

Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según la Directiva MARCO del Agua

Protocolos de muestreo y análisis para

INVERTEBRADOS BENTONICOS



OCTUBRE 2005



MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE

CONFEDERACIÓN
HIDROGRÁFICA
DEL EBRO

Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según la Directiva MARCO del Agua

Protocolos de muestreo y análisis para



Este protocolo ha sido realizado por la **Confederación Hidrográfica del Ebro** con la asistencia técnica de **URS** y la colaboración de:

Javier Alba - Tercedor. Universidad de Granada

Isabel Pardo. Universidad de Vigo

Narcís Prat. Universidad de Barcelona

Ana Pujante. Red Control S.L.Valencia

INTRODUCCIÓN	5
PARTE I: GENERALIDADES	
1. DEFINICIONES Y OBJETIVOS	9
2. VALOR INDICADOR DE LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS	9
3. MÉTRICAS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN BASADOS EN LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS	9
3.1. Ríos	9
3.1.1. Índices bióticos	9
3.1.2. Índices de diversidad	10
3.1.3. Método de clasificación y predicción RIVPACS	11
3.1.4. Método de la EPA (Barbour et al. 1999)	11
3.1.5. Método AQEM	11
3.2. Lagos y humedales	12
4. PROPUESTA DE MÉTRICAS PARA LA DEMARCACIÓN DEL EBRO	12
4.1. Ríos	13
4.1.1. Método IBMWP (protocolo Guadalmed modificado)	13
4.1.2. Método de evaluación con multimétricos	14
4.2. Lagos y humedales	14
5. DIRECTRICES PARA EL CONTROL DE VIGILANCIA Y CONTROL OPERATIVO EN BASE A LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS	14
5.1. Selección de las estaciones de control	15
5.1.1. Red de referencia	15
5.1.2. Control de vigilancia	15
5.1.3. Control operativo	16
5.2. Frecuencia de muestreo	16
PARTE II: PROTOCOLOS	
6. PROTOCOLO IBMWP	19
6.1. Introducción	19
6.2. Equipos y reactivos	19
6.3. Procedimientos de muestreo	19
6.3.1. Selección y caracterización de las estaciones de muestreo	19
6.3.2. Selección de los hábitats	19
6.3.3. Directrices para la toma de muestras	19
6.3.4. Limpieza de las muestras en el campo	21
6.4. Conservación y etiquetado de las muestras	22
6.5. Tratamiento de la muestra en el laboratorio	22
6.6. Cálculo de métricas	22
7. PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS DE RÍOS CON MULTIMÉTRICOS	22
7.1. Introducción	22
7.2. Equipos y reactivos	22
7.3. Procedimientos de muestreo	23
7.3.1. Selección y delimitación de las estaciones de muestreo	23
7.3.2. Caracterización de la estación de muestreo	23
7.3.3. Directrices para la toma de muestras	23
7.3.4. Limpieza de las muestras en el campo	24
7.4. Conservación y etiquetado de las muestras	24
7.5. Tratamiento de muestras en el laboratorio	26
7.6. Cálculo de métricas	26

8. MODIFICACIÓN DEL PROTOCOLO IBMWP CON MUESTREO BASADO EN LA EVALUACIÓN CON MULTIMÉTRICOS	27
9. PROTOCOLO PARA INVERTEBRADOS BENTÓNICOS DE LAGOS	27
9.1. Introducción	27
9.2. Equipos y reactivos	27
9.3. Proecimiento de muestreo	27
9.3.1. Selección y caracterización de las estaciones de muestreo	27
9.3.2. Directrices para la toma de muestras	28
9.3.3. Limpieza de las muestras en el campo	29
9.4. Conservación y etiquetado de las muestras	29
9.5. Tratamiento de las muestras en el laboratorio	29
9.6. Cálculo de métricas	30
10. PROTOCOLO GENERAL PARA EL MUESTREO Y MANIPULACIÓN DE INVERTEBRADOS BENTÓNICOS	30
10.1. Introducción	30
10.2. Equipos	30
10.2.1. Equipos de muestreo de invertebrados en ríos y lagos	30
10.2.2. Equipos para el tratamiento de muestras en el laboratorio	30
10.3. Conservantes	30
10.4. Etiquetado de las muestras	32
10.5. Transporte de las muestras	32
10.6. Tratamiento de las muestras e identificación de los invertebrados bentónicos	32
11. PROTOCOLO PARA CONTROL DE CALIDAD	32
11.1. Directrices para el control de la calidad en la toma y conservación de las muestras	34
11.2. Directrices para el control de la calidad en el laboratorio	35
11.3. Directrices para el control de calidad en el tratamiento de los datos	35
GLOSARIO Y BIBLIOGRAFÍA	37
APÉNDICE	49

INTRODUCCIÓN

La aplicación de la Directiva 2000/60/CE de la Unión Europea (Directiva Marco del Agua, DMA) y especialmente el desarrollo del Anexo V requiere la identificación de los elementos de calidad biológica, parámetros y métricas que permitan establecer el estado ecológico.

La Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE) ha abordado esta tarea a partir de la realización de las siguientes tareas:

- Selección de los elementos de calidad biológica, parámetros y métricas¹ más adecuados para establecer el estado ecológico en ríos y lagos.
- Identificación de directrices relativas a los elementos de calidad biológica y parámetros seleccionados que faciliten el diseño de las redes de control de vigilancia y control operativo².
- Elaboración de los protocolos de muestreo, identificación y cálculo de métricas.

Los elementos de calidad biológica inicialmente considerados para las categorías de ríos y lagos, de acuerdo con la DMA, son los siguientes:

ELEMENTOS DE CALIDAD BIOLÓGICA (AP. I. I. ANEXO V)	RÍOS	LAGOS
Composición, abundancia y biomasa del fitoplancton	–	■
Composición y abundancia de la flora acuática	■	■
Composición y abundancia de la fauna bentónica de invertebrados	■	■
Composición, abundancia y estructura de edades de la fauna íctica	■	■

Se considera prioritario que la elección de los parámetros y métricas de los elementos de calidad biológica y los procedimientos metodológicos para su aplicación surjan de los estudios que la comunidad científica ha realizado o está desarrollando en las cuencas ibéricas y del resto de Europa, y reflejen las directrices de los estándares europeos existentes (normas y pre-normas elaboradas por la Comisión Europea de Normalización). Con esto se persigue que los trabajos que se presentan sean reflejo de las tendencias metodológicas más recientes y de mayor seguimiento, y que su futura aplicación facilite la comparación de los resultados y el aprovechamiento (siempre que sea posible) de los datos históricos.

Como punto de partida la Confederación organizó unos Seminarios dedicados a: fitoplancton, fitobentos (microalgas), macrófitos, invertebrados bentónicos y peces. El objetivo de los seminarios fue la puesta en común de experiencias que permitieran avanzar en la definición de los grupos taxonómicos a considerar como parte de los elementos de calidad biológica para el establecimiento del estado ecológico, y la determinación de los métodos de muestreo y análisis más adecuados.

Este documento está dedicado al zoobentos constituido por los invertebrados acuáticos, visibles a simple vista, que habitan los sustratos sumergidos de ríos y lagos. Los contenidos incluyen las opiniones y datos recogidos durante la reunión de trabajo mantenida el 12 de noviembre de 2004, entre los expertos Javier Alba-Tercedor (Dep. Biología Animal y Ecología. Univ. de Granada), Isabel Pardo (Área de Ecología. Facultad de Ciencias. Univ. de Vigo), Narcís Prat (Dep. Ecología. Univ. de Barcelona), Ana Pujante (Red Control S.L. Valencia), y técnicos de la CHE (L. Pinilla, V. Sancho-Tello, C. Durán, M. Pardos y J. Escoz), del Ministerio de Medio Ambiente (J. Ruza y A. Corrochano), del CEDEX (M. Toro) y de URS (M. Alonso, G. González y M. Real).

¹ En el documento se adoptan los siguientes términos y definiciones extraídos de la DMA y de las Guías de monitorización/*Monitoring guides* y ECOSTAT:

- Elementos de calidad biológica: incluye fitobentos, macrófitos, fitoplancton, fauna de invertebrados y peces.
- Parámetros: descriptores de los elementos de calidad biológica (composición, abundancia, presencia de taxones sensibles, etc...).
- Métricas: resultados de las mediciones de los parámetros (nº de taxones, diversidad de Shannon, % de taxones dominantes, diferentes índices, concentración de clorofila, índice de pigmentos, etc.)

² Los controles de vigilancia y operativos son requeridos por la DMA (art. 1.3.1 y 1.3.2) para conocer el estado inicial de las masas de agua y completar la evaluación de impacto, y como medidas de seguimiento temporal que permitan establecer los cambios a largo plazo debidos a condiciones naturales o por actividades antropogénicas (*control de vigilancia*), así como para determinar el estado de las masas de agua que se considere que no pueden cumplir sus objetivos medioambientales y para evaluar los cambios en el estado de dichas masas como resultado de los programas de medidas (*control operativo*).

La información obtenida en el Seminario se ha completado con datos obtenidos de fuentes bibliográficas cuyas referencias se indican en la memoria. La información se presenta según lo siguiente:

GENERALIDADES

- Definiciones.
 - Valor indicador del zoobentos ante las presiones fisicoquímicas e hidromorfológicas.
 - Métricas existentes.
- Propuesta de métricas para la cuenca del Ebro.
- Directrices para el control de vigilancia y control operativo relativos al zoobentos.
 - Ubicación de los puntos de control.
 - Frecuencia de muestreo.

PROTOCOLOS

- Protocolos para ríos.
 - Método para la aplicación del IBMWP.
 - Método de evaluación con multimétricos.
- Protocolos para lagos y humedales.
 - Muestreo litoral con red de mano.
 - Muestreo sobre tallos sumergidos (método Kornijow & Kairesalo).
- Protocolo general para la manipulación de muestras de invertebrados bentónicos.
- Protocolo de control de calidad.

La memoria incluye dos protocolos para el muestreo y análisis de muestras de zoobentos de ríos. El protocolo para ríos basado en la aplicación del IBMWP ha sido supervisado por **Javier Alba-Tercedor**, y el protocolo basado en la evaluación con multimétricos lo ha revisado **Isabel Pardo**. En ambos casos los expertos han proporcionado información y materiales (fotos, diagramas) para la elaboración de los procedimientos.



PARTE I. Generalidades

1. DEFINICIONES Y OBJETIVOS

El término *zoobentos* se refiere a la fauna de invertebrados que habita los sustratos sumergidos de los medios acuáticos. En el zoobentos se distinguen: *macroinvertebrados* y *microinvertebrados*.

Los macroinvertebrados³ son los invertebrados de un tamaño relativamente grande (visibles al ojo humano), no muy inferiores de 0,5 mm pero habitualmente mayores de 3 mm. Comprenden principalmente artrópodos (insectos, arácnidos y crustáceos) y dentro de éstos dominan los insectos (en especial sus formas larvianas); también se encuentran oligoquetos, hirudíneos y moluscos (y con menor frecuencia celentéreos, briozoos o platelmintos). Los macroinvertebrados son el grupo dominante en los ríos y también se encuentran en el litoral y fondos de lagos y humedales.

Los microinvertebrados agrupan a los invertebrados de menor tamaño (en general inferior a 1 mm) y forman parte de éstos protozoos, nemátodos, rotíferos, cladóceros, ostrácodos, copépodos e hidrácaros. Son especialmente importantes en lagos y humedales.

