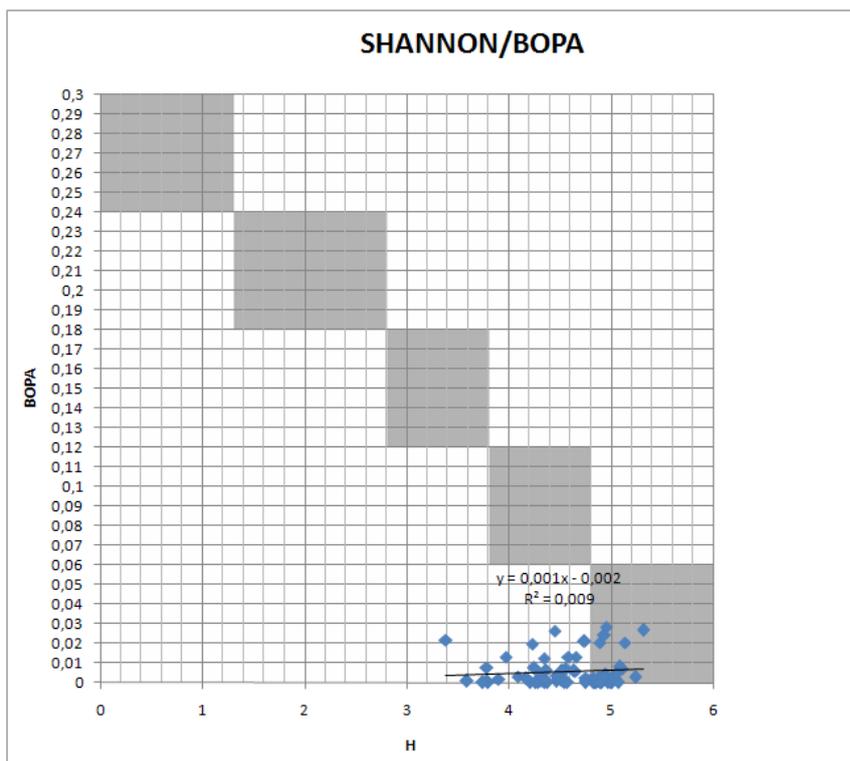


Figura 20 – Correlazione fra l'indice di diversità di SHANNON e BOPA. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

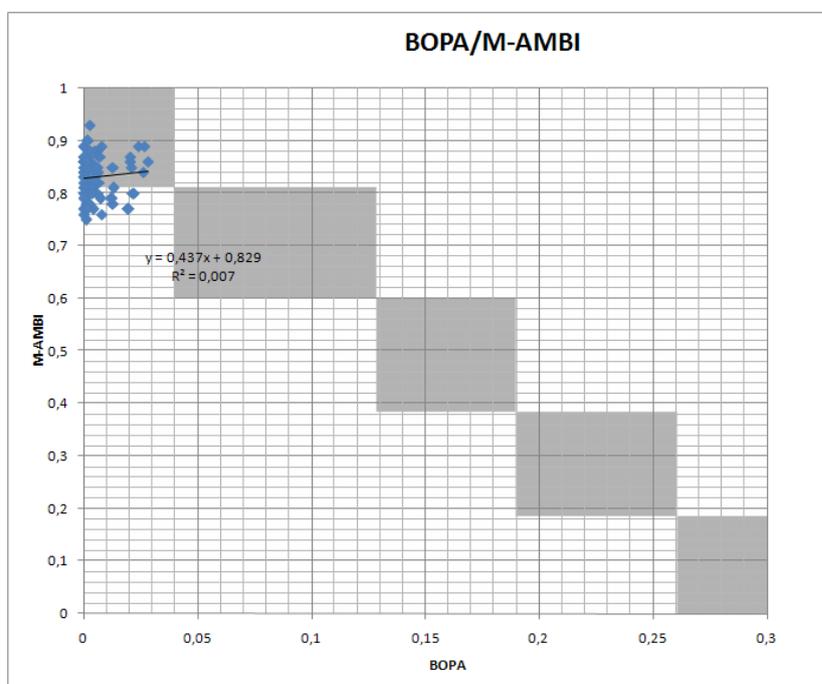


Figura 21 – Correlazione fra BOPA ed m-AMBI. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

