

Consiglio Nazionale delle Ricerche

Istituto per lo Studio degli Ecosistemi

Università degli Studi di Sassari

Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale

Indice per la valutazione della qualità ecologica

dei bacini artificiali mediterranei (MedPTI)

a partire dalla composizione del fitoplancton

Documento presentato al

Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare



Verbania, Sassari, Roma

Marzo 2007

Autori del documento

Aldo Marchetto¹, Antonella Lugliè², Bachisio M. Padedda², Maria A. Mariani²

¹Istituto per lo Studio degli Ecosistemi-CNR, Verbania-Pallanza

²Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale, Sassari

Referente per il documento

Aldo Marchetto

CNR ISE

Largo Tonolli 50

28922 Verbania Pallanza

e-mail: a.marchetto@ise.cnr.it

Ringraziamenti

Un particolare ringraziamento va ai colleghi che hanno fornito il loro contributo in termini di suggerimenti, consigli e dati:

- Fabio Buzzi, Agenzia Regionale per la Protezione dell' Ambiente della Lombardia;
- Nico Salmaso, Istituto Agrario San Michele all' Adige (TN).

INDICE

1. INTRODUZIONE	4	
2. CAMPO DI APPLICAZIONE	6	
3. STATO DELL'ARTE	6	
4. FORMULAZIONE E UTILIZZO DELL'INDICE MedPTI	8	
5. DEFINIZIONE DELLE CONDIZIONI DI RIFERIMENTO E DEI LIMITI DI CLASSE ATTRAVERSO LA PROCEDURA DI INTERCALIBRAZIONE	10	
6. MODALITA' DI CALCOLO DEI VALORI TROFICI E DEI VALORI INDICATORI		10
7. CONCLUSIONI	12	
8. BIBLIOGRAFIA	13	
9. APPENDICE	14	

1. INTRODUZIONE

Secondo la Direttiva 2000/60/CE (WFD, Water Framework Directive), la valutazione della qualità ecologica dei corpi idrici deve essere ottenuta con l'uso di indici numerici costruiti a partire dai parametri biologici, confrontando il valore assunto nel sito in esame con quello di un sito di riferimento, attraverso il calcolo di un quoziente di qualità ecologica (Ecological quality ratio, EQR).

L'allegato 5, punto 1.4.1., stabilisce che *"per ciascuna categoria di acque superficiali, ogni Stato membro suddivide la gamma dei rapporti di qualità ecologica nel sistema di monitoraggio in cinque classi, che spaziano dallo stato ecologico elevato a quello cattivo, come definito al punto 1.2, assegnando un valore numerico a ciascuna delimitazione tra le classi. Il valore corrispondente alla delimitazione tra stato "elevato" e "buono" e quello tra stato "buono" e "sufficiente" sono fissati mediante l'operazione di intercalibrazione descritta in appresso"*.

I criteri per svolgere la procedura di intercalibrazione sono stati stabiliti in una riunione del gruppo di lavoro "Expert Drafting Group on Lakes" tenuta ad Ispra (VA) il 9-11 aprile 2002 a cui hanno partecipato Jim Bowman (Irlanda), Pertti Heinonen (Finlandia), Jose Ortiz-Casas (Spagna), Jochen Schaumburg (Germania), Geoff Phillips (Regno Unito), Anne-Lyche Solheim (Norvegia). In quest'ambito è stato deciso di svolgere un primo esercizio di intercalibrazione utilizzando il parametro biologico per cui sono disponibili le migliori informazioni ecologiche e per il quale il maggior numero di Paesi Europei dispone di un indice per la valutazione della qualità ecologica delle acque.

Per i laghi, i parametri biologici considerati sono stati la biomassa e la composizione del fitoplancton, considerando come pressioni antropiche significative l'eutrofizzazione e, limitatamente ai paesi nordici, l'acidificazione.

I laghi italiani sono stati compresi in due Gruppi Geografici di Intercalibrazione (GIG), denominati "Alpi" e "Mediterraneo".

