DIATOMEE COME INDICATORI DEGLI ECOSISTEMI ACQUATICI DI TRANSIZIONE

Camilla Puccinelli
Reparto Qualità ambientale e ittiocoltura, Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

L'analisi delle comunità biologiche delle acque superficiali rappresenta uno degli elementi obbligatori della Direttiva Quadro sulle Acque 2000/60 (*Water Frame Directive*; WFD) (Comunità Europea, 2000). La Direttiva europea è infatti incentrata sugli elementi biologici presenti nei differenti livelli trofici dell'ecosistema: i produttori primari (alghe e macrofite) e i diversi livelli di consumatori (macroinvertebrati e pesci) a supporto dei quali sono riportati gli elementi chimico-fisici e idromorfologici.

Le Diatomee rappresentano uno dei gruppi di organismi utilizzati dalla WFD per l'identificazione dei gradienti di qualità ecologica delle acque superficiali. Esse sono diffuse ampiamente diffuse e rappresentano una delle principali componenti del fitobenthos che si sviluppano nei corpi d'acqua e del fitoplancton marino. Hanno caratteristiche biologiche ed ecologiche che le rendono buoni indicatori biologici di qualità delle acque e il loro uso è diffuso e ben sviluppato specialmente per la valutazione della qualità delle acque correnti (Prygiel *et al*., 1999). La biodiversità delle Diatomee costituisce un valido strumento per il monitoraggio della qualità generale delle acque e per la valutazione dello stato trofico o fenomeni più specifici come l'acidificazione (Prygel & Coste, 1995).

L'implementazione della Direttiva richiede quindi una estensione delle conoscenze sulla ecologia e la distribuzione delle specie di Diatomee al fine di fornire utili per l'identificazione delle comunità di riferimento per ogni tipo di corpo d'acqua, incluse le acque di transizione, zone umide, che rappresentano un elemento ecologicamente e funzionalmente significativo dell'ambiente acquatico (Comunità Europea, 2003). Infatti, sebbene le Diatomee di acqua dolce siano regolarmente usate come indicatori, molto poco è conosciuto riguardo l'autoecologia e le preferenze specie – specifiche per la salinità e i nutrienti di quelle che si sviluppano nelle acque di transizione.

Gli ecosistemi di transizione possono essere definiti come "paludi, acquitrini, torbiere, bacini naturali o artificiali con acqua stagnante o corrente, salmastra" (IUCN, 1971).

Si formano nelle zone costiere, in particolare nei tratti terminali dei fiumi, che trasportano l'acqua proveniente dal drenaggio continentale, dove le acque dolci si incontrano con le acque marine (Tomasino, 1995).

Dall'emanazione della Direttiva 2000/60/CE, le acque di transizione, ecosistemi trascurati e sottovalutati fino a poco prima, sono diventati oggetto di interesse da parte della comunità scientifica e istituzionale, essendo identificate come uno dei corpi idrici da tutelare e salvaguardare (Art. 1, Direttiva 2000/60/CE). Le acque di transizione sono definite: come "corpi idrici superficiali in prossimità della foce di un fiume, che sono parzialmente di natura salina a causa della loro vicinanza alle acque costiere, ma sostanzialmente influenzati dai flussi di acqua dolce" (Art. 2, Direttiva 2000/60/CE).

In questa definizione, vengono dunque compresi tutti gli ambienti di acque salmastra: l'elevata eterogeneità di questi ambienti ha sempre costituito un problema per una loro individuazione univoca e per gli interventi di tutela e salvaguardia (McLusky & Elliott, 2007;

Ferreira *et al.,* 2006; Tagliapietra *et al.,* 2006; Bricker, 2003). Nell'area geografica mediterranea questi ecosistemi sono stati distinti in acque correnti di transizione come gli estuari, e acque lentiche di transizione come laghi costieri e lagune (Basset *et al.,* 2006). Lo scopo di questo lavoro è stato quello di approfondire le conoscenze degli ecosistemi acquatici di transizione attraverso lo studio delle specie diatomiche e valutare la loro potenzialità come descrittrice ed indicatrice di tali ambienti.

Area di studio

Sono stati studiati 28 siti rappresentativi delle tipologie di acque di transizione presenti lungo la costa tirrenica di Lazio e Toscana (Figura 1). Sono stati individuati ecosistemi lotici di transizione come le foci di fiumi e di canali ed ecosistemi lentici di transizione come i laghi costieri.