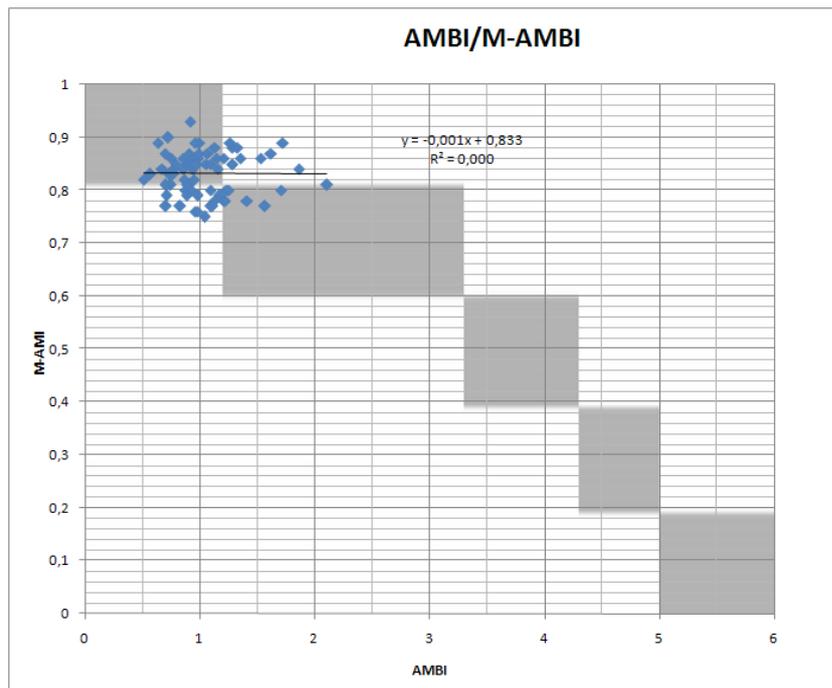


Figura 22 – Correlazione fra AMBI ed m-AMBI. Le aree in grigio rappresentano la classe ecologica in comune, perciò solo le stazioni che ricadono nell'area grigia vengono assegnate alla stessa classe.

4. DISCUSSIONI

Le analisi effettuate hanno mostrato come le due aree costiere oggetto di studio presentino una significativa differenziazione strutturale e composizionale. In particolare, solo poche tra le specie maggiormente abbondanti sono apparse in entrambi i settori, che sono risultati essenzialmente contraddistinti da specie differenti. Tuttavia le principali specie ritrovate in Donoratico e Grosseto rappresentano organismi considerati tipici delle biocenosi di sabbia fine ben calibrata (SFBC, *sensu* Peres e Picard, 1964). Le comunità macrobentoniche ritrovate in queste aree sono risultate simili a quelle descritte in altre aree costiere del Mediterraneo Nord Occidentale (*i.a.* Peres e Picard, 1964; Massè, 1972; Sardà et al., 1999). Le differenze riscontrate fra le comunità dei due settori non hanno però implicato, sulla base degli indici considerati, necessariamente un differente stato ecologico. La maggioranza delle stazioni considerate è stata infatti assegnata alle due classi ecologiche più elevate da tutti gli indici biotici analizzati, a suggerire quindi una situazione ambientale generalmente soddisfacente. Considerando complessivamente le classi assegnate da ciascun indice alle 72 repliche, nel 53% dei casi compare la classe “alta”, seguita dalla classe “buona” (38%), mentre solamente nel 9% dei casi è stata assegnata la classe ecologica “moderata”. Considerando che le due aree costiere oggetto di studio sono situate in zone lontane da grossi centri cittadini ed impianti industriali e che sono soggette ad un basso apporto di sostanze derivanti da attività agricola, la loro classificazione ecologica, ottenuta mediante vari indici, appare ben rappresentativa delle reali condizioni ambientali.