Il secondo comprende i seguenti Paesi: Italia, Spagna, Portogallo, Francia, Romania, Bulgaria, Cipro e Grecia. In questo GIG, l'intercalibrazione ha riguardato due categorie di laghi:

- 1) bacini artificiali di profondità media superiore a 15 m, giacenti a quota inferiore ad 800 m s.l.m. su substrato calcareo, e dotati quindi di alcalinità superiore ad un meq l⁻¹. Questa tipologia, denominata "LM5/7" corrisponde al tipo 22 o ME-4 della tipologia italiana;
- 2) bacini artificiali di profondità media superiore a 15 m, giacenti a quota inferiore ad 800 m s.l.m. su substrato siliceo, e dotati quindi di alcalinità inferiore ad un meq l⁻¹. Questa tipologia, denominata "LM8" corrisponde al tipo 23 o ME-5 della tipologia italiana.

Durante lo svolgimento dell'esercizio è apparso evidente che nessuno dei Paesi mediterranei dispone di una metodologia per la valutazione della qualità ecologica dei laghi a partire dalla composizione del fitoplancton.

Per questa ragione è stata organizzata una campagna di campionamento ed analisi, al fine di ottenere informazioni sufficienti alla valutazione del possibile utilizzo di un certo numero di indici disponibili in letteratura.

Per l'Italia sono stati utilizzati dati raccolti dal Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale dell'Università degli Studi di Sassari in diverse campagne limnologiche che hanno riguardato

trenta bacini artificiali sardi (Sechi, 1986; Sechi & Luglio 1992, 1996).

Grazie a questa imponente massa di dati, è stato possibile porre in evidenza che nessuno degli indici proposti (Barbe, Brettum e Catalàn) permetteva di valutare correttamente la qualità ecologica dei bacini artificiali mediterranei italiani. Si è quindi deciso di sviluppare un indice specifico, sulla base dell'indice PTI (Phytoplankton Trophic Index) proposto da Salmaso *et al.* (2006) per i laghi dell'ecoregione alpina.

L'indice qui proposto è stato sottoposto alla procedura di intercalibrazione, per ottenere i valori dell'indice corrispondenti alle condizioni di riferimento e ai limiti tra le classi di qualità e quindi il rispettivo EQR.

2. CAMPO DI APPLICAZIONE

L'indice elaborato è stato calibrato ed è utilizzabile per valutare la qualità ecologica, riferita agli effetti dell'eutrofizzazione, della seguente tipologia di laghi:

laghi collocati a quota inferiore ad 800 m s.l.m. nell'Italia peninsulare ed insulare ad una latitudine inferiore a 44° Nord, aventi una profondità media superiore a 15 m, ed una conducibilità elettrica inferiore a 2,5 mS cm⁻¹. Questi corrispondono ai tipi 22 e 23 della tipologia italiana estesa, ME-4 e ME-5 della tipologia italiana semplificata e ai tipi L-M5, L-M7 e L-M8 definiti per l'esercizio di intercalibrazione nell'ambito della procedura di attuazione della Direttiva 2000/60/CE.

-

Non è esclusa la possibilità di utilizzare lo stesso indice per altri siti di acqua dolce dell'ecoregione Mediterranea, mentre non se ne prevede l'utilizzo per i siti salmastri e mesosalini, con conducibilità superiore alla soglia indicata, che ospitano una flora algale differente.

Per poter applicare l'indice è necessario che almeno il 70% del biovolume algale totale su base annua sia rappresentato dalla sommatoria della biomassa di specie rientranti nell'elenco della tabella 1.

Si ritiene infine opportuna una ricalibrazione dell'indice quando saranno disponibili i dati di monitoraggio estesi a tutto il territorio nazionale.

3. STATO DELL'ARTE

Nell'ambito dell'esercizio di intercalibrazione è stato possibile valutare quali indici siano utilizzati nei diversi Paesi europei per la valutazione della qualità ecologica delle acque a partire dal fitoplancton.