Este documento está dedicado a los macroinvertebrados bentónicos de aguas corrientes y de lagos, y a los microinvertebrados de lagos y humedales. Su objetivo es identificar y proponer métricas para el establecimiento del estado ecológico de las aguas fluyentes y estancadas de la cuenca del Ebro en aplicación de la Directiva 2000/60, así como establecer las directrices metodológicas para las operaciones de muestreo y análisis.

2. VALOR INDICADOR DE LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS

Los invertebrados bentónicos (y especialmente los macroinvertebrados) son uno de los grupos biológicos más ampliamente usados como indicadores de calidad del agua. Esto se debe a que integran muchas de las cualidades que se esperan de un indicador. Entre éstas, destaca su elevada diversidad y que estén representados diferentes taxones, con requerimientos ecológicos diferentes relacionados con las características hidromorfológicas (velocidad del agua, sustrato), fisicoquímicas y biológicas del medio acuático. En el ámbito de la aplicación de la DMA, los invertebrados bentónicos se consideran útiles para la detección y seguimiento de los siguientes tipos de presiones:

- **Presiones fisicoquímicas** relacionadas con:
 - contaminación térmica
 - cambios en la mineralización del agua
 - contaminación orgánica
 - eutrofización
 - contaminación por metales u otros contaminantes

- **Presiones hidromorfológicas** relacionadas con:
 - alteración del régimen de caudal / tasa de renovación
 - alteración de la morfología del lecho fluvial / lacustre

Una ventaja de los macroinvertebrados es que su muestreo es relativamente sencillo al igual que su identificación (sólo se requiere identificar a nivel de familia para algunas métricas). En el caso de los microinvertebrados bentónicos la identificación requiere un mayor esfuerzo (en general hay que determinar las especies).

Los invertebrados bentónicos indican alteraciones a medio y largo plazo, ya que sus especies poseen ciclos de vida entre menos de un mes hasta más de un año. Su valor indicador abarca un ámbito temporal intermedio que complementa el de otros elementos biológicos con tiempos de respuesta más cortos, como el fitobentos, o más largos, como los peces.

3. MÉTRICAS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN BASADOS EN LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS

Los invertebrados bentónicos forman parte de numerosos sistemas indicadores y métricas desarrollados especialmente en ríos y, en menor medida, en lagos y humedales. En los apartados siguientes se presentan algunos de los métodos de mayor difusión en Europa y en España.

3.1. RÍOS

El uso de los macroinvertebrados bentónicos para la vigilancia de la calidad de los ríos europeos es una práctica habitual desde hace décadas. Desde que se postuló el método de los Saprobios (Kolkwitz y Marson 1902), en el que se clasifican los organismos según su tolerancia a diversos grados de contaminación orgánica, han surgido un buen número de propuestas metodológicas. De éstas, algunas han sido adoptadas por las Agencias del agua de diferentes países europeos para los controles rutinarios de calidad (Hellawell, 1986; Ghetti y Bonazzi, 1981; De Pauw y Vanhoren, 1983; Rosenberg y Resh, 1993).

Una línea de trabajo ampliamente seguida ha sido la dirigida a la elaboración de índices bióticos; en otros casos se han analizado aspectos de la estructura de la comunidad de macroinvertebrados, a través de índices de diversidad, y también se han postulado modelos predictivos basados en las relaciones entre los factores medioambientales y la comunidad biológica de los ríos. Las métricas que surgen de estas líneas de trabajo se presentan en los apartados siguientes.

3.1.1. Índices bióticos

Los índices bióticos son herramientas de valoración de la calidad basados en la diferente respuesta de los organismos a las alteraciones del medio (grado de sen-

³ El término "macroinvertebrados" es una abstracción artificial sin implicaciones taxonómicas.

sibilidad o tolerancia). La mayoría de índices bióticos se han elaborado para usarlos en un área geográfica concreta y, posteriormente, se han adaptado a otras zonas adecuando las listas de taxones y los valores de sensibilidad. En general los índices bióticos precisan muestreos cualitativos o semicuantitativos.

Entre los índices bióticos más utilizados cabe citar los siguientes: **TBI** (*Trent biotic Index*; Woodiwis, 1964); **EBI** (*Extended Biotic Index*) (Woodiwis, 1978); **BS** (*Biotic Score*; Chandler, 1970), **BMWP** (*Biological Monitoring Working Party*) y **ASPT** (*Average Score per Taxon*) (National Water Council, 1981; Armitage et al., 1983) desarrollados para los ríos de Gran Bretaña; el índice **VeT** (Verneaux y Tuffery, 1967) para los ríos de Francia; **IBE** (*Indice biotico Estesio*; Ghetti y Bonazzi, 1981; Ghetti, 1997) para los ríos italianos; **BBI** (*Belgian Biotic Index*, De Pauw y Vanhooren, 1983) para los ríos de Bélgica, etc. Un resumen de las principales metodologías, así como sus relaciones puede verse en la siguiente figura.

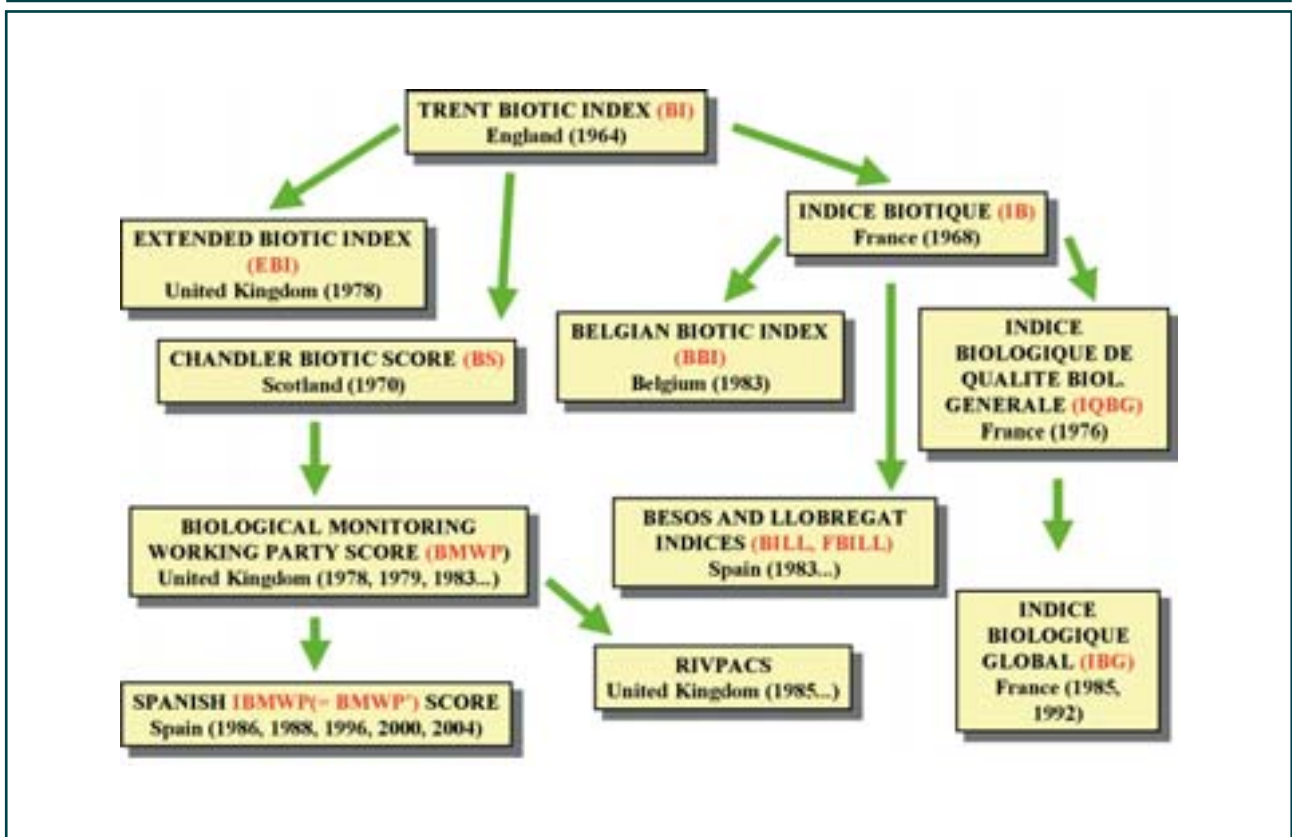
En España se han diseñado diferentes índices bióticos (Alba-Tercedor y Prat, 1992), entre los que cabe citar el **BILL** y **FBILL**⁴ (Prat et al., 1983, 1986, 2000) para los

ríos Besós y Llobregat, y otros ríos catalanes, el **Ib** para el Duero (García de Jalón y González del Tánago, 1986) y el **IBS** para el río Segre (Palau y Palomés, 1986). En 1988, Alba-Tercedor y Sánchez Ortega elaboran el índice **BMWP'** como resultado de la adaptación del índice británico BMWP a la fauna ibérica. Este índice es usado de forma extensiva en todo el territorio, y es adoptado como métrica de seguimiento biológico por la mayoría de las Confederaciones Hidrográficas y Agencias del Agua de España y Portugal. El BMWP' también se ha nombrado como SBMWP y finalmente ha tomado el nombre de **IBMWP** (*Iberian Biological Monitoring Working Party*) (Alba-Tercedor et al., 2004). Una versión de este índice adaptada a los ríos de Cataluña, usada por la Agencia Catalana del Agua, es el **BMWPC** (Benito de Santos y Puig García, 1999).

3.1.2. Índices de diversidad

La diversidad de la comunidad biológica es función del número de taxones y de la abundancia proporcional de las especies. La diversidad suele disminuir en ambientes alterados como resultado de la disminución del número

DESARROLLO DE LOS ÍNDICES BIÓTICOS MÁS EXTENDIDOS EN EUROPA (basado en Meltcafe, 1989)



Elaboración: J. Alba-Tercedor

⁴ El índice FBILL (Prat et al., 2000) es una modificación del índice BILL en el que el nivel taxonómico es la familia.

de taxones y la diferente distribución de la abundancia (unos pocos taxones muy abundantes). Existen diferentes expresiones para medir la diversidad; una de las más utilizadas es el índice de Shannon-Weaver (1963).

$$H' = - \sum p_i * \ln p_i$$

$$p_i = n_i / N$$

n_i = número individuos especie i

N = abundancia total

Otro índice de interés es el de Margalef (1958):

$$I = S - I / \log_e N$$

S = nº especies

N = Nº individuos muestra

El uso de los índices de diversidad requiere muestreos cuantitativos y, en general, se aplican a nivel de especie.

3.1.3. Método de clasificación y predicción RIVPACS

El método RIVPACS (*River Invertebrate Prediction and Classification System*) (Wright et al, 1985; 1989) se desarrolló en Gran Bretaña, a partir del estudio de la comunidad de macroinvertebrados existente en ríos inalterados o con ligeras alteraciones, y su correlación con las características medioambientales de la estación. Mediante un programa informático (TWINSPAN) se obtuvieron agrupaciones de especies propias de los diferentes tipos de ríos y mediante análisis estadístico discriminante (MDA) se relacionaron los grupos de especies con las características fisicoquímicas asociadas. El siguiente paso fue usar las características fisicoquímicas de una estación para predecir la composición de la comunidad de macroinvertebrados y la calidad biológica. Con ello se han podido desarrollar modelos que permiten predecir la comunidad de macroinvertebrados de un punto de un río, a partir de los parámetros fisicoquímicos del agua.