Tra i vari indici presi in esame, l'indice BENTIX e l'indice di diversità di Shannon hanno discriminato il maggior numero di classi ecologiche (con valori che oscillano dalla classe alta a quella moderata), mentre l'indice AMBI classifica i campioni nelle due classi ecologiche più alte. Alcuni studi hanno tuttavia osservato che questo indice, essendo stato sviluppato per le analisi delle comunità macrobentoniche di regioni atlantiche, caratterizzate da poche specie dominanti e bassa ricchezza specifica, potrebbe causare una sovrastima delle reali condizioni ambientali in regioni contraddistinte da un'alta ricchezza e diversità specifica, come le aree costiere del Mar Mediterraneo (*i.a.* Albayrak et al., 2006; Fleischer et al., 2007; Pranovi et al., 2007, Simboura e Reizoupolou, 2008).

La classificazione dello stato ecologico delle singole stazioni ha inoltre mostrato differenze in base all'indice biotico utilizzato, come peraltro documentato in studi

precedenti (*i.a.* Reiss e Kroncke, 2005; Labrune et al., 2006; Simboura e Reizoupolou, 2008), evidenziando la necessità di una intercalibrazione fra i differenti indici biotici allo scopo di ottenere una classificazione comune delle medesime osservazioni ottenute mediante indici diversi (Borja et al., 2007; Muxika et al., 2007; Simboura e Reizoupolou, 2008). Tuttavia, nella maggior parte dei confronti fra gli indici biotici effettuati in questo studio, il grado d'accordo nell'assegnazione di una singola osservazione alla medesima classe ecologica, non è stato supportato da una correlazione significativa fra i due indici. Ad esempio, comparando l'indice BOPA con gli altri indici investigati, sono risultati gradi di correlazione non significativi o molto bassi, ad indicare che la percentuale di osservazioni assegnate alla stessa classe ecologica da entrambi gli indici in ciascun confronto, è puramente casuale. L'unica eccezione è emersa dalla comparazione con l'indice AMBI in cui è stato rilevato un elevato grado d'accordo nell'assegnazione delle repliche alla stessa classe ecologica e una moderata correlazione fra i due indici. Tuttavia occorre tenere presente la bassa variabilità del valore assoluto stimato da BOPA, tale indice ha infatti assunto valori sempre prossimi al limite della sua definizione operativa (cioè zero). Questo risultato con molta probabilità è da attribuire al fatto che l'indice BOPA è stato sviluppato sulla base dei cambiamenti strutturali subiti dal macrobenthos a causa di sversamenti di petrolio nelle regioni atlantiche sulla base del rapporto fra policheti opportunisti ed anfipodi (Dauvin e Ruellet, 2007). Gli anfipodi (specialmente il genere *Ampelisca*) sono un gruppo tassonomico molto sensibile all'inquinamento da petrolio ed mostrano un grado di ricolonizzazione dell'area molto lento negli anni successivi l'inquinamento. I policheti opportunisti invece, sembrano non risentire dell'inquinamento da petrolio e proliferano sia in condizioni disturbate che non, grazie alla mancanza di competizione con gli anfipodi, dopo la cessazione del disturbo (Gesteria e Dauvin, 2000). L'utilizzo di BOPA per valutare altre tipologie di disturbo in comunità bentoniche del Mediterraneo, naturalmente caratterizzate da un'elevata presenza di anfipodi, è tuttora dibattuto (Munari e Mistri, 2007; Pranovi et al., 2007; Simboura, 2008).

Il confronto fra gli indici AMBI ed m-AMBI, ha mostrato un elevato grado d'accordo nell'assegnazione dei campioni ma non è stata individuata correlazione. Questo risultato appare sorprendente se si considera che m-AMBI è un indice cumulativo che integra l'informazione derivante da AMBI con i valori di parametri strutturali delle comunità bentoniche, quali ricchezza specifica e indice di diversità di Shannon. La discordanza fra i risultati ottenuti dagli indici AMBI ed m-AMBI è stata evidenziata anche in altri

studi (Muxika et al., 2007; Simboura e Reizopoulou, 2007; Trayanova et al., 2007), che imputano questa differenza proprio all'integrazione, nell'indice m-AMBI, di parametri che non si uniformano con l'indice AMBI; come ad esempio l'indice di diversità di Shannon, con il quale l'indice AMBI non mostra correlazione.