Esistono due tipologie generali di indici:

1) indici basati sulle esigenze trofiche di ogni specie:

per costruire questi indici viene valutata la frequenza del ritrovamento di ciascuna specie in acque a trofia differente, assegnando quindi ad ognuna di esse un valore trofico ed in alcuni casi anche un valore indicatore, che esprime quanto sia probabile trovare quella specie in ambienti diversi da quelli che corrispondono al suo valore trofico. La valutazione viene sempre ottenuta a partire da dati di campagna.

Avendo a disposizione una lista di specie con il loro valore trofico e il loro valore indicatore, diviene possibile stimare un indice per ciascun lago, come media dei valori trofici delle singole specie che lo popolano, ponderata sul biovolume delle specie (ed eventualmente sul valore indicatore).

Indici di questo tipo, ma denominati in modo diverso, sono utilizzati in Austria (Brettum index), Germania (PTSI), Regno Unito, Svezia (TPI) oltre al già citato PTI index proposto per i laghi profondi italiani da Salmaso *et al.* (2006).

La maggior parte di tali indici calcola il valore trofico e il valore indicatore di ogni specie a

partire da un certo numero di laghi (calibration data set) attraverso il metodo delle medie ponderate (ter Braak, 1987; Marchetto, 1994) o attraverso il punteggio ottenuto da ogni specie lungo l'asse che rappresenta la trofia in un ordinamento vincolato (Salmaso *et al.*, 2006). Fa eccezione l'indice di Brettum che utilizza la percentuale di frequenza di ritrovamento di ciascuna specie in laghi di 5 classi trofiche definite arbitrariamente (Brettum, 1989; Brettum & Anderson, 2005; Dokulil & Teubner, 2006). Numericamente più complesso, questo indice risulta però sostanzialmente simile agli altri.

In Olanda viene utilizzato un indice creato assegnando un valore trofico alle sole specie che formano fioriture algali, attribuendo poi al lago il punteggio relativo alla specie che fiorisce in acque a trofia più elevata.

- 2) indici basati sulla percentuale di biovolume di un gruppo algale, o sul rapporto tra i biovolumi totali di due gruppi algali o di due insiemi di gruppi algali:

questi indici, più semplici, permettono la valutazione della qualità delle acque anche in presenza di un minor livello di definizione tassonomica. Tuttavia essi sono meno precisi, in quanto in ciascun gruppo algale sono presenti specie con esigenze ecologiche molto diverse.

Indici di questo tipo sono utilizzati in Germania (unitamente al PTSI), in Svezia (unitamente al TPI) e in Spagna (indice di Catalàn, Agència Catalana de l'Aigua, 2003).

L'indice di Catalàn, calibrato sui bacini artificiali della Regione Autonoma della Catalogna, è stato proposto per l'intercalibrazione nel GIG Mediterraneo. Tuttavia, è parso evidente come tale indice non rispecchi la risposta delle alghe al gradiente trofico nei laghi italiani dai noi valutati (Marchetto *et al.*, 2006).

Pertanto, si è deciso di formulare un indice specifico per i laghi artificiali mediterranei italiani, e di sottoporlo alla procedura di intercalibrazione.

4. FORMULAZIONE E UTILIZZO DELL'INDICE MedPTI

L'indice MedPTI è stato costruito utilizzando il metodo delle medie ponderate a partire dai dati elencati in appendice A, secondo le modalità descritte nell'appendice B.

I dati necessari per calcolare l'indice per un lago di tipo 22 o 23 (ME-4 o ME-5) della tipologia italiana sono: biovolumi medi annui delle specie algali presenti in almeno 4 campioni mensili di fitoplancton prelevato come campione integrato sulla colonna d'acqua per tutto lo spessore dello strato fotico, stimato dalla superficie a 2,5 volte la profondità di scomparsa del disco di Secchi.