En España se han realizado experiencias de aplicación de RIVPACS en ríos de Galicia (Armitage, Pardo et al., 1990) y del levante peninsular (Pujante, Furse et al. 1999). El método puede adaptarse a diferentes grados de predicción, requiriendo estudios taxonómicos a nivel de familia, género o especie según el caso; así se ha aplicado el método usando el nivel de familia en ríos de Galicia con buenos resultados. Lo interesante de su posible aplicación a las cuencas ibéricas fue puesto de manifiesto por Alba-Tercedor y Pujante (2000), y en la actualidad, dentro del proyecto de GUADALMED-2, se está realizando una aproximación predictiva denominada MEDPACS de aplicación a las cuencas mediterráneas españolas.

3.1.4. Método de la EPA (Barbour et al. 1999)

La agencia de medioambiente de los EE.UU. (EPA, *Environmental Protection Agency*) desarrolló unos procedi-

mientos estandarizados para la evaluación de la calidad ecológica de ríos (*Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic macroinvertebrates and Fish* de Barbour et al. 1999). Entre éstos el dedicado a los macroinvertebrados bentónicos ha servido de base para el procedimiento de muestreo usado en algunos estudios. La aproximación al muestreo de hábitats múltiples no es un concepto nuevo pero está descrito en el *USEPA Rapid Bioassessment Protocols* (Barbour et al. 1999). El protocolo consiste en un procedimiento de muestreo multi-hábitat estandarizado de tipo semicuantitativo, cuya sensibilidad y precisión han sido ampliamente contrastadas (Barbour, Stribling y Verdonschot, en prensa).

El sistema de evaluación se basa en la combinación de distintas métricas en multimétricos que varían según la ecoregión. El procedimiento de evaluación multivariante es el indicado para reducir los errores en la evaluación, y su uso en el ámbito de la DMA es indicado puesto que se basa en unas directrices metodológicas similares.

Este protocolo de muestreo se ha aplicado en distintos estudios realizados para las administraciones públicas en España, para el desarrollo de sistemas de clasificación del estado ecológico, en base al componente de invertebrados bentónicos. Las experiencias se han realizado en: ríos del Norte de España (Confederación Hidrográfica del Norte), ríos de las cuencas internas de la comunidad autónoma gallega (ríos de Galicia-Costa), ríos temporales (Gobierno de las Islas Baleares) y ríos de la cuenca del Duero (Confederación Hidrográfica del Duero).

3.1.5. Método AQEM

El proyecto de la Unión Europea **AQEM** (*Assessment System for the Ecological Quality of Streams and Rivers*) desarrollado entre 2000 y 2002, tuvo como objetivo crear un instrumento de evaluación de la calidad de los ríos europeos basado en los macroinvertebrados bentónicos que cumpliera con los requisitos de la Directiva Marco del Agua. En el proyecto se obtuvieron y analizaron muestras de macroinvertebrados de 28 tipos de ríos europeos, siguiendo un procedimiento de muestreo multi-hábitat estandarizado de tipo semicuantitativo. Se analizaron las características ambientales de los ríos (morfología del río y de la cuenca, condiciones fisicoquímicas) y se evaluaron de forma independiente y para cada tipo de río, diferentes métricas con objeto de identificar las respuestas de éstas a la degradación del tramo fluvial.

Como resultado se obtuvo una lista de 9.557 taxones para los que se dispone de información autoecológica. Un programa informático permite calcular diferentes tipos de métricas basadas en los invertebrados bentónicos, y facilita la aplicación del sistema de evaluación. Éste programa se puede descargar de www.aqem.de.

El sistema de evaluación final comprende cinco clases de estado ecológico:

- 5= alto
- 4 = bueno
- 3= moderado
- 2= deficiente
- 1= malo.

Y además, en muchos casos, se obtiene información de las posibles causas de la degradación del tramo.

Esta metodología es muy interesante, desde el punto de vista conceptual, pero puede resultar algo complicada para su uso en las evaluaciones rutinarias del estado ecológico.

3.2. LAGOS Y HUMEDALES

Los indicadores de calidad biológica basados en los invertebrados bentónicos están menos desarrollados en lagos y humedales. En general se han usado los macroinvertebrados de los fondos (oligoquetos y quironómidos) como indicadores de eutrofia y en particular de las condiciones de oxigenación del hipolimnion. Esto se ha aplicado especialmente a los embalses en los que la comunidad litoral está poco representada debido a la fluctuación del nivel del agua.

En el caso de los lagos, la comunidad litoral se considera más adecuada para la determinación del estado ecológico ya que refleja no solo las presiones relacionadas con la calidad del agua y el estado trófico sino también las presiones hidromorfológicas. Las experiencias existentes en el ámbito de implantación de la DMA, en cuencas próximas a la del Ebro, utilizan métricas sencillas, como el número de taxones en la muestra (número de familias en el País Vasco), número de taxones⁵ para los lagos del Pirineo (ACA, 2003), o la relación entre las abundancias relativas de diferentes grupos faunísticos, etc.

En el proyecto ECOFRAME⁶ se analiza la comunidad de macroinvertebrados del litoral de los lagos mediante la toma de muestras en tallos sumergidos de macrófitos emergentes y en los sedimentos finos. Los organismos se determinan hasta familia (o grupo en el caso de los quironómidos) y se realizan recuentos a nivel de grupo (por ejemplo abundancia de oligoquetos y quironómidos, grupos de depredadores y no depredadores, etc.).

Los microcrustáceos y especialmente las asociaciones de branquiópodos (*Chydoridae*) (*assemblages*) pueden ser muy útiles para la determinación del estado ecológico de los lagos, ya que además de ser buenos indicadores dejan restos identificables en los sedimentos, lo que permite las reconstrucciones paleolimnológicas tan útiles para el establecimiento de las condiciones de referencia. La utilización de los quidóridos como indicadores cuenta con una experiencia previa realizada en

lagos someros de 10 países europeos incluida España (Eyto, et al. 2003).

El índice QAELS (*Índex de qualitat de l'aigua d'ecosistemes lenítics soms*) elaborado para la determinación del estado ecológico de los sistemas lagunares someros de Cataluña (ACA, 2004) aúna aspectos de riqueza taxonómica con otros de abundancia. Este índice se compone de dos métricas:

- ACCO basado en la abundancia de cladóceros, copépodos y ostrácodos

$$ACCO = \sum_{i=1}^j k_i \times n_i \quad n_i = N_i \div N_{tot}$$

- i* = taxones indicadores
- j* = número de taxones indicadores
- n_i* = abundancia relativa del taxón *i*
- N_i* = abundancia del taxón *i*
- N_{tot}* = suma de la abundancia de los taxones indicadores
- k_i* = valor de calidad del taxón *i* (se obtiene del análisis de PCA)

- RIC basado en la riqueza de insectos y crustáceos

$$RIC = N^{\circ} \text{ géneros de crustáceos} + N^{\circ} \text{ géneros de formas adultas de coleópteros y heterópteros} + N^{\circ} \text{ familias de larvas y pupas de insectos}$$

El índice QAELS responde a la siguiente fórmula:

$$QAELS = (ACCO + 1) * \log(RIC + 1)$$

Las puntuaciones se han separado en 5 categorías de calidad:

RANGOS DE LA CLASE DE CALIDAD	SIGNIFICADO
QAELS ≥ 8	I: calidad muy buena
6 ≤ QAELS < 8	II: calidad buena
4 ≤ QAELS < 6	III: calidad mediocre
2 ≤ QAELS < 4	IV: calidad deficiente
QAELS < 2	V: calidad mala

La aplicación de estos índices en la cuenca del Ebro, particularmente el ACCO requiere una adaptación ya que muchos de los tipos de masas de agua para los que ha sido concebido son diferentes a los de Cataluña.

4. PROPUESTA DE MÉTRICAS PARA LA DEMARCACIÓN DEL EBRO

Se recoge una propuesta de métricas basadas en los macroinvertebrados bentónicos para los ríos y lagos (en parte), y de métricas de microinvertebrados bentónicos para los lagos.

⁵ Los taxones considerados son: Turbellaria, Nematoda, Oligochaeta, Hirudinea, Gasteropoda, Bivalvia, Amphipoda, Odonata, Ephemeroptera, Plecoptera, Heteroptera, Megaloptera, Dytiscidae, Chironomidae y Trichoptera. La métrica usada (IndMacro) alcanza como máximo 15 puntos.

⁶ Moss et al. 2003. The determination of ecological status in shallow lakes – a tested system (ECOFRAME) for implementation of the European Water Framework Directive. *Aquatic Conservation. Marine and Freshwater Ecosystems*, 13: 507-549

4.1. RÍOS

Se recogen dos propuestas metodológicas para las que existen experiencias de aplicación en la Península Ibérica. Éstas son:

- Método del índice IBMWP, suscrito por J. Alba-Tercedor e incluido en la propuesta metodológica de GUADALMED.
- Método de evaluación con multimétricos, suscrito por I. Pardo.

No se propone el uso estricto de la metodología AQEM por tratarse de un método para el que no existe ninguna experiencia previa en España.

4.1.1. Método IBMWP

(protocolo Guadalmed modificado)

Requiere un muestreo de tipo cualitativo que incluya todas las familias de macroinvertebrados que habiten en el tramo en estudio (ver capítulo 6). El índice se obtiene

de la suma de las puntuaciones asignadas a la familias que se han identificado en la muestra (ver hoja de cálculo en apartado 6.3.7). La puntuación total del IBMWP varía entre 0 y >100 (en algunos ríos peninsulares se obtienen máximos superiores a 200 e incluso de 300).

Las puntuaciones del IBMWP se agrupan en cinco clases de calidad que inicialmente se han asimilado a los niveles del estado ecológico (según GUADALMED; ver Jáimez-Cuéllar *et al.*, 2004).

En la cuenca del Ebro se aplica el índice IBMWP en estaciones de la red RCVA (*Red de Control de Variables Ambientales*) desde 1993; y existe una base de datos que recoge toda la información generada (inventario de familias y puntuaciones del IBMWP). Tras el estudio de regionalización realizado por la Oficina de Planificación de la CHE, se reescalaron las puntuaciones del IBMWP para los 6 tipos de ríos identificados (Munné y Prat, 1999).

ESTADO ECOLÓGICO	CALIDAD	IBMWP
Muy Bueno	Buena. Aguas no contaminadas o no alteradas de modo sensible	≥ 101
Bueno	Aceptable. Son evidentes algunos efectos de contaminación	61 - 100
Aceptable (=Moderado)	Dudosa. Aguas contaminadas	36 - 60
Deficiente	Crítica. Aguas muy contaminadas	16 - 35
Malo	Muy crítica. Aguas fuertemente contaminadas	< 15

REESCALADO Y CLASES DE CALIDAD IBMWP								
Tipos CHE, 1988	M. Húmeda	Grandes Ríos		Depresión	Eje del Ebro	M. Mediterránea		A. montaña
Tipos CEDEX-CHE, 2004	M. húmeda calcárea	Ejes mediterráneo continentales mineralizados	Ejes mediterráneo continentales poco mineralizados	Ríos mineralizados de baja montaña mediterránea	Grandes ejes en ambiente mediterráneo	M. Med. calcárea	M. Med. sílicea	Alta montaña
Por confirmar con resultados de condiciones de referencia								
Muy Buena	> 100	> 65		> 90	> 110			
Buena	81 - 100	56 - 65		71 - 90	86 - 110			
Aceptable	61 - 80	41 - 55		55 - 70	66 - 85			
Deficiente	31 - 60	20 - 40		25 - 54	35 - 65			
Malo	< 30	< 20		< 25	< 35			



Sin embargo, son necesarios estudios adicionales que confirmen los rangos del IBMWP para los 8 tipos fluviales, finalmente identificados en la demarcación del Ebro, como resultado de la caracterización efectuada, según los criterios de la DMA. Asimismo hay que analizar si las bajas puntuaciones del IBMWP, que se obtienen en los tramos inferiores de los ríos, en general no vadeables y difíciles de muestrear, reflejan la realidad o deficiencias del muestreo.