L'indice di diversità di Shannon ha mostrato un basso grado di accordo associato ad una correlazione bassa o non significativa con tutti gli indici ad eccezione dell'indice m-AMBI. Tale discordanza potrebbe essere imputabile alle diverse caratteristiche delle comunità bentoniche che vengono prese in considerazione dagli altri indici biotici; mentre l'indice di Shannon analizza il grado di diversità ed equità associato alle singole osservazioni, gli altri indici indagati si basano tutti sulla valutazione del rapporto tra specie considerate sensibili e tolleranti allo stress.

La bassa correlazione ed i differenti risultati ottenuti dal confronto tra AMBI e BENTIX sembrano da imputare soprattutto alle differenze nell'assegnazione ecologica delle specie maggiormente abbondanti che viene fatta dai due indici, come riportato in numerosi altri lavori (Simboura, 2004; Marin-Guirao et al., 2005; Occhipinti Ambrogi et al., 2005; Albayrak et al., 2006; Labrune et al., 2006; Dauvin et al., 2007). Ad esempio *Paradoneis armata* e *Prionospio caspersi*, policheti che caratterizzano rispettivamente Donoratico e Grosseto, vengono considerati rispettivamente tolleranti ed opportunisti dall'indice AMBI, ma sensibili da BENTIX. Al contrario BENTIX considera il mollusco *Anodonta fragilis* come tollerante, mentre AMBI lo classifica come sensibile al disturbo.

In conclusione quindi, i risultati ottenuti in questo studio hanno complessivamente messo in risalto la mancanza di correlazione fra gli indici esaminati che rende estremamente difficoltosa una successiva intercalibrazione dei vari metodi. Appare però chiaro che prima di poter proporre metodi di intercalibrazione (che prevedono almeno un analogo ordinamento delle osservazioni da parte di indici diversi), è necessario standardizzare anche l'assegnazione delle specie a gruppi ecologici equivalenti nelle procedure di calcolo di vari indici e, soprattutto per l'ambiente mediterraneo, sviluppare procedure che tengano conto delle sue peculiarità rispetto all'ambiente atlantico, in associazione magari all'esame dei parametri chimico-fisici.

5. BIBLIOGRAFIA

Albayrak S., Balkis H., Zenetos A., Kurun A., Kubanc C., 2006. Ecological quality status of coastal benthic ecosystems in the Sea of Marmara. *Marine Pollution Bulletin* 52, 790–799.

Bilyard G.R., 1987. The value of benthic infauna in marine pollution monitoring studies. *Marine Pollution Bulletin* 18(11), 581-585.

Boesch D.F., Rosenberg R., 1981. Response to stress in marine benthic communities. Pages 179–200 in G. W. Barrett e R. Rosenberg (eds.), *Stress effects on natural ecosystems*. John Wiley & Sons. New York.

Borja A., Dauer D.M., Díaz R.J., Llansó R.J., Muxika I., Rodríguez J.G., 2008. Assessing the environmental quality status in estuarine and coastal systems: Comparing methodologies and indices. *Ecological Indicators* 8(4), 331-337.

Borja A., Franco J., Pérez V., 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin* 40, 1100–1114.

Borja A., Josefson A.B., Miles A., Muxika I., Olsgard F., Philips G., Rodríguez G., Rygg B., 2007. An approach to the intercalibration of benthic ecological status assessment in the North Atlantic ecoregion, according to the European Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 55, 42-52.

Borja A., Muxika I., Franco J., 2006. Long-term recovery of soft-bottom benthos following urban and industrial sewage treatment in the Nervión estuary (southern Bay of Biscay), *Marine Ecology Progress Series* 313, 43–55.