A partire dal biovolume medio annuo (b_k) di ogni k-esimo taxon presente nel campione, si calcoli la percentuale di biovolume (p_k) rappresentata da tale taxon sull'insieme di n taxa:



Si ricavi poi dalla tabella 1 il valore trofico (t_k) e il valore indicatore (i_k) di ciascuna specie, e si ottenga il valore dell'indice MedPTI per quel lago:



Si verifichi infine che la somma dei biovolumi utilizzati raggiunga almeno il 70% del totale. In caso contrario l'indice non è utilizzabile per quel sito.

In funzione di ulteriori dati, la tabella 1 potrà essere aggiornata con un numero maggiore di specie.

Tabella 1. Lista dei valori trofici (t) e dei valori indicatori (i) per i taxa utilizzati nel MedPTI

Taxon	t	i
Anabaena flos-aquae	3.9692	6.3203
Anabaena planctonica	3.7089	0.6281
Anabaena sp.	2.4039	3.6916
Anabaena spiroides	4.8111	2.9330
Ankistrodesmus falcatus	2.1598	3.7432
Ankistrodesmus sp.	2.0210	1.1434
Aphanizomenon flos-aquae	3.6059	1.1640
Aphanocapsa sp.	1.9522	4.9537
Aphanothece sp.	2.0289	17.1822
Aulacoseira ambigua	2.7260	0.4938
Aulacoseira distans	3.4643	2.3078
Aulacoseira granulata	2.1576	1.1565
Ceratium hirundinella/furcoides	2.3981	0.8807
Chlamydomonas sp.	1.1510	0.7925
Chlorella sp.	2.1254	1.3376
Chroomonas sp.	4.0423	1.5042
Closterium aciculare	1.9242	1.9156
Closterium gracile	3.9496	4.9535
Coelastrum sp.	2.9525	0.6471
Cryptomonas sp.	2.5159	0.9209
Cyclotella ocellata	1.9812	1.2749
Cyclotella sp.	2.2567	0.7527
Fragilaria crotonensis	1.8473	2.1641
Fragilaria sp.	2.1053	5.0442
Gemellificistis sp.	2.1241	1.5956
Gymnodinium sp.	2.2565	14.0913
Melosira sp.	2.6023	1.7918
Microcystis aeruginosa	4.1350	5.0214
Microcystis flos-aquae	4.1918	3.1266
Microcystis sp.	4.2386	1.8439
Oocystis sp.	3.7129	1.6773
Pandorina morum	1.6165	2.3222
Pediastrum simplex	1.7475	2.8182
Peridinium sp.	2.1656	4.7567
Planktothrix	2.0592	4.9871
"agardhii-rubescens"		
Oscillatoria Planktotrix sp.	3.4914	1.1498
Rhodomonas minuta	2.0993	4.6300
Scenedesmus sp.	2.6824	1.1373
Staurastrum gracile	2.0372	3.7215
Staurastrum sp.	2.3353	2.9713
Stephanodiscus hantzschii	4.0608	25.5218
Stephanodiscus sp.	4.1942	1.3426
Synedra sp.	2.0129	2.4398
Tetraedron minimum	2.7195	3.6225
Trachelomonas sp.	3.0754	0.5129
Woronichinia sp.	2.4497	1.3785

5. DEFINIZIONE DELLE CONDIZIONI DI RIFERIMENTO E DEI LIMITI DI CLASSE ATTRAVERSO LA PROCEDURA DI INTERCALIBRAZIONE

Nel corso della procedura di intercalibrazione, sono stati individuati un certo numero di siti di riferimento e di siti al limite tra le classi di qualità "good" e "moderate".

La definizione dei siti di riferimento si è basata sulla verifica dell'assenza o presenza trascurabile di fonti di inquinamento, mentre la collocazione al limite di classe è stata valutata a partire dalla legislazione vigente nei diversi Paesi partecipanti all'esercizio. Per i dettagli della procedura di selezione e di approvazione dei siti si rimanda ai documenti tecnici preparati dal Gruppo di Lavoro ECOSTAT/IC (EU 2003a, b).

