

## Apéndice 6.2.

# Métodos de muestreo y análisis de elementos de calidad biológicos en lagos y embalses

Diciembre 2015





## INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el Anexo V de la DMA, los elementos de calidad biológicos que se tuvieron en consideración fueron:

Elemento de calidad		Indicador		Masas de agua	
Biológicos	Fitoplancton		Clorofila a	mg/m <sup>3</sup>	Lagos y embalses
			Biovolumen	mm <sup>3</sup> /L	Lagos y embalses
			Índice de Grupos Algales (IGA)	-	Embalses
			Porcentaje de cianobacterias	%	Embalses
	Macrófitos		Abundancia	%	Lagos
			Presencia de taxones sensibles	Presencia/ Ausencia	Lagos
	Fauna bentónica de invertebrados	Microinvertebrados	Abundancia	Clases de abundancia (número de individuos por muestra)	Lagos
		Macroinvertebrados bentónicos	Abundancia	Clases de abundancia (número de individuos por muestra)	Lagos

## FITOPLANCTON

El fitoplancton se ha analizado en la red biológica de lagos y embalses, y en la red de control operativo (algunos lagos y embalses). Se han obtenido muestras de primavera y verano en los lagos, y de invierno y verano en los embalses.

### **Muestreo**

#### *Fitoplancton cualitativo (o fitoplancton de red)*

Es normalmente el fitoplancton con mayor valor indicador, pero no sirve para dar estimas cuantitativas. La muestra se obtiene mediante pescas de arrastre (superficiales y subsuperficiales) desde embarcación con red de plancton 35 µm de luz de paso, hasta obtener una masa densa. Ésta se dispone en viales debidamente rotulados y se fija con lugol.

### *Fitoplancton de recuento*

Está constituido por las fracciones de menor tamaño y sirve para estimas cuantitativas. El muestreo del fitoplancton de recuento se ha modificado a lo largo del proyecto, según lo siguiente:

- En los muestreos de 2006 y 2007 el fitoplancton cuantitativo y la clorofila “a” se estudiaban a partir de dos muestras recogidas en la zona subsuperficial y a la profundidad de 2,5 x Disco de Secchi, de acuerdo con las indicaciones del Pliego de Condiciones Técnicas de la Asistencia.
- A partir de 2008 el fitoplancton se analiza de una muestra integrada representativa de la zona fótica. La muestra integrada se compone de la mezcla de volúmenes iguales de agua recogidos metro a metro entre la superficie y la profundidad de 2,5 x Disco de Secchi.

Este cambio en la metodología de la toma de muestras se apoya en las directrices del MAGRAMA

Las muestras se fijan con lugol y se guardan protegidas de la luz

### *Pigmentos fotosintéticos*

Siguiendo el mismo patrón de muestreo que para el fitoplancton cuantitativo se obtuvieron muestras de agua para la determinación de la clorofila “a”. Las muestras se obtienen mediante la filtración *in situ* de volúmenes conocidos de agua. Los filtros se guardan congelados y protegidos de la luz hasta su procesado en el laboratorio.

## **Análisis**

Los análisis de las muestras se han realizado en el laboratorio de URS. Las muestras de fitoplancton cualitativo (de red) se observan con microscopio óptico directo y las del fitoplancton de recuento (muestras sedimentables) con microscopio invertido (método de Utermöhl: Norma CEN TC 230/WG 2/TG 3/N83). Las identificaciones han tenido en cuenta los manuales más recientes y habituales en este tipo de trabajos.

Para el cálculo del biovolumen se ha seguido lo indicado en la norma CEN TC 230/WG2/TG3 y en la publicación de Hillebrand *et al*<sup>1</sup>.

El laboratorio de URS ha obtenido acreditación de ENAC, según la norma UNE-EN ISO/ IEC 17025 para el análisis de fitoplancton en Julio de 2007 (ver acreditación y alcance en el Apéndice III.-7.)

---

<sup>1</sup> Hillebrand H., Dürselen C.D., Kirschtel D., Pollinger U. & Zohary T. 1999. Biovolumen calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.* 35, 403-424.

Respecto a la clorofila, los filtros se introdujeron en acetona al 90%, y tras realizada la extracción, se determinó la concentración con espectrofotómetro mediante la fórmula empírica de Lorenzen (1967)<sup>2</sup> y Jeffrey & Humprey (1975)<sup>3</sup>.