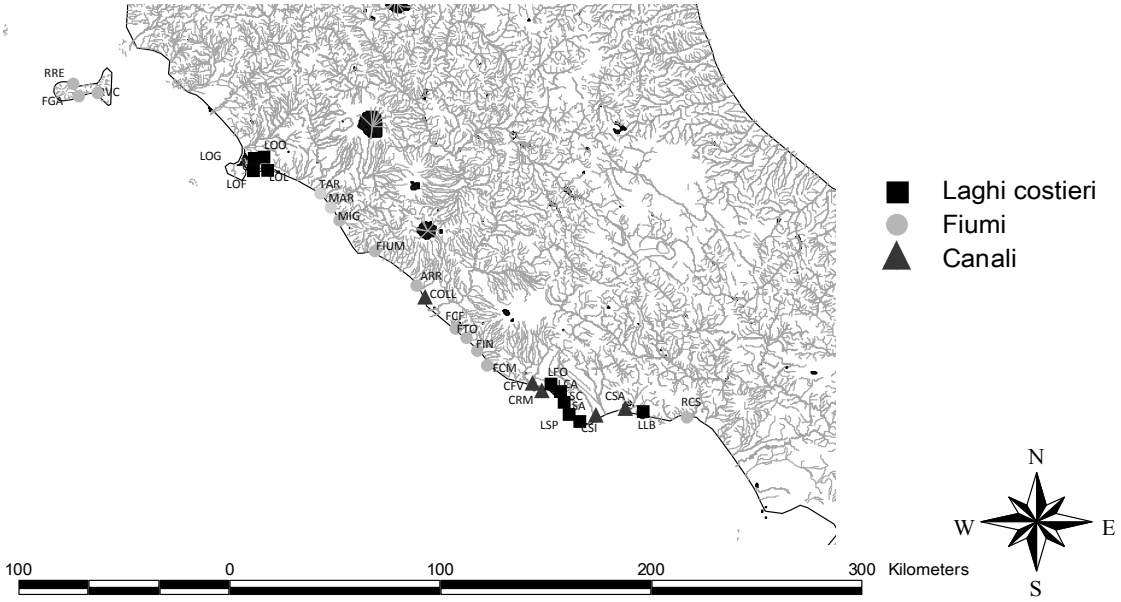

Figura 1. Area di studio e localizzazione delle stazioni di campionamento

Le foci fluviali caratterizzano il reticolo idrografico laziale; 10 estuari sono stati campionati a partire dal Rio Santa Croce in Provincia di Latina, al confine con la Campania fino al Torrente Arrone, in provincia di Viterbo. I rimanenti 3 ecosistemi lotici di transizione sono situati all'Isola d'Elba (Tabella 1).

Le foci dei canali artificiali oggetto di questo studio sono state cinque: 4 canali (il Canale Torre S. Anastasia, il Canale Sisto, il Rio Martino e il Canale Foce Verde nella Provincia di Latina) che sono stati creati in seguito alle opere di bonifica idraulica; e l'ultimo sito è il Collettore delle Acque Alte situato nel Comune di Fiumicino (Tabella 2).

La terza tipologia di acque di transizione presa in esame sono i laghi costieri. Sono stati selezionati 10 siti (Tabella 3) nei seguenti laghi costieri il Lago Lungo, i Laghi pontini di Sabaudia (3 stazioni), Fogliano e Caprolace e la Laguna di Orbetello (4 stazioni).

Tabella 1. Foci fluviali oggetto di studio

Codice	Nome
RSC	Rio Santa Croce
FCM	Fosso del Cavallo Morto
FIN	Fosso dell'Incastro
FTO	Fosso di Pratica di Mare
FCF	Fosso del Pantanello
ARR	Fiume Arrone
FIU	Rio Fiume
MIG	Fiume Mignone
MAR	Fiume Marta
TAR	Torrente Arrone
RVC	Rio Val dei Carpisi
RRE	Rio Redinoce
FGA	Fiume Galeo

Tabella 2. Foci dei canali artificiali oggetto di studio

Codice	Nome
CSA	Canale Torre S. Anastasia
CSI	Fiume Sisto
CRM	Canale Rio Martino
CFV	Canale Foce Verde
COL	Collettore Acque Alte

Tabella 3. Laghi costieri oggetto di studio

Codice	Nome
LLB	Lago Lungo
LSP	Lago di Sabaudia
LSA	Lago di Sabaudia
LSC	Lago di Sabaudia
LCA	Lago di Caprolace
LFO	Lago Fogliano
LOL	Laguna di Orbetello
LOF	Laguna di Orbetello
LOO	Laguna di Orbetello
LOG	Laguna di Orbetello

Materiali e metodi

Analisi delle comunità diatomiche

Il campionamento, il trattamento dei campioni e tutte le altre fasi del lavoro di laboratorio sono stati condotti in accordo alle vigenti norme europee (EN 13946, 2002; EN 14407, 2004). Le Diatomee epilitiche sono state campionate grattando con uno spazzolino a setole rigide substrati litici naturali, quali pietre e ciottoli, o artificiali duri, come pali di ponti e paratie di cemento. La raccolta delle diatomee epifitiche è stata effettuata invece grattando la superficie sommersa dei fusti delle macrofite emergenti costituenti il canneto, e spremendo e/o agitando in

un baecker parti di macrofite sommerse. Infine le forme epipeliche presenti sulla superficie litorale sono state campionate tramite una pipetta pasteur.

Al fine di osservare i frustuli delle Diatomee per l'identificazione, i campioni sono stati trattati usando perossido d'idrogeno (H_2O_2 al 30%) per eliminare la sostanza organica e acido cloridrico (HCl al 37%) per dissolvere i carbonati o utilizzando di HNO_3 al 65% e H_2SO_4 al 96%). Successivamente sono stati montati su vetrini con una resina ad elevato indice di rifrazione e in ogni campione sono state contate e identificate almeno 400 valve utilizzando un microscopio ottico (Nikon Optiphot-2) a 1000 ingrandimenti ad immersione.