Per l'Ecoregione Mediterranea sono stati individuati sia un certo numero di siti di riferimento che

dei siti collocati al limite tra le classi "good" e "moderate". Non per tutti erano però disponibili informazioni sui biovolumi di fitoplancton. Queste informazioni erano disponibili per 6 siti di riferimento (nessuno in Italia), e 23 siti collocati al limite di classe, dei quali due in Italia (Mulargia e Sos Canales, entrambi laghi artificiali della Sardegna).

In questi laghi è stata effettuata una campagna di campionamento ed analisi del fitoplancton con metodi armonizzati, con 4 prelievi a frequenza mensile nell'estate del 2005. I risultati della campagna sono stati utilizzati per calcolare per ciascuno di tali siti l'indice MedPTI. I valori risultanti sono riportati nell'appendice C.

Seguendo le indicazioni del GIG Mediterraneo, il valore di riferimento per l'indice MedPTI è stato individuato nel valore mediano dell'indice per i siti di riferimento. Tale valore risulta pari a 2.21

Sempre in base alle indicazioni del GIG, il limite tra le classi "good" e "moderate" è stato assunto pari al 95° percentile dei valori dei siti considerati al limite di classe, ed è risultato pari a 2.82. Il relativo Rapporto di Qualità Ecologica EQR risulta quindi pari a 0.78

Per la definizione degli altri limiti di classe, non disponendo di altri dati di supporto, si propone di utilizzare la tecnica delle ampiezze costanti delle classi (equal intervals). Di conseguenza, i limiti di classe e i relativi EQR divengono:

MedPTI = 2.51, EQR = 0.89 per il limite "high" – "good", valido solo per i laghi naturali

MedPTI = 2.82, EQR = 0.78 per il limite "good" – "moderate"

MedPTI = 3.13, EQR = 0.71 per il limite "moderate" - "bad"

MedPTI = 3.44, EQR = 0.64 per il limite "bad" – "poor"

Il limite di classe più importante, quello tra le classi di qualità "good" e "moderate", separa effettivamente i laghi in due gruppi ben differenziati di ambienti oligo-mesotrofi ed eutrofi: nella figura 1 si vede la buona risposta dell'indice MedPTI al gradiente trofico, rappresentato dalla concentrazione di fosforo totale. La linea orizzontale rappresenta il limite tra le classi di qualità "buona" e "moderata" e separa i due insiemi di laghi a trofia medio-bassa ed elevata. I laghi che mostrano un MedPTI maggiore della soglia hanno tutti concentrazioni di fosforo al di sopra di 60 $\mu\text{g l}^{-1}$, e sono quindi da considerarsi laghi decisamente eutrofi.