Cheung S.G., Lam N.W.Y, Wu R.S.S., Shin P.K.S., 2008. Spatio-temporal changes of marine macrobenthic community in sub-tropical waters upon recovery from eutrophication. II. Life-history traits and feeding guilds of polychaete community, *Marine Pollution Bulletin* 56, 297–307.

Clarke K.R., 1993. Non parametric multivariate analysis of changes in community structure. *Marine Ecology Progress Series*, 46, 213-226.

Dauer, D.M., 1993. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. *Marine Pollution Bulletin* 26, 249–257.

Dauvin, J.C., 2007. Paradox of estuarine quality: benthic indicators and indices, consensus or debate for the future. *Marine Pollution Bulletin* 55(1-6), 271-281.

Dauvin J.C., Ruellet T., 2007. Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin* Vol. 55(1-6), 215-224.

Dauvin J.C., Ruellet T., Desroy N., Janson A.L., 2006. The ecological quality status of the Bay of Seine and the Seine estuary: use of biotic indices. *Marine Pollution Bulletin* 55(1-6), 241-257.

Fleischer D., Grémare A., Labrune C., Rumohr H., Vanden Berghe E., Zettler M.L., 2007. Performance comparison of two biotic indices measuring the ecological status of water bodies in the Southern Baltic and Gulf of Lions. *Marine Pollution Bulletin* 54(10), 1598-160.

Gomez Gesteira J.L., Dauvin J.C., 2000. Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spill on soft-bottom macrobenthic communities. *Marine Pollution Bulletin* 40(11), 1017–1027.

Grall J., Glémarec M., 1997. Using biotic indices to estimate macrobenthic community perturbations in the Bay of Brest. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44 (Suppl. A), 43–53.

Grall J., Glémarec M., 2003. Bioévaluation de la qualité environnementale des sédiments portuaires et des zones d'inmersion. *Coastal and Shelf Science* 57, 78–84.

Heip C., 1995. Eutrophication and zoobenthos dynamics. *Ophelia*. Vol. 41, 113-136.

Labruno C., Amouroux J.M., Sarda R., Dutrieux E., Thorin S., Rosenberg R., Gremare A., 2006. Characterization of the ecological quality of the coastal Gulf of Lions (NW Mediterranean). A comparative approach based on three biotic indices. *Marine Pollution Bulletin* 52(1), 34–47.

Marin-Guirao L., Cesar A., Marin A., Lloret J., Vita R., 2005. Establishing the ecological quality status of soft-bottom mining-impacted coastal water bodies in the scope of the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 374-387.

Mistri M., 2002. Persistence of benthic communities: a case study from the Valli di Comacchio, a Northern Adriatic lagoonal ecosystem (Italy). *ICES J. Marine Science* 59, 314-322 .

Munari C., Mistri M., 2007a. Evaluation of the applicability of a fuzzy index of ecosystem integrity (FINE) to characterize the status of Tyrrhenian lagoons, *Marine Environmental Research* 64, 629–638.

Munari C., Mistri M., 2007b. Effect of copper on the scope for growth of clams (*Tapes philippinarum*) from a farming area in the Northern Adriatic Sea, *Marine Environmental Research* 64, 347–357.

Muniz P., Venturini N., Pires-Vanin M.S., Tommasi L.R., Borja A., 2005. Testing the applicability of a Marine Biotic Index (AMBI) to assessing the ecological quality of soft-bottom benthic communities, in the South America Atlantic region. *Marine Pollution Bulletin* 50(6), 624-637.

Muxika I., Borja A., Bald J., 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 55(1-6), 16-29.

Muxika I., Borja A., Bonne W., 2005. The suitability of the Marine Biotic Index (AMBI) to new impact sources along European coasts. *Ecological Indicators* 5, 19–31.

Occhipinti-Ambrogi A., Forni G., 2004. Biotic indices, *Biologia Marina Mediterranea* 11, 545–572.

Occhipinti-Ambrogi A., Savini D., Forni G., 2005. Macrobenthos community structural changes off Cesenatico coast (Emilia Romagna, Northern Adriatic), a six-year monitoring programme *Science of The Total Environment* 353(1-3), 317-328.