### **Indicadores**

Los análisis del fitoplancton han permitido obtener datos de:

- Composición: inventario de taxones determinados al nivel más detallado posible (género o especie).
- Abundancia: Recuentos de taxones (células/ml)
- Biomasa: Biovolumen de taxones (mm<sup>3</sup>/L) y concentración de pigmentos (Clorofila a en mg/m<sup>3</sup>).

### **Tratamiento de datos**

Los datos obtenidos se han recogido en fichas individuales por lago/embalse y campaña. En cada ficha se encuentra un listado de taxones con su respectiva abundancia (células/ml) y biomasa (mm<sup>3</sup>/L), y los valores totales del recuento y del biovolumen, junto con la concentración de la clorofila a. En base a estos datos se han calculado los siguientes índices y métricas:

#### **- Índice de Grupos Algales (IGA, InGA)**

Catalán *et al*<sup>4</sup> diseñan un índice de grupos algales para su aplicación en lagos alpinos y cársticos. Este índice relaciona la abundancia, expresada en biovolumen, de diferentes grupos del fitoplancton según la siguiente fórmula:

$$IGA = \frac{1 + 0.1 * Cr + Cc + 2 * (Dc + Chc) + 3 * Vc + 4 * Cia}{1 + 2 * (D + Cnc) + Chnc + Dnc}$$

Cr: Criptofitos

Cc: Crisófitos coloniales

Dc: Diatomeas coloniales

Chc: Clorococales coloniales

Vc: Volvocales coloniales

Cia: Cianobacterias

D: Dinoflagelados

Cnc: Crisófitos no coloniales

Chnc: Clorococales no coloniales

Dnc: Diatomeas no coloniales

<sup>2</sup> Lorenzen, M.W. (1980). Use of chlorophyll-Secchi disk relationships. *Limnol. Oceanogr.*, 25 (2): 371-372.

<sup>3</sup> Jeffrey, S.W. & G.F. Humprey (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 y c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 167: 191-194.

<sup>4</sup> Catalan *et al* 2003. Desenvolupament d'un índex integral de qualitat ecològica i regionalització ambiental dels sistemes lacustres de Catalunya

y se calcula en base a “proporciones de biovolumen de los grupos indicados” en TANTOS POR UNO, calculados respecto al sumatorio de los biovolúmenes de los grupos considerados en la fórmula. Por lo tanto están excluidos del cálculo los taxones que no se encuentren incluidos en los grupos de la fórmula.

En los protocolos de la Agencia Catalana de l'Aigua se incluye este índice si bien se usa el inverso (InGA)<sup>5</sup>

$$\text{InGA} = \frac{1 + 2 * (D + Cnc) + Chnc + Dnc}{1 + 0,1 * Cr + Cc + 2 * (Dc + Chc) + 3 * Vc + 4 * Cia}$$

#### Aplicación del IGA al cálculo del Potencial ecológico en embalses

En la Instrucción de Planificación Hidrológica (IPH) se requiere el uso del IGA para la valoración del potencial ecológico de los embalses, sin indicarse los detalles de su cálculo. Asimismo se presentan los valores del IGA representativas del “máximo potencial ecológico” para algunos de los tipos. Estos valores proceden de los resultados del ejercicio de intercalibración de lagos mediterráneos realizado por el CEDEX. Tras revisar el modo de cálculo se observan diferencias respecto a la versión original de Catalán: *las proporciones de biovolumen se expresan en porcentaje (no en tanto por uno) y están referidas al biovolumen total de la muestra (no al biovolumen de los grupos incluidos en la fórmula del índice).*

Luego teniendo en cuenta lo anterior, en la presente asistencia técnica se ha calculado:

- InGA versión ECOES (2006) en los lagos naturales. Esto ha permitido usar los valores de referencia para los lagos alpinos y cársticos existentes.
- IGA versión CEDEX en los embalses. Esto ha permitido usar los valores de máximo potencial ecológico existentes en la IPH.

#### - *Porcentaje de cianobacterias*

Se obtiene mediante el siguiente cálculo<sup>6</sup>

$$\% \text{Cianobacterias} = \frac{\text{BV Cianobacterias} - (\text{BV Croococales} + \text{BV Microcystis} + \text{BV Woronichinia})}{\text{BV total}} \times 100$$

Donde BV es el biovolumen de los taxones/grupos de cianobacterias indicadas.