Per l'identificazione fino a livello di specie, e quando possibile di varietà, è stato utilizzato un sistema di analisi delle immagini, costituito da una camera per microfotografia connessa al microscopio e ad un computer, e da un software, utilizzato per digitalizzare e analizzare le immagini dei frustuli delle diatomee. Le alghe sono state riconosciute al livello di specie utilizzando manuali di riconoscimento e articoli scientifici (Krammer & Lange-Bertalot, 1986; 1988; 1991a; 1991b; Round *et al*., 1990; Van Dam *et al*., 1994; Lange-Bertalot 2000; 2001; 2002; 2003; Witkowski *et al.,* 2000, Danielidis *et al.,* 2003).

Parametri ambientali a supporto

Parametri fisico-chimici come temperatura dell'acqua, conducibilità elettrica, pH e sono stati rilevati sul campo attraverso l'utilizzo di sonde portatili .

Sui campioni d'acqua, raccolti in bottiglie di vetro da un litro e conservate prima in frigoriferi portatili e successivamente a +4° C circa, sono state svolte analisi chimiche con l'ausilio di kit commerciali e di uno spettrofotometro. Le analisi hanno compreso la determinazione delle concentrazioni di: nitrati, ortofosfati, cloruri, ione ammonio, domanda chimica di ossigeno e domanda biologica di ossigeno.

Analisi dei dati

La struttura delle comunità diatomica e è stata analizzata attraverso metodi di Classificazione, o *Cluster Analysis*. Tale analisi multivariata permette di individuare, all'interno di un set di variabili, gruppi caratterizzati da una maggior omogeneità ed è stata eseguita attraverso la matrice di distanza di Bray e Curtis (Bray & Curtis, 1957). I dati ottenuti dalle analisi delle variabili ambientali e dai parametri chimici e chimico-fisici, e i dati ottenuti dall'identificazione delle comunità diatomiche sono stati trattati con l'analisi delle componenti principali (*Principal Component Analysis*, PCA). Per indagare sulla correlazione tra fattori abiotici e comunità diatomiche, le componenti principali ottenute dalle due PCA sono state analizzate attraverso l'Analisi della Correlazione Canonica.

Sono stati utilizzati i Software SASS 1.60 e PAST 2.05.

Risultati

Le tipologie di acque di transizione prese in considerazione sono tre: fiumi, canali artificiali e laghi costieri. Le foci naturali del Lazio sono guadabili con una profondità massima di 70 cm (fiume Arrone), sfociano in arenili sabbiosi che caratterizzano la granulometria del sedimento, ad eccezione del Fosso del Fiumicello che, sfocia in una spiaggia composta da massi e ciottoli e presenta un substrato limoso. I siti, Rio Santa Croce, Fosso del Cavallo Morto, Fiume Incastro,

sono caratterizzati dalla presenza di vegetazione riparia. Totale assenza di copertura macrofitica si riscontra nelle foci del Mignone, del Marta e del Torrente Arrone.

I canali artificiali presi in considerazione, Sant'Anastasia, Fiume Sisto, Canale delle Acque Alte e Canale Rio Martino non sono guadabili, presentano strutture portuali alle loro foci, con argini cementificati. Il Collettore delle Acque Alte, che nel suo tratto terminale è guadabile e naturale, è caratterizzato da un substrato limoso, sabbioso, privo di vegetazione riparia.

Le rive dei laghi costieri, Lago Lungo, Lago di Caprolace, la stazione sul Canale Catrattina del Lago di Sabaudia e la stazione sul Tombolo della Feniglia presentano un substrato limoso. Nelle stazioni rimanenti del Lago di Sabaudia, del Lago di Fogliano e della Laguna di Orbetello non è stato possibile l'accesso in acqua.

Sono state identificate un totale di 219 tra specie e varietà diatomiche; gli ecosistemi di transizione che presentano un maggior numero di specie 144, sono stati i fiumi, 74 specie sono state individuate nei canali e 76 nei laghi costieri.

I dati ottenuti dall'analisi delle comunità studiate sono stati classificati attraverso la *Cluster analysis* (Figura 2).