En la actualidad se está calculando el IBMWP (siguiendo el procedimiento Guadalmed) en tramos fluviales identificados sin riesgo, según el análisis de presiones e impactos, y en otros cuyas condiciones ambientales son buenas (según indicadores de la estación de muestreo), y en los que podrían existir condiciones de referencia.

El procedimiento de muestreo del IBMWP en su origen (cuando se le denominaba BMWP) daba información cualitativa, y su aplicación no tenía en cuenta la abundancia. Como la DMA especifica la “abundancia” como parámetro descriptor de los elementos de calidad (artículo I.I.I. del Anexo V) se propuso realizar recuentos que permitan obtener la **abundancia relativa** de las familias en la muestra. Esta opción es la adoptada por Guadalmed para el estudio de las muestras procedentes de estaciones de referencia (ver Jáimez-Cuéllar, et al., 2004).

El tiempo estimado para la aplicación del índice IBMWP está generalmente comprendido entre 30' y 1 hora para la toma de la muestra, y de 2-4 horas para su tratamiento. Sin embargo esto depende mucho de las condiciones del tramo a estudiar y de la pericia de los operadores.

En el capítulo 6 se presentan los procedimientos de muestreo y tratamiento de la muestra.

4.1.2. Método de evaluación con multimétricos

Este método propuesto por Isabel Pardo está basado en los procedimientos de muestreo de Barbour et al (1999) (ver apartado 3.1.4.) y sigue una metodología de trabajo en laboratorio propia. Se ha usado en trabajos de aplicación de los criterios de la DMA, realizados para

la Confederación Hidrográfica del Norte, Comunidad Autónoma de Galicia, Gobierno de las Islas Baleares y Confederación Hidrográfica del Duero. No existen experiencias previas para los ríos de la demarcación del Ebro.

Se basa en un muestreo multihábitat semicuantitativo (20 kicks repartidos proporcionalmente entre los tipos de hábitats más frecuentes del tramo a analizar). La muestra se procesa en el laboratorio hasta el nivel más bajo posible; no obstante también se trabaja a nivel de familia, obteniéndose recuentos de la abundancia de los taxones referida al área de muestreo (20 kicks equivalen a 2,5 m²).

El tiempo estimado para la aplicación del método es de aproximadamente 30 minutos, según la dificultad del tramo, para la toma de la muestra, 2 horas y 30 minutos para la separación y recuento de la muestra por un operador de laboratorio y 2 horas de especialista para la identificación hasta familia.

Con la matriz de resultados se aplican diferentes métricas usando, en algunos casos el software de AQEM. Se utilizan sólo aquellas métricas del AQEM que corresponden a los niveles taxonómicos utilizados, familia o inferior (ver detalles en la descripción de las métricas y el nivel taxonómico requerido para su cálculo en el manual del software AQEM).

En el capítulo 8 se presentan los procedimientos de toma de muestras y análisis en el laboratorio.

4.2. LAGOS Y HUMEDALES

Para los ambientes lagunares de la demarcación del Ebro, se propone analizar los invertebrados bentónicos del litoral como elemento de calidad biológica, y para completar los diagnósticos debidos a otros elementos de calidad (flora). Las métricas a analizar serían el número de taxones, diversidad, abundancia relativa de grupos taxonómicos, etc.; también se propone adaptar el índice QAELS a la demarcación del Ebro.

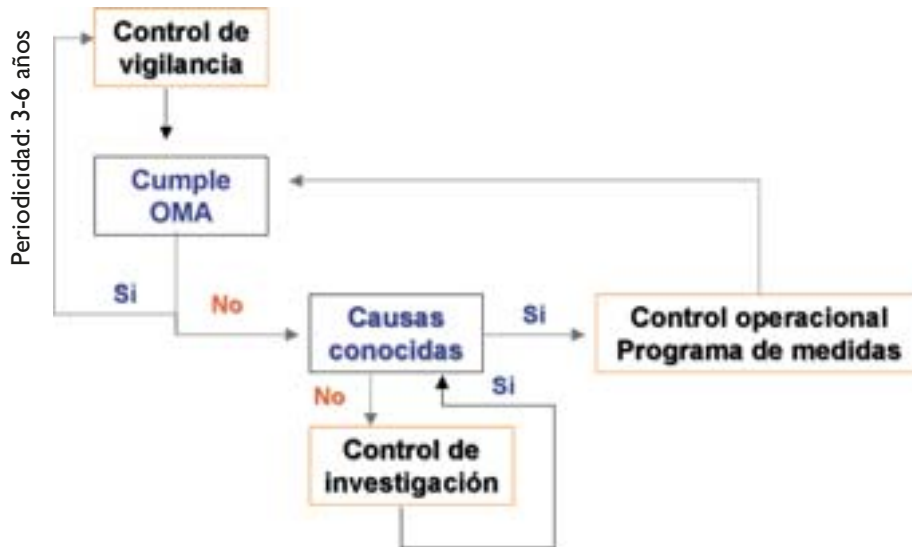
El tipo de muestreo y análisis de las muestras se presentan en el capítulo 9.

5. DIRECTRICES PARA EL CONTROL DE VIGILANCIA Y CONTROL OPERATIVO EN BASE A LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS

La DMA establece la puesta en marcha de programas de seguimiento que permitan el diagnóstico y el seguimiento del estado ecológico de las masas de agua. Estos programas se indican en el diagrama de la página siguiente.

Los objetivos de las redes de control de vigilancia y control operativo se indican en el cuadro de la página siguiente (según Anexo V apartados I.3.1. y I.3.2.).

En los apartados siguientes se indican las directrices a considerar para el uso del elemento de calidad biológica invertebrados bentónicos en las redes de control de vigilancia y control operativo.



CONTROL DE VIGILANCIA	CONTROL OPERATIVO
<ul style="list-style-type: none"> – Completar y aprobar el procedimiento de evaluación de impacto (análisis de presiones e impactos). – Contribuir al diseño eficaz de los futuros programas de vigilancia. – Evaluar los cambios a largo plazo en las condiciones naturales. – Evaluar los cambios a largo plazo resultantes de actividad antropogénica muy extendida. 	<ul style="list-style-type: none"> – Establecer el estado de las masas identificadas en riesgo de no cumplimiento de los objetivos medioambientales. – Evaluar los cambios que se produzcan en las aguas indicadas, como resultado de los programas de medidas.

5.1. SELECCIÓN DE LAS ESTACIONES DE CONTROL

5.1.1. Red de referencia

Se seleccionarán estaciones de referencia en los diferentes tipos de ríos y lagos, de acuerdo con el análisis de presiones e impactos. Se identificarán estaciones de máxima calidad biológica para los tipos que carezcan de estaciones de referencia. Para los embalses (masas fuertemente modificadas) se puede adoptar como criterio del buen potencial ecológico, el que no se supere un determinado nivel trófico, que variará en los diferentes tipos de embalses, o que podrá ser específico para un embalse concreto.

En la demarcación del Ebro están en marcha trabajos para la identificación y validación de estaciones de referencia en lagos y embalses.

5.1.2. Control de vigilancia

La red de control de vigilancia deberá estar integrada por suficientes masas de agua representativas de las condiciones de la demarcación tanto en lo relacionado con su tipología como con las presiones e impactos identificados.

En la demarcación del Ebro se han identificado 697 masas de agua fluviales y existen unas 500 estaciones en las que ya se ha efectuado muestreo de macroinverte-

brados. El número de estaciones podría ser suficiente (o bien incrementarse ligeramente); no obstante se requiere redefinir la red en función de la configuración de masas fluviales. Este trabajo está en fase de realización, y deberá tener en cuenta las siguientes directrices, en la ubicación de estaciones de muestreo:

- Procurar situar la estación en la zona media o al final de la masa de agua fluvial, evitando la cercanía de puntos de vertido directos y siempre fuera de la pluma de éstos.
- Analizar la posibilidad de establecer más de una estación en masas de agua muy extensas. La longitud media de las masas de agua fluviales de la cuenca del Ebro es de 19 km pero existen algunas masas de agua que alcanzan hasta los 80 km (Jalón, Piedra, Manubles). En estos casos se debería disponer de más de una estación de muestreo.

Para los lagos se han identificado 92 masas de agua. De éstas sólo un tipo (alta montaña septentrional, dimíctico, aguas ácidas) agrupa un número considerable de lagos (58), mientras que el resto de tipos están representados por 1 a 7 lagos. No existe ninguna red de vigilancia de lagos en la que se analicen los invertebrados bentónicos; sería deseable iniciar estudios en todos los lagos (34) que pertenecen a los diferentes tipos (excepto

montaña) y añadir a éstos una selección del grupo de lagos de montaña (5 o 6).

En el protocolo que se presenta en el capítulo 9, se indican las directrices para seleccionar las estaciones de muestreo y el número de muestras (apartado 9.3.1).

Para los embalses no se considera prioritario el análisis de los invertebrados bentónicos ya que los litorales, que serían los mejores indicadores, no se desarrollan a causa de la fluctuación del nivel del agua.

5.1.3. Control operativo

Las estaciones de control operativo deben cubrir todas las masas identificadas en riesgo de no cumplir los objetivos medioambientales. No obstante sólo se requiere el análisis de los parámetros indicadores de los elementos de calidad que indica la DMA, más sensibles a las presiones a las que esté sujeta la masa.

En los ríos, los macroinvertebrados bentónicos son adecuados para evaluar impactos a corto, medio y largo plazo derivados de la contaminación orgánica, y de presiones hidromorfológicas. En el apartado 7.3 se indican las directrices para la selección de las estaciones de muestreo.

En los lagos los microinvertebrados bentónicos (crustáceos) son adecuados para la evaluación de impactos a corto y medio plazo relacionados con la eutrofia, contaminación orgánica, cambios en la salinidad de las aguas, y tasa de renovación. Los macroinvertebrados bentónicos pueden usarse para evaluar impactos relacionados con la fluctuación del nivel del agua.

La localización de los puntos de control operativo referidos al uso de métricas basadas en los invertebrados bentónicos debe tener en cuenta que:

- debe permitir evaluar la magnitud e impacto de los procesos de contaminación orgánica y/o salinización de origen difuso y puntual,
- en caso de existir varios puntos de contaminación puntual, los puntos de control se situarán de modo que sean representativos de la magnitud y el impacto del conjunto.

5.2. FRECUENCIA DE MUESTREO

Periodo de muestreo

Sería deseable contar con muestreos estacionales para reflejar la temporalidad, no obstante en caso de sólo poder efectuarse un muestreo de macroinvertebrados bentónicos al año, éste se realizará en periodos favorables. Éstos comprenden la primavera y verano, épocas en las que la comunidad alcanza su máxima diversidad. No obstante la programación de los muestreos se ajustará a las condiciones climáticas específicas de los tipos de ríos y lagos.