Orfanidis S., Panayotidis P., Stamatis N., 2001. Ecological evaluation of transitional and coastal waters: A marine benthic macrophytes-based model. *Mediterranean Marine Science* 2(2), 45-65.

Pearson T.H., Rosenberg R., 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Pollution Annual Review* 16, 229–311.

Peres J.M., Picard J., 1964. Nouveau manuel de bionomie benthique de la Mer Mediterranee. *Recueil des Travaux de la Station Marine d'Endoume* 31(47), 137.

Pranovi F., Da Ponte F., Torricelli P., 2007. Application of biotic indices and relationship with structural and functional features of macrobenthic community in the lagoon of Venice: an example over a long time series of data. *Marine Pollution Bulletin* 54, 1607–1618.

Reish D.J., 1955. The relation of polychaetus annelids to harbour pollution. *Public Health* 70, 1168-1174.

Reiss H., Kröncke I., 2005. Seasonal variability of benthic indices: an approach to test the applicability of different indices for ecosystem quality assessment. *Marine Pollution Bulletin* 65, 253–274.

Rhoads D.C., Germano J.D., 1986. Interpreting long-term changes in benthic community structure: a new protocol. *Hydrobiologia* 142(1), 291-308.

Rosenberg R., Agrenius S., Hellman B., Nilsson H.C., Norling K., 2002a. Recovery of benthic habitats and fauna in a Swedish fjord following improved oxygen conditions. *Marine Ecology Progress Series* 234, 43–53.

Rosenberg R., Gremare A., Amouroux J.-M., Nilsson H.C., 2002b. Benthic habitats in the northwest Mediterranean characterised by sedimentary organics, benthic macrofauna and sediment profile images. *Estuarine Coastal Shelf Science* 57, 297–311.

Ruellet T., Dauvin J.C.. 2007. Benthic indicators: Analysis of the threshold values of ecological quality classifications for transitional waters. *Marine pollution bulletin* 54(11), 1707-1714.

Salas F., Patricio J., Marcos C., Pardal M.A., Perez-Ruzafa A., Marques J.C., 2006. Are taxonomic distinctness measures compliant to other ecological indicators in assessing ecological status? *Marine Pollution Bulletin* 52, 162–174.

Simboura N., Papathanassiou E., Sakellariou D., 2007. The use of a biotic index (Bentix) in assessing long term effects of dumping coarse metalliferous waste on soft bottom benthic communities. *Ecology Indicators* 7(1), 164-180.

Simboura N., Reizopoulou S., 2007. A comparative approach of assessing ecological status in two coastal areas of Eastern Mediterranean *Ecology Indicators* 7(2), 455-168.

Simboura N, Reizopoulou S. 2007. An intercalibration of classification metrics of benthic macroinvertebrates in coastal and transitional ecosystems of the Eastern Mediterranean ecoregion (Greece). *Marine Pollution Bulletin*. 56(1), 116-26.

Simboura N., Zenetos, A., 2002. Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Mediterr. Marine Science* 3/2, 77–111.

Snelgrove P.V.R., 1998. The biodiversity of macrofaunal organisms in marine sediments. *Biodiversity and Conservation*, 7, 1123-1132

Swartz R.C., Ditsworth G.R., Schults D.W., Lamberson, J.O., 1985. Sediment toxicity to a marine infaunal amphipod: cadmium and its interaction with sewage sludge. *Marine environmental research* 18(2), 133-153.

Trayanova A., Moncheva S., Doncheva V., 2007. Macrozoobenthic communities as a tool for assessment the ecological status of Varna lagoon. *Transitional Water Bulletin* 3, 33-36.

Warwick R.M., Clarke K.R. 1991. A comparison of some methods for analyzing change in benthic community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18: 63-80

Word J.Q., 1978. Classification of benthic invertebrates into infaunal trophic index feeding groups. *Southern California Coastal Research Annual Report*: 103-121.

Zettler M.L., Schiedek D., Bobertz B., 2007. Benthic biodiversity indices versus salinity gradient in the southern Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 55(1–6), 258–270.