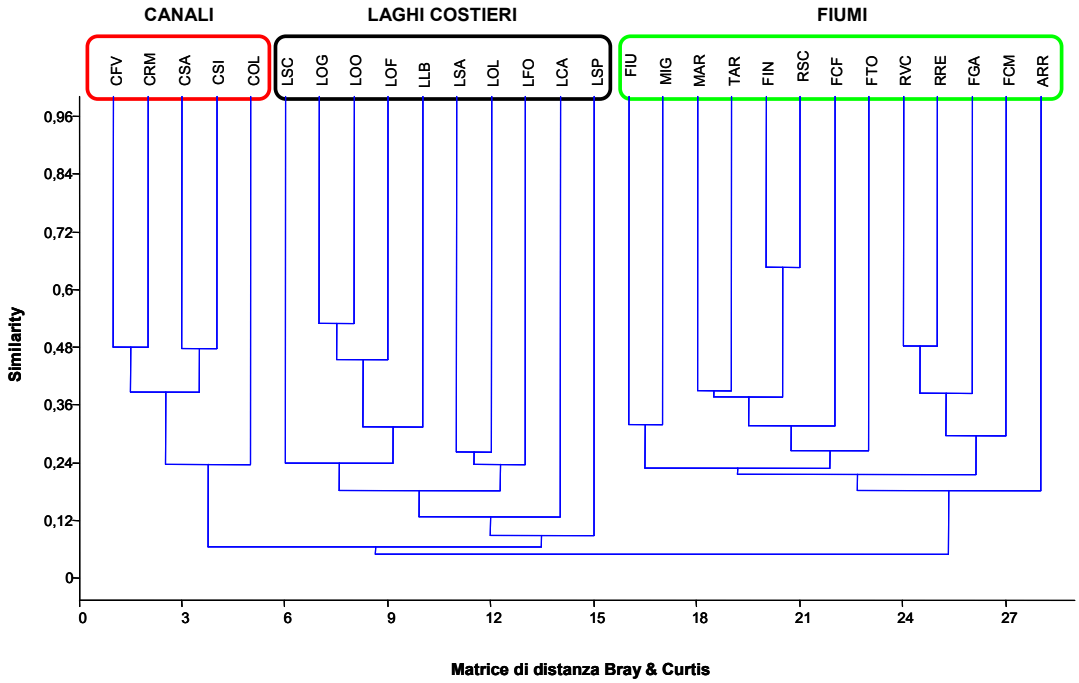

Figura 2. Cluster analysis effettuata sulla struttura delle comunità diatomiche utilizzando la matrice di similarità di Bray e Curtis

I dati dallo studio delle comunità diatomiche e dei parametri ambientali sono stati ordinati attraverso la PCA (Figure 3-4).

I dati delle componenti principali ottenute nelle PCA di fattori abiotici e comunità biologiche sono stati analizzati utilizzando l'Analisi Canonica delle Corrispondenze. Da tale analisi è stato possibile individuare i principali fattori abiotici (rappresentati dalla componente Pcc1) che influenzano le comunità diatomiche (rappresentate dalle componente Pcb1, Pcb4). In Tabella 4 vengono riportati i coefficienti di correlazione (Rho di Pearson) tra le principali componenti chimiche (Pcc) e quelle biologiche (Pcb).

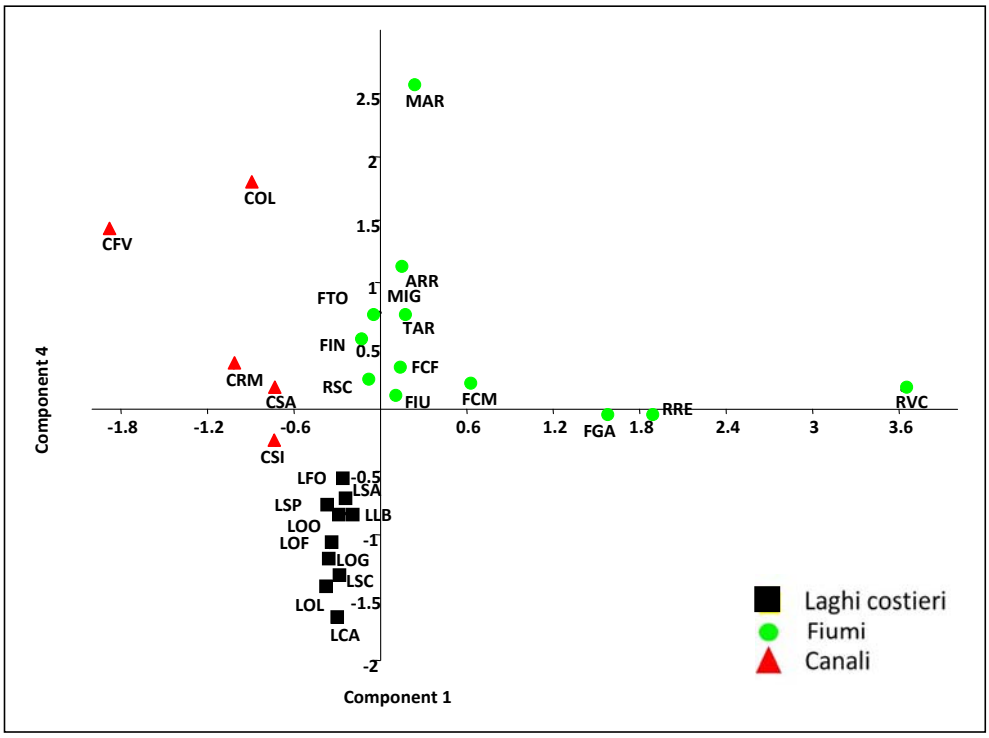

Figura 3. PCA effettuata sui dati di struttura delle comunità diatomiche (il primo asse spiega una varianza del 8,1% e il secondo asse del 7,2%)