Los periodos recomendados para los ríos son:

Ríos de alta montaña Ríos de montaña húmeda calcárea	Julio y Agosto
Ríos de montaña mediterránea silíceo Ríos de montaña mediterránea calcárea Ríos mineralizados de baja montaña mineralizada	Junio y Julio
Grandes Ejes en ambiente mediterráneo Ejes mediterráneo- continentales mineralizados Ejes mediterráneo continentales poco mineralizados	Julio, Agosto y Septiembre

Para los lagos, los periodos inicialmente recomendados, son:

Lagos de montaña	Agosto y Septiembre
Lagos cársticos	Julio y Agosto
Lagos llanura sedimentaria permanentes	Junio y Julio
Lagos llanura sedimentaria temporales	Noviembre y Mayo

Frecuencia de los controles de vigilancia y operativos

Según la DMA se debe realizar un control de vigilancia durante un periodo de un año dentro del periodo que abarque el plan de cuenca (6 años). No obstante en las primeras etapas de reconocimiento de la demarcación y durante los tres primeros años de funcionamiento de la red de control (2006 –2008) sería deseable una mayor frecuencia de muestreo (anual o bianual para un número seleccionado de estaciones). En etapas posteriores se recomienda realizar controles de vigilancia cada 3 años; no obstante se pueden programar los controles en años sucesivos para diferentes grupos de estaciones de muestreo.

La frecuencia de muestreo en los controles operativos se determinarán de forma específica para cada caso, y como mínimo será de 1 año.

PARTE II. Protocolos

Se han preparado de forma independiente los siguientes protocolos:

- **Protocolo IBMWP:** Incluye las directrices de muestreo, tratamiento de muestras e identificación de macroinvertebrados de ríos para la aplicación del índice IBMWP.
- **Protocolo de evaluación con MULTIMÉTRICOS:** Incluye las directrices de muestreo, tratamiento de muestras e identificación de macroinvertebrados de ríos para el cálculo de multimétricos (basado en el procedimiento de la EPA, Barbour *et al.* 1999).
- **Propuesta de modificación del protocolo IBMWP:** Incluye directrices del procedimiento de evaluación con MULTIMÉTRICOS para el muestreo.
- **Protocolo lagos:** Incluye directrices de muestreo y tratamiento de muestras de invertebrados bentónicos en lagos.
- **Protocolo general para invertebrados bentónicos:** Incluye directrices generales para la conservación y manipulación de muestras de invertebrados bentónicos.
- **Protocolo de calidad:** Incluye directrices para el control de la calidad.

6. PROTOCOLO IBMWP

6.1. INTRODUCCIÓN

Este protocolo incluye las directrices metodológicas a seguir para la aplicación del índice IBMWP para los objetivos y condiciones especificadas en el capítulo 4.1.1.

6.2. EQUIPOS Y REACTIVOS

Los equipos y reactivos a usar en las tareas especificadas en este protocolo se presentan en el apartado 10.

6.3. PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO

6.3.1. Selección y caracterización de las estaciones de muestreo

La estación de muestreo comprende un tramo fluvial representativo de la masa de agua a la que pertenece. Como norma general, el tramo de río a evaluar tendrá una longitud aproximada de 100 m. Este valor es orientativo dado que para aplicar el IBMWP según el procedimiento de Alba-Tercedor, la toma de muestras finaliza cuando ya no aparecen nuevos taxones en sucesivas redadas (ver apartado 6.3.3.1.).

Se evitará situar la estación de muestreo inmediatamente aguas abajo de perturbaciones (hidromorfológicas o fisicoquímicas); para ello se evaluará el alcance de éstas.

Es de gran importancia documentar las características de la estación de muestreo, y para ello se describirán los accesos, se dibujará un esquema de la situación de la estación de muestreo, y se indicarán las coordenadas geográficas medidas con un GPS). También se recomienda tomar fotografías (aguas arriba y abajo del tramo fluvial, y de detalle del sustrato).

6.3.2. Selección de los hábitats

Antes de iniciar el muestreo deben identificarse todos los hábitats existentes en el tramo. Estos hábitats se definen en base a diferentes combinaciones de profundidad (somero-profundo), velocidad del agua (rápida, mediana, lenta), naturaleza del sustrato (grandes rocas y guijarros, guijarros decimétricos, gravas, arenas y limos) y presencia de vegetación (hidrófitos o helófitos). Éstos son los siguientes:

- Sustrato duro y corriente fuerte (zonas lólicas) (1)
- Sustrato duro y corriente moderada-lenta (zonas leníticas) (2)
- Vegetación acuática emergida de los márgenes de los ríos (3)
- Macrófitos emergidos o macroalgas (4)
- Arena, grava o fango (5)

Para la aplicación del índice IBMWP es muy importante seleccionar un tramo de río que posea todos o la mayor parte de los tipos de hábitats indicados, lo que permitirá recoger la máxima diversidad de organismos.

6.3.3. Directrices para la toma de muestras

6.3.3.1. Ríos vadeables

Antes de iniciar el muestreo se deben localizar y capturar los animales esquivos que viven en la superficie como *Gyrinidae*, *Gerridae* o *Hydrometridae* ya que tratan de huir rápidamente y podrían pasar desapercibidos si no se lleva a cabo el muestreo de inmediato.

El muestreo debe empezar aguas abajo del final del tramo delimitado y proceder aguas arriba; esto es para evitar enturbiar el agua que todavía no ha sido muestreada, y sobretodo para evitar que los macroinvertebrados se dejen arrastrar por la corriente al detectar las vibraciones. Es recomendable vaciar periódicamente la red en bateas colocadas en las orillas, para evitar que la red se colmate, y los macroinvertebrados escapen de ellos arrastrados por la corriente.

El muestreo es cualitativo y, se realiza removiendo los sustratos previamente seleccionados con la mano y/o botas, colocando la red encarada a la corriente, en inmediatamente aguas abajo, realizando un movimiento oscilatorio de izquierda a derecha, con la red de mano (o salabre) (el tamaño de la malla recomendado es de 300 ó 500 μm ; ver apartado 10.2), con la finalidad de que los macroinvertebrados sean arrastrados por ésta y se amontonen en el fondo de la red.

En el esquema de la página siguiente se muestra la caracterización y selección de los hábitats a muestrear en la estación de muestreo.

La metodología de muestreo varía según el tipo de hábitat:

a. Sustratos duros

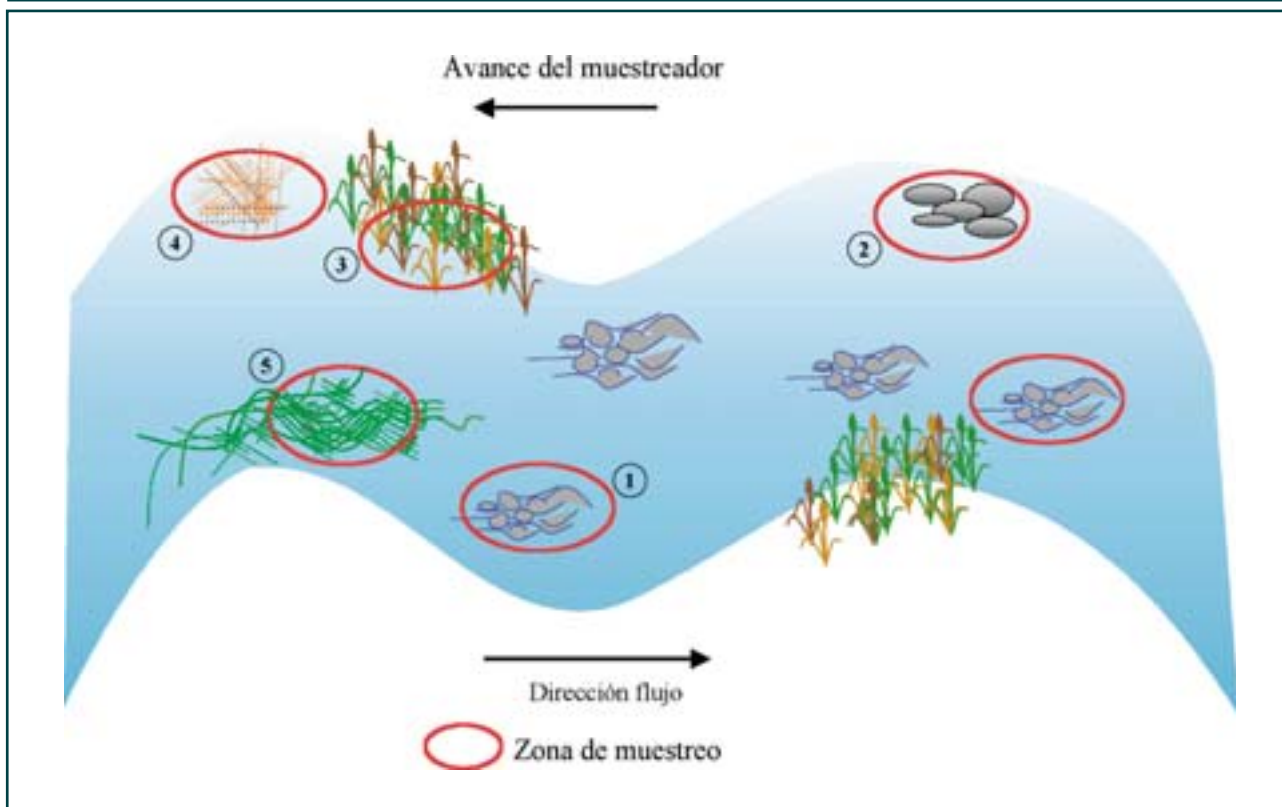
– Zonas reófilas (1):

En aguas **someras** (< 50 cm), se sitúa el salabre aguas abajo de la zona a muestrear (y de cara a la corriente) y se procede a remover y voltear los sustratos raspándolos con la mano; de este modo todos los organismos que se van despegando del sustrato son arrastrados por la corriente y se introducen en el salabre. Se examinan las piedras, y se retira cualquier taxón que aparezca adherido al sustrato, añadiéndose a la muestra. Se remueven los depósitos inferiores más finos para desalojar cualquier organismo. Si las piedras tienen un diámetro inferior a unos 10 cm, remover con los pies y recoger el material con la red a contracorriente.

En aguas vadeables **profundas** (50 cm a 1 m) en las que no sea posible un muestreo manual se realizará la misma operación con los pies (*kick sampling* según la terminología británica). El objetivo es remover al menos los primeros 10-15 cm de profundidad del sustrato.

Se repite este proceso en varias zonas lólicas a lo largo de la estación de muestreo hasta que nuevas redadas no aportan nuevas familias.

**TIPOLOGÍA DE HÁBITATS A MUESTREAR PARA LA APLICACIÓN DEL ÍNDICE IBMWP:
1. ZONAS LÓTICAS; 2. ZONAS LENÍTICAS; 3. VEGETACIÓN ACUÁTICA EMERGIDA; 4. ARENA, GRAVA O FANGO;
5. MACRÓFITOS O MACROALGAS.**



– Zonas leníticas (2):

En zonas de remanso o aguas arriba de azudes la corriente no introducirá los organismos en el salobre de modo que se procederá del modo que se especifica en el apartado anterior (i) pero removiendo intensamente el salobre para recoger todos los materiales suspendidos al remover el fondo. Si hay piedras en el sustrato, estas se retirarán cuidadosamente y se rasparán/limpiarán con la mano dentro de la red, asegurándose que ningún organismo haya quedado adherido a la piedra.

b. Vegetación acuática (3) y (4): Pasar el salobre entre la vegetación, raíces sumergidas y macrófitos existentes en la estación de muestreo, y mover el sustrato con la ayuda de las botas, recogiendo el material en suspensión y los organismos que queden adheridos a la vegetación.

c. Arena, grava o fango (5): Remover el fondo con las manos o con los pies en función de la profundidad y recoger con el salobre el material que se lleve la corriente o quede en suspensión.

Como ya se ha indicado, el material recogido se vaciará periódicamente en bateas blancas a las que se habrá añadido previamente agua. Esto evitará que la red de muestreo se colmate y que se pierdan organismos al ser arrastrados por la corriente (ver Alba-Tercedor, 1996).