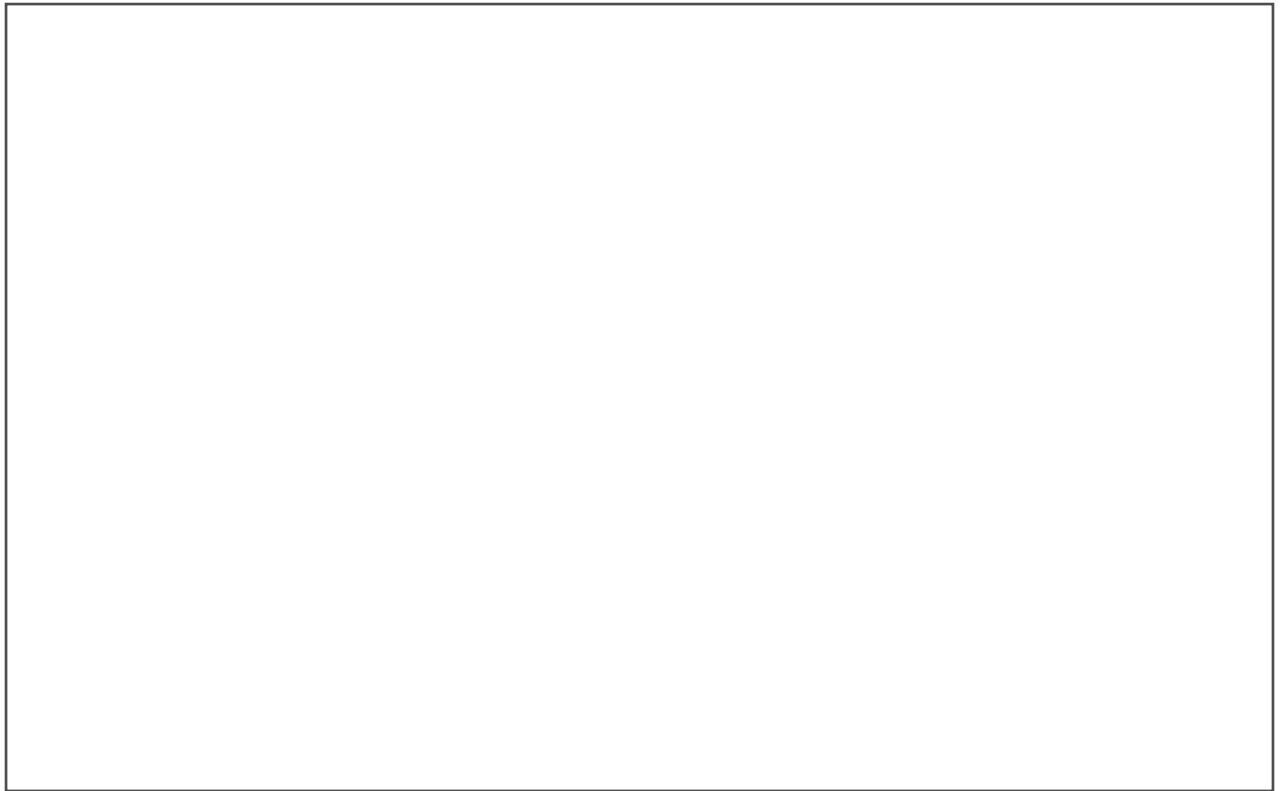


Fig. 1 – Relazione tra l'indice trofico MedPTI e la concentrazione media di fosforo totale nei laghi utilizzati per la calibrazione

LELLE BACHISIO potete verificare che la classificazione conseguente abbia senso:

SAN LUC	0.541054156
CED	0.54906251
OMO	0.549379678
COG	0.562377396
LIS	0.571059411
CUG	0.582689647
CAS	0.584954446
MON PRA	0.59159001

BUN ALT 0.632740221

BID 0.669634087

IS BAR 0.708774342

MON 0.893707546

TOR 0.915539789

PUN GEN 0.946694531

BAU PRE 0.950173103

MED FLU 0.962873928

FLU 0.963435209

SOS CAN 0.965693641

COR II 0.966437307

CUC 0.969333267

ALT FLU 0.983903975

GUS 0.985544314

COR III 0.999559837

BEN 1.01542952

MED ZIR 1.07105411

LEN 1.07921626

6. CONCLUSIONI

L'indice MedPTI risponde alla necessità di avere uno strumento per la valutazione ecologica della qualità dei laghi della parte peninsulare ed insulare dell'Italia, limitatamente alla tipologia 22 e 23 (ME-4, ME-5), e soddisfa quella di partecipare all'esercizio di intercalibrazione per definire le condizioni di riferimento e i limiti di classe.

Per le altre tipologie lacustri, sarà necessario sviluppare indici simili, e si consiglia di seguire strettamente il protocollo di definizione dell'indice descritto nell'Appendice B, in modo da avere indici confrontabili.

Questa definizione dell'indice non è, e non può essere, tuttavia definitiva, in quanto altre specie con esigenze ecologiche diverse possono apparire nei laghi mediterranei, o essere presenti in altri laghi non ancora esaminati. Pertanto la lista dei valori trofici e dei valori indicatori riportata nella tabella 1 andrà opportunamente aggiornata, anche in funzione dei dati generati dalle campagne di monitoraggio.