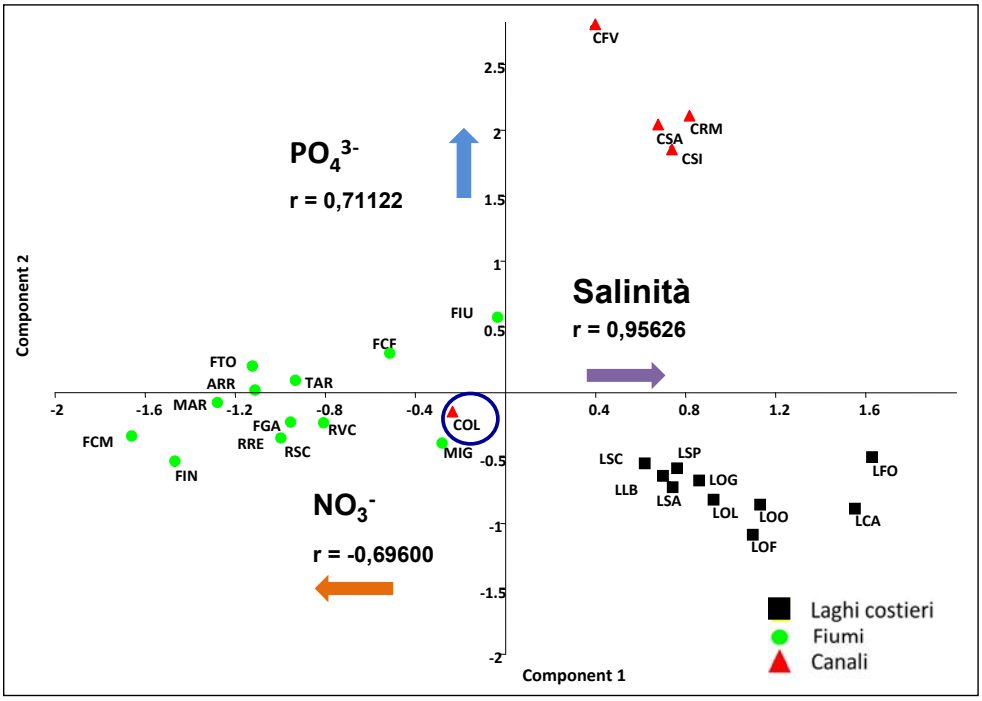

Figura 4. Analisi delle Componenti Principali svolta sulle variabili ambientali e chimiche e fisiche (il primo asse spiega il 41,82% della varianza e il secondo asse il 16,73%)

Tabella 4. Correlazione di Pearson tra le componenti principali ottenute dalle variabili chimico e chimico fisiche e le componenti principali ottenute dalle comunità diatomiche

	Pcb1	Pcb2	Pcb3	Pcb4	Pcb5	Pcb6	Pcb7
Pcc1	**-0,4439**	0,1135	0,0320	**-0,6999**	0,0777	0,1355	0,1355
Pcc2	0,1728	0,1615	0,3393	0,1874	0,0307	0,2009	-0,1140
Pcc3	-0,1372	0,1781	0,2737	0,0890	-0,5002	0,2393	-0,0314

I coefficienti di correlazione sono stati utilizzati come fattori della seguente equazione che permette di stimare la principale componente chimica 1 (Pcc1stim) da due delle principali componenti biologiche (Pcb1, Pcb4):

Pcc1stim = -0.4439*Pcb1 - 0.6999*Pcb4

È di seguito illustrata la correlazione tra la componente chimica 1 stimata e quella osservata. I siti si distribuiscono lungo in gradiente crescente di salinità e decrescente di nitrati (Figura 5).