Es importante limpiar la red con abundante agua después de cada muestreo para evitar la contaminación de las muestras entre los diferentes puntos. Especial cuidado hay que tener en desinfectar los equipos, cuando se ha muestreado en zonas bajas para no llevar organismos patógenos a las cabeceras (por ejemplo los tramos con presencia de *Procambarus clarkii* presentan el Oomiceto *Aphanomyces astaci*, que llevado accidentalmente a las cabeceras puede hacer desaparecer los relictos de las poblaciones del cangrejo autóctono (*Austropotamobius pallipes*). En los puntos de muestreo con presencia de mejillón cebra la desinfección de los aparejos deberá realizarse siguiendo las indicaciones de la CHE (ver www.chebro.es).

6.3.3.2. Ríos profundos (no vadeables)

En aguas profundas, estáticas o de corriente lenta, no vadeables, se recomienda el uso de sustratos artificiales para la determinación de la calidad del agua, mediante la aplicación del índice IBMWP.

Los resultados (en términos de inventario y especialmente en abundancia relativa de los taxones) pueden tener desviaciones importantes respecto a la comunidad del tramo, derivados de la diferente apetencia de los taxones por el sustrato artificial (puede favorecer a algunos). Es importante intentar reproducir los hábitats naturales, mezclando sustratos duros de diferentes granulometrías

TÉCNICAS DE MUESTREO DE INVERTEBRADOS BENTÓNICOS. MÉTODO DEL IBMWP



Muestreo de los diferentes hábitats fluviales existentes en la estación de muestreo hasta que no se observan nuevos taxones.

Examen de la muestra e identificación de las familias del IBMWP.

Conservación de parte o de la totalidad de la muestra para realizar el recuento de organismos y para finalizar el cálculo del IBMWP.

Fotos de J. Alba-Tercedor

y añadiendo haces de leña, fibras vegetales (estropajos), etc. (ver apartado 6.2.1.).

Se instalarán varias unidades de sustratos artificiales sumergidos en puntos del cauce, en general 4 sustratos, 2 en orillas y 2 en zonas lóxicas centrales. El tiempo de colonización se estima entre 25-30 días (Alba-Tercedor, 1996). La ubicación del sustrato artificial debe ser la apropiada para que no quede expuesto al aire, en época de sequía, ni sea manipulado en actos de vandalismo.

Otra opción de muestreo para los ríos profundos es el uso de dragas para la recolección de muestras de fondo. El principal inconveniente de este sistema es que está diseñado para sacar muestras de sustratos finos, y la presencia de rocas y piedras en el lecho (que se encuentran en la mayor parte de los tramos), impide su uso.

6.3.4. Limpieza de las muestras en el campo

A medida que se van tomando muestras en los diferentes hábitats de la estación de muestreo, se debe proceder a la limpieza de restos orgánicos e inorgánicos y a la identificación previa de los taxones, dado que el muestreo se prolonga hasta que no se observan nuevos taxones. El procedimiento es el siguiente:

- Retirar a mano las gravas, piedras y restos orgánicos en la misma red de mano.
- Poner la muestra o porciones de ella en una o varias bateas blancas con un poco de agua:
 - Retirar a mano las hojas y los restos más gruesos (vigilar que no queden organismos adheridos).

– Si la muestra contiene mucho limo, realizar sucesivos lavados filtrando en la red el sobrenadante. Repetir varias veces el procedimiento hasta que el sobrenadante sale suficientemente limpio. Debe tenerse cuidado que no queden moluscos y organismos pesados (tricópteros con estuche) entre la arena.

- Anotar en la hoja de campo del IBMWP (ver Apéndice) la presencia de los diferentes taxones que por su tamaño o características morfológicas no ofrecen dificultades de identificación, y conservar de 1 a 3 individuos de cada taxón. Anotar asimismo la presencia de taxones de gran movilidad observados durante la toma de muestras como ciertos heterópteros (Gérridos, népidos, hidrométidos).
- Tomar muestra de los taxones que por su pequeño tamaño o dificultades taxonómicas (como algunas familias de tricópteros, plecópteros, coleópteros, etc.) requieren su examen bajo el estereomicroscopio, en el laboratorio.

En el procedimiento inicial de IBMWP, la identificación de las familias de invertebrados bentónicos presentes en la muestra se realiza en el campo (excepto las dudas que se resuelven en el laboratorio). No obstante la experiencia extraída de la realización de campañas extensivas, demuestra que para este tipo de proyectos es más conveniente y fiable guardar la muestra para completar la separación e identificación en el laboratorio. Esto permite:

- Reducir el tiempo de permanencia en la estación de muestreo y por lo tanto los costes asociados a la realización del muestreo (la identificación en el campo requiere más días o más equipos trabajando en paralelo para completar la campaña dentro de una misma época del año).
- Asegurar que todos los taxones existentes en la muestra son incluidos en el inventario y se contabilizan en el índice. Esto es especialmente necesario en muestras con abundancia de algas filamentosas y/o restos vegetales muy fragmentados, cuyo análisis en el campo suele ser dificultoso.

En el caso de que se vayan a realizar recuentos para la estima de la abundancia relativa de los taxones, la muestra (o parte de ella) se conservará para su análisis posterior.

6.4. CONSERVACIÓN Y ETIQUETADO DE LAS MUESTRAS

Las muestras a conservar podrán ser de organismos previamente separados en el campo o bien de la totalidad del material recogido con la red de mano. En el primer caso los organismos se introducirán en viales de plástico o vidrio y se conservarán con alcohol etílico de 70°.

Para la conservación de muestras para la realización de recuentos y para completar la determinación del IBMWP en el laboratorio, se recomienda fijar la muestra con formaldehído (10%)⁷. Las directrices para la conservación y etiquetado de las muestras se presenta en los apartados 10.3. y 10.4.

6.5. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO

La muestra para recuento o para completar la determinación del IBMWP (en caso de que no se haya efectuado en su totalidad en el campo), se acaba de procesar en el laboratorio siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Vaciar el contenido de las muestras en un salabre de 300 µm ó 500 µm de diámetro de malla (según se haya usado uno u otro en el muestreo) y aclarar con abundante agua para eliminar los restos de conservantes (especialmente si se ha usado formaldehído). Realizar esta tarea en un lugar ventilado o usando una mascarilla. Extraer los restos vegetales y pequeñas piedras que hubieran quedado después de la limpieza previa en el campo (cuidar de que no tengan macroinvertebrados adheridos).
2. Homogeneizar la muestra en la bandeja.
3. Repartir la muestra entre diferentes placas de Petri.

4. Anotar la información más importante en la hoja de recuentos o en el programa de ordenador. La información mínima recomendada es: n° de muestra o submuestra, nombre del río, localidad y fecha de muestreo (ver hoja en Apéndice). Otras informaciones importantes es la fecha del recuento y el nombre del analista.

5. Separar e identificar hasta familia, o grupo taxonómico incluido en el IBMWP, todos los taxones diferentes existentes en la muestra.

6. Proceder al recuento (n° individuos) de los primeros **200 individuos** recogidos al azar (criterio Guadalmed, Bonada *et al.*, 2004⁸), o bien de la totalidad de la submuestra que corresponda al muestreo representativo de los hábitats (ver propuesta J. Alba en el capítulo 8); en el segundo caso puede ser necesario contar varias fracciones de la muestra convenientemente homogeneizada. Los resultados de los recuentos constituyen una estima de la abundancia relativa de los macroinvertebrados en la muestra.

6.6. CÁLCULO DE MÉTRICAS

Se calcularán las siguientes métricas:

- IBMWP (*Iberian Biological Monitoring Working Party*). En la hoja de cálculo adjunta se indican los taxones (familias en su mayoría) presentes en la muestra, y se obtiene el valor del índice IBMWP que es la suma de las puntuaciones asignadas a cada uno.
- ASPT (*Average Score per Taxon*). Se obtiene del cociente entre la puntuación del IBMWP y el número de taxones (usados para el cálculo del IBMWP).
- Taxones dominantes. En las muestras de recuento se identifican los grupos taxonómicos y taxones dominantes.

7. PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS DE RÍOS CON MULTIMÉTRICOS

7.1. INTRODUCCIÓN

El método que se presenta se debe a I. Pardo de la Universidad de Vigo, y está basado en el muestreo de hábitats múltiples (*multihabitat approach*), extensivamente utilizado por la Agencia de Medio Ambiente de los EE.UU. (EPA - Barbour *et al.*, 1999; Barbour, Stribling y Verdonschot. en prensa). La metodología de tratamiento de la muestra y de análisis de los resultados son propios.

7.2. EQUIPOS Y REACTIVOS

Los equipos y reactivos a usar en las tareas especificadas en este protocolo se presentan en el apartado 10.

⁷ Debido a la toxicidad del formaldehído la muestra puede conservarse con alcohol etílico de 70° pero en este caso no hay seguridad de que las muestras se puedan conservar por mucho tiempo.

⁸ El procedimiento de recuento según Bonada *et al.* (2004) consiste en contar 50 individuos al azar en la muestra homogeneizada; luego volver a homogeneizar la muestra y realizar otro recuento de 50 individuos, y así sucesivamente hasta completar **200** individuos. Este valor se ha obtenido analizando la variación del n° de familias y puntuación del índice IBMWP ante diferentes tamaños del recuento (100, 200, 300, 400, 500 y 600 individuos), y al observar que a partir de 200 individuos el incremento de las métricas indicadas es poco importante.

7.3. PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO

7.3.1. Selección y delimitación de las estaciones de muestreo

La estación de muestreo es un tramo seleccionado de 100 m representativo de las características de la masa de agua. El tramo presentará los tipos de hábitat más frecuentes, en la masa de agua, de modo que existan duplicados de elementos físicos y estructurales (por ejemplo la secuencia rápido-pozas, etc.).

Algunos aspectos a tener en cuenta al seleccionar la estación de muestreo son:

- La morfología fluvial y composición del hábitat serán las características del tramo a evaluar, por ejemplo se evitarán zonas canalizadas si el resto del tramo no lo está.
- La cobertura de la vegetación (densidad, sombra) serán las características del tramo; así se evitara muestrear una zona de sombra, si esto no es habitual en el tramo.
- La estación de muestreo reflejará la secuencia de rápidos-lentos que domine en el tramo a analizar.
- Se evitarán las zonas inmediatas a puentes, vados o azudes, a menos que sean característicos del tramo.
- Si en el tramo a evaluar existe un vertido que afecta de forma local a la calidad del agua, se evitará muestrear en la zona inmediata al punto de descarga, y se fijará la estación de muestreo aguas abajo de la zona de mezcla del vertido.

Se evitará seleccionar estaciones cuyo acceso entrañe riesgos a los técnicos de campo (laderas escarpadas, paso a través de aguas profundas o con acúmulos de lodos,...).

Es importante señalar claramente la localización de la estación de muestreo (inicio y final), tomando las coordenadas con un GPS, e indicando su posición en la cartografía de trabajo.

7.3.2. Caracterización de la estación de muestreo

Previamente al muestreo, se completarán las siguientes tareas:

- Descripción completa de la estación de muestreo incluyendo datos sobre su localización (nombre del río, cuenca, municipio, coordenadas UTM de los puntos de inicio y final del tramo), tipo de río (según la tipificación de la DMA), y características hidromorfológicas del cauce (forma del canal y estructuras fluviales, fijación de los sustratos del lecho etc.); también se indicarán los usos de la ribera (tipo de bosque, pastos, tierras cultivadas, zonas urbana, industrial, etc.) y los principales impactos antrópicos (presas o azudes, canalizaciones, vertidos, detracciones, etc.).
- Caracterización de los hábitats fluviales de la estación de muestreo. Se sigue el protocolo de la USEPA que consiste en identificar *de visu* la cobertura de todos los tipos de hábitats disponibles en el tramo. En base a

esta estima, se recogerán los invertebrados bentónicos de forma sistemática en los diferentes hábitats, y en proporción a su frecuencia en el tramo de río. Para facilitar el procedimiento de identificación *de visu*, los hábitats se agrupan en los siguientes cinco tipos:

- Sustratos duros (*Cobble*).
- Detritos vegetales (*Snags*).
- Orillas vegetadas (*Vegetated banks*).
- Macrófitos sumergidos (*Submerged macrophytes*).
- Arena y otros sedimentos finos (*Sand and other fine sediments*).