E' importante sottolineare che, trattandosi di un indice basato sulle specie, viene richiesto tale livello di determinazione tassonomica. Al momento, non esistono guide in italiano che consentano questa risoluzione, pur esistendo una consolidata bibliografia prevalentemente in tedesco, e in parte in inglese e francese. Ci sembra quindi rilevante segnalare questa carenza, e la necessità di prevedere a breve termine la stesura di guide di determinazione per le alghe delle acque italiane.

7. BIBLIOGRAFIA

- Agència Catalana de l'Aigua. 2003. *Caracterització Catalani propostes d'estudi dels embassaments catalans segons la Directiva 2000/60/CE del Parlament Europeu*. 212 pp.
- Brettum, P. 1989. Alger som indikatorer på Vannkvalitet i norske innsjøer Planteplankton. NIVA. Blindern, Oslo.
- Brettum, P., and Anderson, T., 2005. *The use of phytoplankton as indicators of water quality*. NIVA Report O-20032, 203 pp.
- Dokulil, M.T. & Teubner, K. 2006. Bewertung der Phytoplanktonstruktur stehender Gewässer gemäß der EU-Wasserrahmenrichtlinie: Der modifizierte Brettum-Index. - Dt. Ges. Limnol. (DGL), Tagungsbericht 2005 (Karlsruhe), 356-360, Werder 2006.
- EU WG 2.3 Refcond (2003a): *Guidance document no 10. River and lakes – Typology, reference conditions and classification systems. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC)*. Luxemburg.
- EU WG 2.5 Intercalibration (2003b):** *Guidance document no 6. Towards a guidance on establishment of the intercalibration network and the process on the intercalibration exercise. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC)*. Luxemburg
- Marchetto, A. 1994. Rescaling species optima obtained by weighted averaging. *J. Paleolimnol.*, 12: 155-162.
- Marchetto, A., Buzzi, F., Lugliè, A., Padedda, B., Mariani, M.A., Buscarinu, P. & Sechi, N. 2006. Confronto Tra Indici Di Qualita' Lacustre Basati Sul Fitoplancton Per L'applicazione Della Direttiva Quadro Europea Sulle Acque. *Atti XVII Congresso AIOL*, Napoli, 3-7 luglio 2006.
- Salmaso, N., Morabito, G., Buzzi, F., Garibaldi, L., Simona, M. and Mosello, R. 2006. Phytoplankton as an indicator of the water quality of the deep lakes south of the Alps. *Hydrobiologia*, 563: 167-187
- Sechi, N. 1986. Il problema dell'eutrofizzazione dei laghi. La situazione trofica degli invasi della Sardegna. *Boll. Soc. Sarda Sci. Nat.*, 25: 49-62.
- Sechi, N., and Lugliè, A. 1992. Limnological studies on man-made lakes in Sardinia (Italy). *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 50: 365-381.
- Sechi, N., and Lugliè, A. 1996. Phytoplankton in Sardinian reservoirs. *Giornale Botanico Italiano*, 130 (4-5-6): 977-994.

ter Braak, C.J.F. 1987. The analysis of vegetation-environment relationships by canonical correspondence analysis. *Vegetatio* 69:69-77.

Catalàn

APPENDICE B. Calcolo dei valori trofici e dei valori indicatori

Dati necessari:

biovolume di ogni taxon ottenuto a partire da un campione integrato lungo la colonna d'acqua per tutto lo strato fotico (2,5 volte la profondità di scomparsa del disco di Secchi), in almeno quattro campagne effettuate durante lo stesso anno (preferibilmente in estate).