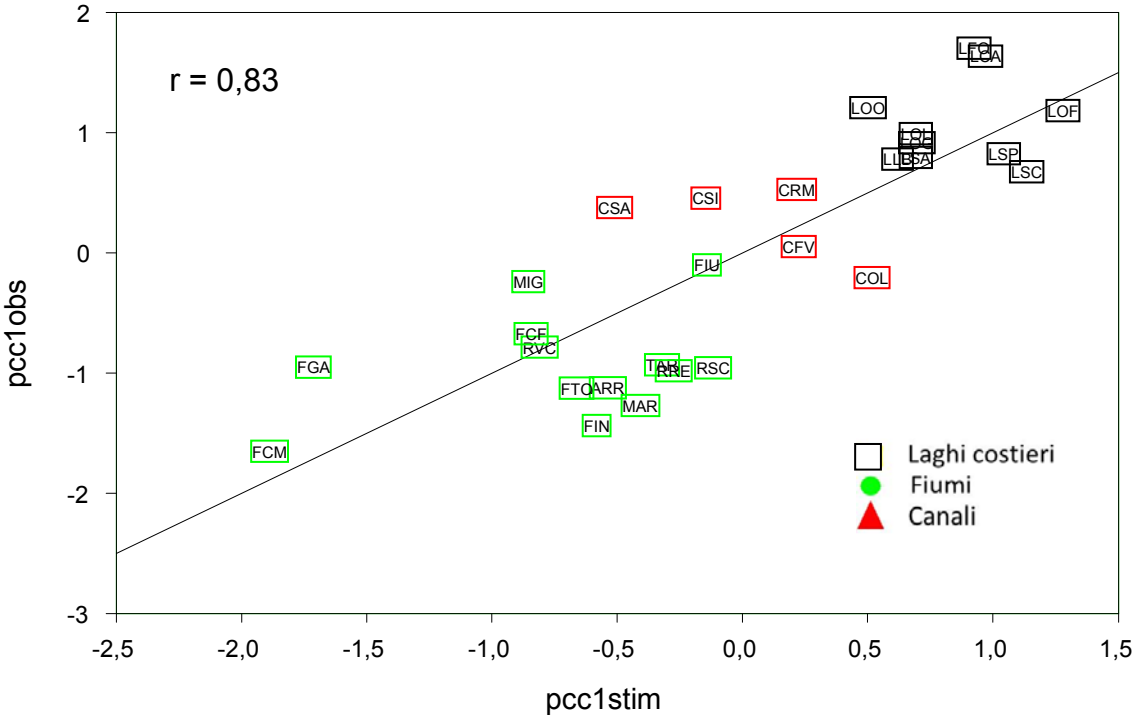

Figura 5. Relazione tra la prima componente chimica stimata a partire da Pcb1 e Pcb4 e la prima componente chimica osservata. R=0,83

I valori di Pcb1 e Pcb4 possono essere stimati utilizzando i coefficienti delle singole specie

Pcb1= coefficiente*abbondanza x - 0,3341

Pcb4= coefficiente*abbondanza x + 0,1363

x= specie presa in esame

Le specie correlate maggiormente con pcb1 sono *Fragilaria capucina* Desmazieres var. *capucina, Fragilaria biceps* Lange-Bertalot, *Surirella brebissonii* Krammer & Lange-Bertalot.

Quelle maggiormente correlate con pcb4 troviamo *Achnanthes brevipes* Agardh, *Amphora coffeaeformis* Agardh, *Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot, *Navicula recens* Lange-Bertalot.

Discussione

Sono state riconosciute più di 11.000 valve di diatomee, e identificate 219 tra specie e varietà, sia di acqua dolce che marina. Le conoscenze sull'ecologia di queste specie, si riferiscono principalmente a studi svolti sulle comunità di acqua dolce, in particolare dei corsi d'acqua.

Le specie di acqua dolce maggiormente ricorrenti in tutte le tre tipologie studiate, sono state: *Cocconeis placentula* Ehrenberg, *Nitzschia frustulum* Grunow, *Synedra fasciculata* Grunow. Studi effettuati sulla ecoregione mediterranea riportano la presenza di queste specie anche in ambienti salmastri (Trobajo, 2004; Miho & Witkowski, 2005; Fanuko & Valic, 2009). Sono state identificate in tutte e tre le tipologie studiate specie in grado di tollerare ampie variazioni di concentrazione di cloruri. In particolare: *Gomphonema parvulum* Kutzing, specie oligoalobia, che ha uno sviluppo ottimale a concentrazioni di cloruri compresi tra 50-200 mg/L è stata ritrovata nei fiumi, laghi costieri e canali; *Bacillaria paxillifera* Muller e *Craticula halophila*, specie βmeso-alobie, che hanno uno sviluppo ottimale a concentrazioni superiore a 500 mg/L, sono state ritrovate solo nei fiumi e nei canali, come anche *Cyclotella meneghiniana* Kutzing specie alofila, con un intervallo di tolleranza compreso tra 200 e 500 mg/L (Van Dam *et al.,* 1994; Dell'Uomo, 2004). Nei fiumi e nei canali sono risultate molto diffuse *Navicula veneta* Kutzing, *Navicula recens* Lange-Bertalot, *Luticola nivalis* Mann, *Eolimna minima* Lange-Bertalot, *Nitzschia amphibia* Grunow, specie caratteristiche di ambienti eutrofi. Un'unica specie *Achnanthidium minutissimum* Czarnecki, considerata poco tollerante all'inquinamento, è stata identificata nei fiumi oggetto di studio (Van dam *et al.,* 1994; Kelly *et al.,* 1995; Prygiel & Coste, 1999; Dell'Uomo, 2004).

L'assenza di specie che si sviluppa in ambienti reici, è quindi da attribuire alle caratteristiche naturali di questi ecosistemi e non dovuta a cause di origine antropica.

Le specie marine maggiormente identificate presenti nelle tre tipologie di acque di transizione studiate sono state *Amphora strigosa* Hustedt, *Brachysira aponina* Kutzing. *Delphineis surirella* Andrews. Nei canali e nei laghi costieri sono diffuse *Diploneis bombus* Ehrenberg e *Grammatophora marina* Kutzing. I laghi costieri sono caratterizzati dalla presenza di specie come *Cocconeis scutellum* Ehrenberg, *Lyrella Lira* Karayeva, *Navicula duerrenbergiana* Hustedt.

Hanno trovato in questa tipologia il loro habitat ottimale specie, appartenenti al genere Seminavis, identificato per la prima volta da Mann nel 1990 (Mann, 1990), per le quali non esiste ancora una conoscenza approfondita a livello di specie. Due autori hanno determinato due specie rispettivamente *Seminavis robusta* e *Seminavis barbara* (Witkowski *et al*., 2000; Danielidis *et al*., 2003).

In questo lavoro sono state ritrovate *Seminavis barbara* Witkowski e altre di specie non nota riportata in appendice come *Seminavis* sp.

La maggior parte di specie ritrovate sono classificate come tolleranti alle variazioni dei parametri ambientali: la scarsa velocità di corrente, l'elevato tasso di produttività primaria ed elevate concentrazioni di cloruri consentono lo sviluppo di organismi ad ampia valenza ecologica capaci di adattarsi a condizioni ambientali di transizione.