La cobertura (%) de los tipos de hábitats en la estación de muestreo permite determinar el número de muestras (kicks) que corresponden a cada hábitat, teniendo en cuenta que el muestreo incluye **20 kicks** (ver apartado 7.3.3).

Es conveniente disponer de unas hojas de campo previamente preparadas que faciliten la toma de datos para la caracterización del tramo (ver modelos adjuntos). Para estimar el número de kicks por tipo de hábitat es útil la siguiente tabla:

SÍMBOLO	TIPO HÁBITAT	%	Nº KICKS DE 20
*	Macrófitos sumergidos o emergentes		
→	Rápidos sobre sustrato duro		
⌈	Orillas vegetadas		
⊗	Detritos (hojarasca, ramas, madera)		
↻	Pozas (describir sustrato: limo, arena, detritos, etc)		

En la hoja de campo (ver modelo en Apéndice) se indicará el tipo de sustrato en las pozas: piedra, arena y limo; y el porcentaje de detrito en ese sustrato.

Se identificarán las especies de las plantas acuáticas sumergidas y se indicará su cobertura (%) en el tramo de muestreo. También se indicará la cobertura (%) de musgo sobre las piedras.

Las raíces muertas de macrófitos se consideran detritos; no obstante si están todavía enraizadas y vivas aunque la parte emergente esté senescente se señalarán como macrófitos. También se señalarán como macrófitos las ramas vivas de árboles y arbustos sumergidas en el agua.

7.3.3. Directrices para la toma de muestras

La toma de muestras se realiza con una red de mano estándar **acc FBA** de sección cuadrada (boca de 0,25 m de ancho y 0,5 m de largo).

El muestreo se realiza en base a **20 kicks** en 100 m. Una unidad de muestreo (**kick**) incluye remover con

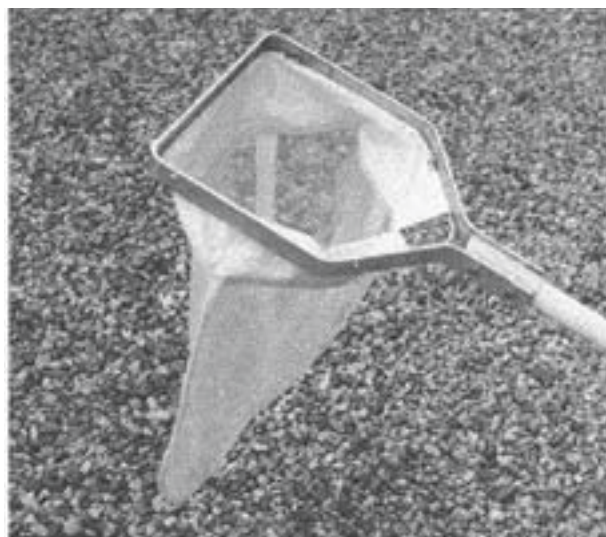
pies y manos (o agitando y resuspendiendo el sustrato de diversas formas) (Barbour et al, 1999), el sustrato situado en los 0,5 m cercanos a la boca de la red. En total se muestrean 2,5 m² de sustrato fluvial (20 kicks * 0,5 m * 0,25 m).

En función de las coberturas (%) de los cinco tipos de hábitat (ver apartado 7.3.2.), en la estación de muestreo, se determina el número de kicks que hay que tomar en cada tipo de hábitat (cada 5% de la superficie ocupada por un hábitat corresponde a un kick). Véase por ejemplo la siguiente distribución de hábitats:

TIPO HÁBITAT	%	Nº KICKS DE 20
Sustratos duros (rocas, piedras, gravas)	50	10
Detritos vegetales	20	4
Orillas vegetadas	5	1
Macrófitos sumergidos	10	2
Arena y otros sed. finos	15	3
Total	100	20

Los hábitats que representan menos del 5% no se contabilizan como una unidad de muestreo. Pero a veces 2 hábitats minoritarios presentes pueden estar muy cercanos, y en la suma de porcentajes contabilizar un kick. Por ejemplo: ramas y acúmulos de detritos (3%) en pequeñas pozas de limo (2%), en estos casos se hace 1 kick sobre un área de poza con detrito encima.

El muestreo se inicia aguas abajo del tramo a estudiar y se realiza remontando el río; de esta forma se evita que el operador reciba materiales y organismos de zonas muestreadas previamente aguas arriba, y al caminar por el lecho fluvial, afecte a las zonas que faltan por muestrear.



Red de mano estándar accFBA.

Las directrices de muestreo para cada tipo de hábitat se presentan en la tabla adjunta.

7.3.4. Limpieza de las muestras en el campo

Es conveniente ir vaciando la red a medida que se completan los kicks, dependiendo de su grado de colmatación. El contenido de la red se deposita en una bandeja y se eliminan con cuidado piedras, trozos grandes de detritos (trozos de madera, hojas grandes...). El resto del material se introduce en un recipiente y se procede a su fijación y etiquetado.

7.4. CONSERVACIÓN Y ETIQUETADO DE LAS MUESTRAS

Seguir las directrices indicadas en los apartados 10.3 y 10.4.

DIRECTRICES DE MUESTREO PARA CADA TIPO DE HÁBITAT	
SUSTRATOS DUROS	DETRITOS VEGETALES (RAMAS-MADERA-HOJARASCA)
Rápidos de todo tipo, se muestrean gravas-piedras manteniendo el borde inferior de la red contra el lecho fluvial a la vez que se desalojan los organismos, removiendo con pies o mano el sustrato a lo largo de 0,5 m aguas arriba de la red.	Se muestrea removiendo con pies o manos los depósitos de detritos, y manteniendo la red aguas abajo (con corriente) o pasando la red sobre ellos (aguas lentas) para recolectar los organismos en suspensión. También se muestrean en este hábitat la madera acumulada en pozas, evitando trozos grandes.
ORILLAS VEGETADAS	MACRÓFITAS SUMERGIDAS
Orillas fluviales con raíces y plantas emergentes asociadas a ellos. Se agitan las raíces con pies o manos, y se recogen los organismos en suspensión o arrastrados por la corriente, con la red situada aguas abajo.	Su presencia es estacional y pueden no encontrarse si el muestreo se realiza en invierno o a finales de otoño. Se muestrean pasando la red a través de la vegetación desde el lecho (donde enraíza) hasta la superficie del agua (máximo de 0,5 m). En aguas someras, el muestreo se realiza agitando con pies o manos las plantas a lo largo de 0,5 m y recogiendo los organismos en suspensión o arrastrados por la corriente con la red. Evitar la resuspensión del sedimento.
ARENA Y OTROS SEDIMENTOS FINOS	
Se muestrean las zonas de deposición de sedimentos no vegetados, agitando éstas con pies y manos, e incluyendo el material en suspensión en la red, a lo largo de 0,5 m. No es conveniente arrastrar la red a través de los sedimentos blandos ya que entonces se recoge mucho sedimento, y se dificulta la limpieza posterior de la muestra.	

TÉCNICAS DE MUESTREO CON KICKS PARA LA EVALUACIÓN CON MULTIMÉTRICOS



Caracterización del hábitat
y estima de coberturas



N.º Kicks / Tipo de hábitat



La unidad de muestreo - kick - incluye remover con pies y manos el sustrato situado en los 0,5 m cercanos a la boca de la red. Se muestrea en base a 20 kicks en 100 m, repartidos proporcionalmente en los tipos de hábitat indicados: Sustratos duros, detritos vegetales, orillas vegetadas, macrófitas sumergidas, arena y otros sedimentos finos. El área final de muestreo es de aproximadamente 2,5 m².

7.5. TRATAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

El procedimiento que se indica es el utilizado por el Equipo de Isabel Pardo del Departamento de Ecología y Biología Animal de la Universidad de Vigo.

El tratamiento de las muestras comprende la extracción y recuento de los macroinvertebrados de la muestra y su identificación. Se realizan las siguientes tareas:

- Con guantes, mascarilla y gafas de protección se procede a lavar el recipiente que contiene la muestra; se vierte la muestra sobre los tamices y se recoge el agua con formol para su tratamiento posterior como residuo tóxico. Luego bajo el grifo, se lava con agua abundante la muestra, hasta que desaparezca el olor.
- Se colocan los tamices de 5 mm, 1 mm y 0,5 mm en el fregadero, y según el orden indicado.
- Se vierte una porción de muestra en el tamiz superior (5 mm) extrayendo la etiqueta si es visible.
- Se vierte el contenido de cada tamiz en las respectivas bandejas de fracción gruesa (>5 mm), media (entre 5 y >1 mm) y fina (entre 1 y 0,5 mm). Para ello, se lava el contenido hacia un lado del tamiz antes de depositarlo en la bandeja y después se lava, dándole la vuelta.
- Se prepara el estadillo identificando la muestra según el etiquetado.
- Se separa la fracción gruesa extrayendo **todos** los invertebrados que haya.
- Se identifican los taxones y la abundancia absoluta.
- Se guarda en alcohol al 70% lo extraído, con la referencia del punto de muestreo, fecha e indicando **fracción G x I**.
- Se separa la fracción media (entre 5 y >1 mm) extrayendo sólo los taxones nuevos durante media hora (extraer un par de ejemplares de cada taxón). Posteriormente se realiza el submuestreo de la fracción media, como se indica a continuación.
- Se separa la fracción fina (entre 1 y 0,5 mm), la fracción más homogénea, y se procede a su submuestreo, como se indica a continuación.
- Se toma otra porción del recipiente de la muestra, y se repite el procedimiento indicado.

Submuestreo de la fracción media:

La fracción media se submuestra, extrayendo una porción de la muestra (ej. 1/8), de forma que sea suficientemente representativa y precisa (contenga al menos 100 invertebrados, siguiendo a Wrona *et al.*, 1982). En el caso de que el número no llegue a 100, hay que coger una segunda o posteriores submuestras, hasta que se alcance el número de 100. El submuestreo se realiza homogeneizando y dividiendo en partes iguales la muestra de la fracción media.

Se toma una o más partes y se cuantifica la abundancia de cada taxón, señalando en el estadillo el número de individuos por taxón y la fracción que la submuestra representa del total de la muestra.

Se conserva la fracción en alcohol debidamente etiquetada (**fracción M, x 8**). Esto correspondería a 1 submuestra.