Procedura:

1) calcolare il biovolume medio annuo ($b_{k,j}$) per ogni k -esima di n specie in ciascun j -esimo di m laghi. Disponendo di dati pluriennali per uno stesso lago, ogni anno si configura come una serie a sé stante, incrementando quindi il valore di m ;

2) calcolare il valore medio annuo della concentrazione di fosforo totale nella colonna d'acqua (P_j), o attraverso una media ponderata sugli spessori degli strati d'acqua in relazione ai livelli di prelievo o, direttamente, su campioni integrati. Nel caso dei laghi naturali, stratificati durante la stagione estiva, è più opportuno utilizzare la

concentrazione misurata nel solo strato trofico. Nel caso dei bacini artificiali è stato utilizzato il valore complessivo in quanto la stratificazione è spesso disturbata dalla presa d'acqua e dalle variazioni di livello

3) calcolare il logaritmo di tale concentrazione e scalare linearmente i valori ottenuti moltiplicandoli per 4 e sottraendo 3,7. Questa trasformazione permette di ottenere dei valori di MedPTI distribuiti approssimativamente tra 1 e 5:

Si tratta di una semplice trasformazione numerica utilizzata per far sì che l'indice MedPTI abbia un valore variabile nell'intervallo da 1 a 5.

4) calcolare per ogni j -esimo campione annuale il biovolume medio percentuale di ogni k -esima specie, secondo la relazione:

5) eliminare le specie che non raggiungono l'1% in almeno 3 dei campioni considerati. Se si tratta di più specie dello stesso genere, sommarle tra loro per avere un valore relativo al genere, e verificare se questa somma raggiunga eventualmente l'1% in almeno 3 dei campioni annuali;

6) terminata la selezione iterativa delle specie, eliminare i campioni per i quali le specie selezionate non rappresentino almeno il 70% del biovolume totale;

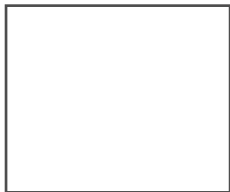
7) calcolare il valore trofico della k -esima specie (v_k) secondo la relazione:



8) calcolare per ogni campione e per ogni specie la differenza quadratica ($D_{k,j}$) tra il valore trofico della specie (v_k) e il valore logaritmico riscalato della concentrazione di fosforo (L_j):

$$D_{k,j} = (v_k - L_j)^2$$

9) il valori indicatore i_k è dato dall'inverso della media delle differenze quadratiche così calcolate, ponderata sui biovolumi:



Questa formulazione del valore indicatore, pari all'inverso del quadrato della tolleranza, è stata scelta per semplificare i calcoli successivi per la determinazione dell'indice per ogni singolo lago.

APPENDICE C. Laghi utilizzati per l'intercalibrazione
SITI AL LIMITE TRA LE CLASSI "GOOD" E "MODERATE"

SITI DI RIFERIMENTO

Lago	Paese	MedPTI
Tehniti Limni Tavropou	Grecia	2.26
Castelo de Bode	Portogallo	2.11
Salime	Spagna	2.21
Lefkara	Cipro	2.25
Arenós	Spagna	2.20
Eugui	Spagna	2.12
	Valore mediano:	2.21

Lago	Paese	MedPTI
Agavanzal	Spagna	2.25
Agueda	Spagna	2.35
Aguieira	Portogallo	2.12
Alto Lindoso	Portogallo	2.18
Asprokremmos	Cipro	2.24
Bao	Spagna	2.24
Caniçada	Portogallo	2.26
El Yeguas	Spagna	2.46
Fronhas	Portogallo	2.82
Guadalest	Spagna	2.36
Guadalmellato	Spagna	2.44
Kouris	Cipro	2.25
Loriguilla	Spagna	2.41
Maranhão	Portogallo	2.64
Monte da Rocha	Portogallo	2.60
Mulargia	Italia	2.33
Negratin	Spagna	2.30
Pálmaces	Spagna	3.00
Portodemouros	Spagna	2.28
San Esteban	Spagna	2.22
Sau	Spagna	2.67
Sos Canales	Italia	2.80
Talarn	Spagna	2.26
Valparaiso	Spagna	2.24
	95° percentile:	2.82