Nella *Cluster Analysis* effettuata con i dati delle abbondanze delle specie ritrovate (*vedi* Figura 2), si osserva una prima significativa divisione in funzione della salinità ovvero laghi costieri e canali con maggiore salinità da un lato, e fiumi oligoalini dall'altro. Un'ulteriore suddivisione si osserva all'interno dello stesso gruppo tra laghi costieri e canali. Uno dei principali motivi risiede nella diversa concentrazione di nutrienti nelle due tipologie in particolare, basse concentrazioni di nitrati e fosfati nei laghi costieri ed elevate nei canali; e alle caratteristiche idromorfologiche, lentiche nei primi e lotiche nei secondi. Dall'analisi delle componenti principali, si evidenziano raggruppamenti simili.

L'ordinamento ottenuto dalla PCA dei parametri ambientali, consente di distinguere le tre tipologie di acque di transizione investigate (*vedi* Figura 4). Tale distribuzione avviene sul primo asse che risulta correlato positivamente secondo un gradiente di salinità e negativamente con nitrati, e lungo il secondo asse seguendo un gradiente positivo di fosfati.

Tali risultati sono in accordo con quanto riportato in altri studi in merito alla distribuzione delle comunità lungo un gradiente di salinità e concentrazione di nutrienti (Admiraal & Peletier, 1980; Underwood *et al.,* 1998; Haubois *et al.,* 2005; Zalat & Vildary, 2005; Della Bella *et al.,* 2007; Puccinelli, 2007; Fanuko & Valic, 2009; Rovira *et al.,* 2009). Per questo gradiente è stato possibile creare un modello lineare, che consente di stimare i valori della componente chimica da quella biologica (Figura 5).

Conclusioni

I risultati hanno mostrato una stretta correlazione delle comunità diatomiche ai diversi fattori abiotici. Le diatomee hanno descritto l'estrema variabilità dei parametri ambientali che caratterizzano le foci fluviali in modo ottimale, rilevando per molti di questi situazioni compromesse. Per quanto riguarda i canali, che presentano sponde e alvei cementificati, le specie diatomiche sono risultate essere un valido strumento di descrizione della qualità della matrice acquosa. Non si è ottenuto lo stesso risultato negli ecosistemi lagunari, probabilmente attribuibile al minor numero di specie rinvenute nei siti studiati e alle scarse conoscenze sull' ecologia delle specie marine, che compongono queste comunità.

Questi risultati devono essere confrontati, a scala mediterranea, per valutare le migliori metodologie disponibili che renderebbero le comunità diatomiche degli ottimi descrittori del primo livello dello stato trofico di tutti gli ambienti acquatici di transizione.

Bibliografia

Admiraal W, Peletier H. Distribution of diatom species on an estuarine mud-flat and experimental analysis of the selective effect of stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 1980;46:157-75.

Basset A, Sabetta L, Fonnesu A, Mouillot D, Do Chi T, Viaroli P, Giordani G., Reizopoulou S, Abbiati M, Carrada GC. Typology in Mediterranean transitional waters: new challenges and perspectives. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 2006;16:441-55.

Bricker SB, Ferreira JG, Simas. T. An integrated methodology for assessment of estuarine trophic status. *Ecological Modelling* 2003;169:39-60.

Comunità Europea. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* L 327/1 del 22.12.2000.

Comunità Europea. *Implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document N12. Horizontal guidance on the role of wetlands in the Water Framework Directive, 17th December 2003*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. 2003

Danielidis DB, Mann DG. New species and new combinations in the genus Seminavis Mann 1990 (Bacillariophyta). *Diatom Research* 2003;18:21-39.

Dell'Uomo A. *L'Indice Diatomico di Eutrofizzazione/Polluzione (EPI-D) nel monitoraggio delle acque correnti. Linee Guida*. Roma: APAT, CTN AIM; 2004.

Della Bella V, Puccinelli C, Marcheggiani S, Mancini L. Benthic diatom communities and their relationship to water chemistry in wetlands of central Italy. *Annales de Limnologie International Journal of Limnology* 2007;43 (2):95-105.

EN 13946. Water quality. Guidance Standard for the routine sampling and pre-treatment of benthic diatom samples from rivers. Brussels: European Committee for Standardization; 2002.

EN 14407. Water quality. Guidance Standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. Brussels: European Committee for Standardization; 2004.

Fanuko N, Valčić M. Phytoplankton composition and biomass of the northern Adriatic lagoon of Stella Maris, Croatia. *Acta Botanica Croatica* 2009;68:29-44.

Ferreira G, Nobre AM, Simas TC, Silva MC, Newton A, Bricker SB, Wolff WJ, Stacey PE. Sequeira A. A methodology for defining homogeneous water bodies in estuaries e application to the transitional systems of the EU water Framework Directive. *Estuarine, Coastal & Shelf Science* 2006;66:468-82.

Haubois AG, Sylvestre F, Guarini JM, Richard P, Blanchard GF. Spatio-temporal structure of the epipelic diatom assemblage from an intertidal mudflat in Marennes- Oleron Bay, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 2005;64:385-94.