Otra flora acuática: macrófitos

Los macrófitos se han analizado en los muestreos de red de vigilancia de lagos efectuados en 2006 y 2008. Asimismo se seleccionaron como indicador más sensible

<sup>5</sup> ECOES, 2006. Protocol d'avaluació de l'estat ecològic dels estanys. Agència Catalana de l'Aigua.

<sup>6</sup> C. De Hoyos comunicación personal

para los muestreos de la red de control operativo realizados en 2007. Se han tomado muestras en primavera y verano.

### **Muestreo**

Se tomaron muestras a pie a lo largo de la orilla de las cubetas lacustres. Las muestras se identificaron in situ, siempre que fue posible, o, en caso necesario, se conservaron con formaldehído al 4% o prensaron para su estudio en el laboratorio. En ocasiones se penetró en la masa de agua con embarcación y se extrajeron muestras del fondo mediante ganchos sujetos a cuerdas.

El muestreo se realizó siguiendo El protocolo de muestreo de otra flora acuática (macrofitas) en lagos recomendado por MAGRAMA

### **Análisis**

Las muestras no analizadas “in situ” se han determinado en el laboratorio usando los manuales taxonómicos específicos para cada grupo.

### **Indicadores**

El muestreo de macrófitos ha permitido obtener datos de:

- Composición específica de la comunidad
- Abundancia relativa de los taxones
- Identificación de taxones sensibles

### **Tratamiento de datos**

Los inventarios y coberturas de las especies se han incluido en las fichas de resultados. Se han calculado los siguientes índices:

- Cobertura macrofitos eutróficas
- Cobertura de especies exóticas de macrofitos
- Cobertura total de helófitos
- Cobertura total de hidrofitos
- Presencia/ausencia de hidrofitos

### **Fauna bentónica de invertebrados**

Éste elemento de calidad biológica se ha estudiado en la red de vigilancia de los lagos naturales, y se han analizado los microinvertebrados bentónicos y macroinvertebrados bentónicos del litoral.

## **Muestreo**

Los métodos de campo que se emplearon para determinar la composición y abundancia relativa de los grupos recolectados siguen diversas normas internacionales, las cuales garantizan la consistencia de los resultados:

- UNE-EN-ISO 5667-3: 1996. Calidad del agua. Muestreo. Parte 3: Guía para la conservación y manipulación de las muestras.
- UNE-EN 27828: 1995. Calidad del agua. Métodos de muestreo biológico. Guía para el muestreo manual con red de macroinvertebrados bénticos.
- Protocolo para el muestreo de invertebrados en lagos del MAGRAMA Microinvertebrados bénticos

Los microinvertebrados bénticos se muestrearon filtrando agua pasando un salabre de 100 µm de abertura de poro entre la vegetación, los sustratos sumergidos y resuspendiendo sedimento. El contenido del salabre se introdujo en un vial y se fijó con formol al 4%.

### **Macroinvertebrados**

Se recogieron muestras de los macroinvertebrados bénticos del litoral de los lagos filtrando agua con un salabre de 250 µm de abertura de poro, en sucesivas pasadas entre la vegetación, los sustratos sumergidos y resuspendiendo sedimento. El material que quedó retenido en la red se introdujo en un vial o recipiente adecuado y se fijó con formol al 4%.

## **Análisis**

Las muestras se han procesado en el laboratorio De los microinvertebrados se analizan los microcrustáceos (branquiópodos, copépodos y ostrácodos) que se han identificado hasta especie (excepto ostrácodos). Los macroinvertebrados se han identificado hasta familia o género (al menos en coleópteros y heterópteros con adultos disponibles).

## **Indicadores**

- Composición: inventario taxonómico
- Abundancia: Abundancia relativa de taxones

Índice de IBCAEL

### ***Índice IBCAEL***

Es el Índice de calidad del agua de ecosistemas lénticos someros elaborado para la determinación del estado ecológico de los sistemas lagunares someros aúna aspectos



de riqueza taxonómica con otros de abundancia. Este índice se compone de dos métricas: ABCO y RIC.

$$IBCAEL = (ABCO+1) * \log (RIC+1)$$

ABCO es un índice basado en la abundancia de branquiópodos, copépodos y ostrácodos, y RIC es una métrica basada en la riqueza de insectos y crustáceos.