International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. *Convention on Wetlands of International Importance especially as Waterfowl Habitat. Ramsar (Iran).* IUCN; 1971.

Kelly MG, Cazaubon A, Coring E, Dell'Uomo A, Ector L, Goldsmith B, Guasch H, Hurlimann J, Jarlman A, Kawecka B, Kwandrans ., Laugaste R, Lindstrom E.A, Leitao M, Marvan P, Padisàk J, Pipp E, Prygiel J, Rott E, Sabater S, van Dam H, Vizinet J. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology* 1998;10:215-224.

Kelly MG, Whitton BA. The Trophic Diatom Index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *Journal of Applied Phycology* 1995; 7:433-44.

Krammer K, Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae 1 Teil: Naviculaceae In: Ettl H (Ed.). *Suβwasserflora von Mitteleuropea.* Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag; 1986.

Krammer K, Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae 2 Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In: Ettl H (Ed.) Suβwasserflora von Mitteleuropea. Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag; 1988.

Krammer K, Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae 3 Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In: Ettl H (Ed.). *Suβwasserflora von Mitteleuropea*. Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag; 1991°.

Krammer K, Lange-Bertalot H. Bacillariophyceae 4 Teil: Achnathaceae Kritische Erganzungen zu Navicula und Gomphonema In: Ettl H (Ed.). *Suβwasserflora von Mitteleuropea.* Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag; 1991b.

Krammer K. *Cymbella*. Ruggell: Gantner Verlag, 2002. (Diatoms of Europe: diatoms of the European inland waters and comparable habitats, Volume 3).

Krammer K. *Cymbopleura, Delicata, Navicymbula, Gomphocymbellopsis, Afrocymbella, Supplements to Cymbelloid taxa*. Ruggell: Gantner Verlag, 2003. (Diatoms of Europe: diatoms of the European inland waters and comparable habitats, Volume 4).

Krammer K. *The Genus Pinnularia*. Ruggell: Gantner Verlag, 2000. (Diatoms of Europe: diatoms of the European inland waters and comparable habitats, Volume 1).

Lange-Bertalot H. *Navicula sensu stricto, 10 Genera Separated from Navicula sensu stricto, Frustulia.* Ruggell: Gantner Verlag, 2000. (Diatoms of Europe: diatoms of the European inland waters and comparable habitats, Volume 2).

Mann DG. Description of Seminavis genera. In: *The diatoms: biology and morphology of the genera*. Cambridge: Cambridge University Press; 1990. p. 572-3.

McLusky DS, Elliott M. Transitional waters: A new approach, semantics or just muddying the waters? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 2007;71:359-63.

Miho A, Witkowski A. Diatom (Bacillariophyta) flora of Albanian coastal wetlands taxonomy and ecology: A review. *Process Californian. Academy Sciences* 2005;56:129-45.

Prygel J, Coste M. Les diatomées et le diagnostic de la qualité des eaux courants continentales: les principales méthodes indicielles. *Vie Milieu* 1995;45:179-86.

Prygiel J, Coste M. Progress in the use of diatoms for monitoring rivers in France. In: Prygiel J, Whitton BA, Bukowska J (Ed.). *Use of algae for monitoring rivers III.* Douai: Agence de l'Eau Artois-Picardie, 1999. p.165-79

Puccinelli C. Diatomee e macroinvetebrati delle zone umide e delle acque di transizione. [Tesi di Laurea]. Università degli Studi La Sapienza di Roma, 2007.

Round FE, Crawford RM, Mann DG (Ed.). *The diatoms: biology and morphology of the genera*. Cambridge: Cambridge University Press; 1990.

Rovira L, Trobajo R, Ibáñez C. Periphytic diatom community in a Mediterranean salt wedge estuary: the Ebro Estuary (NE Iberian Peninsula). *Acta botanica Croatica* 2009:68 (2):285-300.

Tagliapietra D, Volpi Ghirardini A. Notes on coastal lagoon typology in the light of the EU Water Framework Directive: Italy as a case study. *Aquatic conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 2006;16:457-67.

Tomasino M. Acque di transizione. In: Marchetti R (Ed.) *Ecologia applicata*. Biella: Società Italiana di Ecologia" Ed. CittàStudi; 1995, p. 151-76.

Trobajo R, Quintana XD, Sabater S. Factors affecting the periphytic diatom community in Mediterranean coastal wetlands (Empordà wetlands, NE Spain). *Archiv fur Hydrobiologie* 2004;160:375–399

Underwood GJC, Philips J, Saunders K. Distribution of estuarine benthic diatom species along salinity and nutrient gradients. *European Journal of Phycology* 1998;33:173-83.

Van Dam H, Mertens A, Sinkeldam J. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. Netherlands. *Journal of Aquatic Ecology* 1994;28:117-33.

Witkowski A, Lange-Bertalot H, Metzeltin D. *Diatom Flora Ofmarine Coasts I. Iconographia Diatomologica 7*. Rugell: A.R.G. Gantner Verlag K.G 2000.

Zalat A, Vildary SS. Distribution of diatom assemblages and their relationship to environmental variables in the surface sediments of three northern Egyptian lakes. *Journal of Paleolimnology* 2005;34:159-74.