Submuestreo de la fracción fina:

Se procede según el siguiente procedimiento:

- Elutriación inicial para separar el material inorgánico (piedras pequeñas, gravas) del orgánico puesto en suspensión.
- Revisar si en los sustratos inorgánicos queda algún macroinvertebrado. Para ello se cogen pequeñas porciones con una pipeta Pasteur, se colocan en una placa Petri y se examinan con la lupa.
- Se procede a la homogeneización de la parte que contiene los macroinvertebrados. Para ello se utiliza el submuestreador descrito por Wrona *et al.* (1982) o cualquier método comparable:
 - Encender el aparato antes de echar la muestra.
 - Enrasar con la muestra y agua a 1 litro, en el aparato.
 - Dejar que se agite hasta conseguir una mezcla completa.
- Extraer 2 ó 3 subunidades de 50 ml (cada una representa el 1/20 del total), de la solución agitada, mediante una jeringa de 50 ml, y depositarlas en placas Petri. Deberá submuestrearse un número aproximado de como mínimo 100 individuos para que la submuestra sea representativa de la muestra (Wrona *et al.*, 1982).
- Contar e identificar los invertebrados de las subunidades.
- Anotar los recuentos de cada taxón en el estadillo, señalando la fracción que la submuestra representa del total de la muestra.
- Guardar los invertebrados en alcohol al 70% y etiquetar la muestra (**fracción F, x 20**) (esto correspondería a 1 submuestra).

7.6. CÁLCULO DE MÉTRICAS

Pueden calcularse diferentes métricas a partir del inventario de taxones y sus abundancias. En esta tarea puede ser útil el uso del software AQEM, si bien hay limitaciones relacionadas con el nivel de identificación de los organismos (la mayoría de métricas de AQEM se han diseñado a nivel de especie).

Para un nivel de identificación de familia son aplicables las siguientes métricas:

Abundancia total - Abundancia Plecópteros, Tricópteros etc. y restantes órdenes, familias...

Frecuencia (Abundancia relativa) de grupos taxonómicos, individuales y combinados, por ejemplo % EPT (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera)

Diversidad /equitatividad

Numero total de taxones (familias, géneros, especies)

Número de taxones EPT (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera) y restantes órdenes

IBMWP / ASPT

Los resultados obtenidos (listado de especies, riqueza, abundancias,...) de los muestreos realizados se deberían incluir en una base de datos centralizada diseñada para la cuenca del Ebro, o de ámbito nacional que recoja el marco de trabajo de la DMA.

8. MODIFICACIÓN DEL PROTOCOLO IBMWP CON MUESTREO BASADO EN LA EVALUACIÓN CON MULTIMÉTRICOS

La propuesta de J. Alba, incluye la realización de las siguientes tareas, en la estación de muestreo:

1. Distribuir el esfuerzo de muestreo proporcionalmente a la extensión de los diferentes microhábitats presentes en el tramo (Muestreo según Barbour *et al* con **20 kicks**).
2. Una vez realizado el muestreo limpiar la muestra del modo habitual y guardarla en un bote debidamente etiquetado (ver apartado 10.4), marcado con un "1" para hacer constar que es el material resultante procede del muestreo semicuantitativo.
3. Continuar el muestreo según el protocolo IBMWP, es decir, hasta que no parezca ninguna nueva familia.
4. Una vez realizado el muestreo limpiar la muestra del modo habitual y guardarla en un bote debidamente etiquetado marcado con un "2".
5. Fijar las muestras con formol al 4% o bien con alcohol al 95%.

La muestra semicuantitativa, marcada con un "1", permitirá el cálculo de las abundancias, mientras que el listado de familias encontradas en las dos muestras servirán para el cálculo del índice IBMWP.

9. PROTOCOLO PARA INVERTEBRADOS BENTÓNICOS DE LAGOS

9.1. INTRODUCCIÓN

Los invertebrados bentónicos del litoral de los lagos se consideran el elemento biológico a analizar para la obtención de métricas que permitan la determinación del estado ecológico. El procedimiento de muestreo es de tipo cualitativo-semicuantitativo (unidad de esfuerzo), y se ha elaborado a partir de la consulta de la bibliografía especializada.

9.2. EQUIPOS Y REACTIVOS

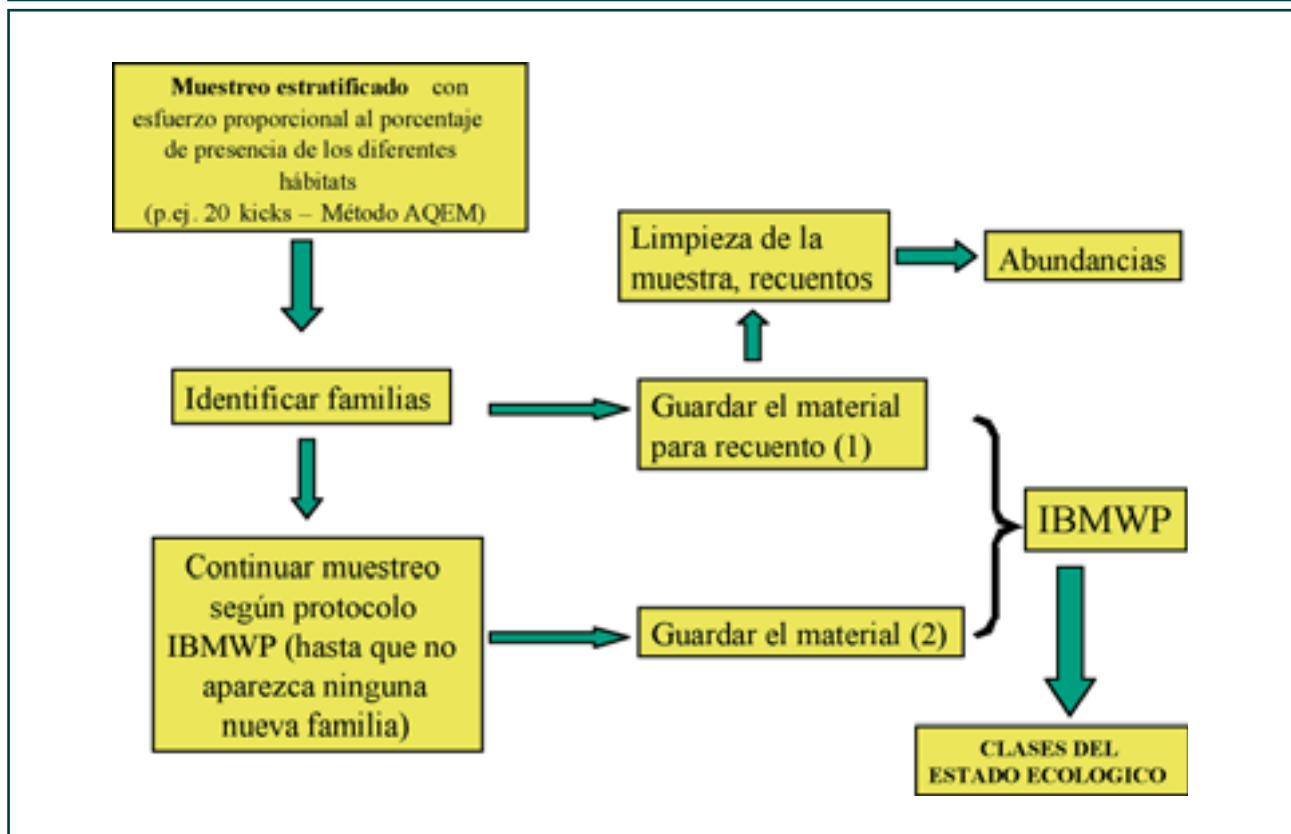
Los equipos y reactivos a usar en las tareas especificadas en este protocolo se presentan en el apartado 10.

9.3. PROCECIMIENTO DE MUESTREO

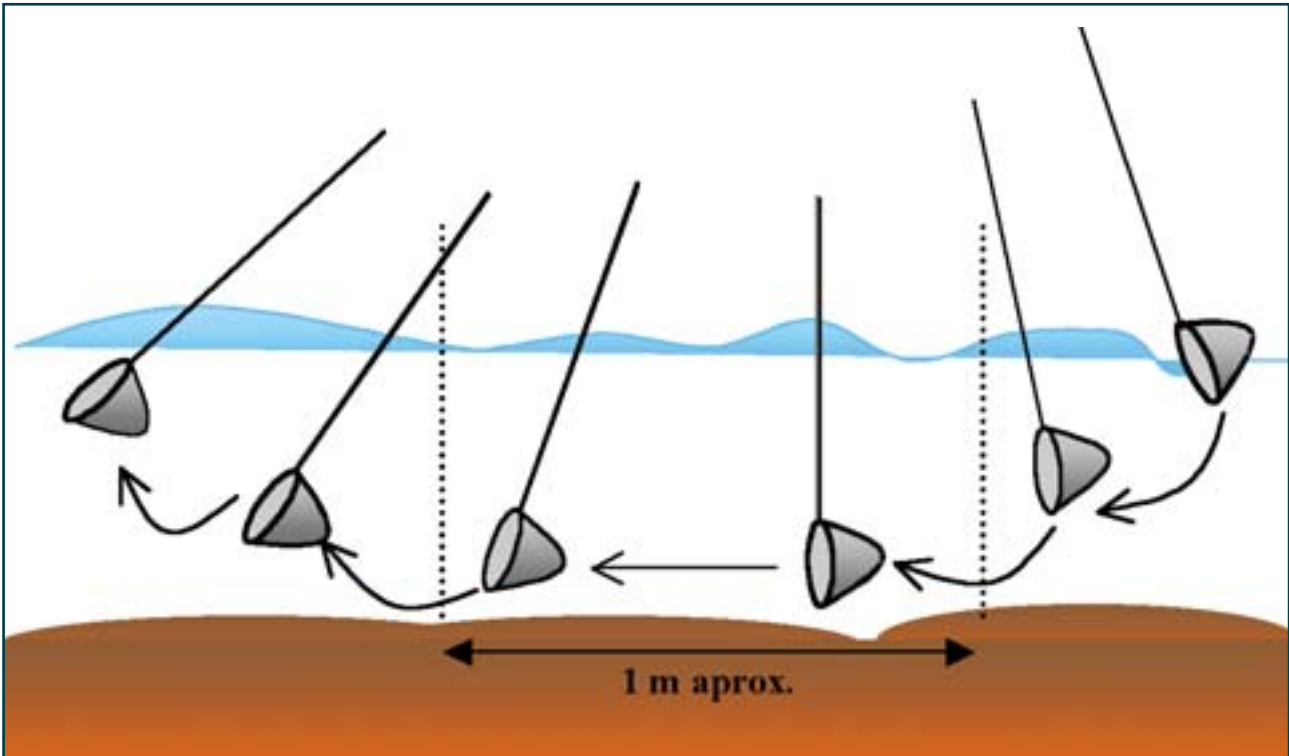
9.3.1. Selección y caracterización de las estaciones de muestreo

- Identificar estaciones de muestreo en el litoral de los lagos, que sean representativos de la diversidad de hábitats existente y de los posibles impactos humanos debidos a las actividades y/o usos existentes

MODIFICACIÓN DEL PROTOCOLO IBMWP CON MUESTREO BASADO EN LA EVALUACIÓN CON MULTIMÉTRICOS



MUESTREO CON SALABRE



en el lago y en zonas circundantes. Para esto se recomienda examinar fotos aéreas del lago y de su cuenca previamente a la visita.

- La caracterización de los hábitats litorales debe incluir: tipo de sustrato mineral y vegetal, profundidad, tipo de vegetación de ribera, etc..
- En el litoral de lagos grandes (>50 ha) puede ser conveniente fijar más de una estación de muestreo, en las que realizar el muestreo de los invertebrados bentónicos, teniendo en cuenta la diversidad de hábitats existentes.
- Una vez identificadas las estaciones de muestreo de muestreo se fijará su posición tomando las coordenadas geográficas con un GPS, y referencias topográficas que faciliten su localización posterior.

9.3.2. Directrices para la toma de muestras

Se presentan dos métodos de muestreo, el primero tiene como objeto capturar los organismos que se encuentran junto al sustrato petricola o entre la vegetación, mientras que con la segunda se recolectan principalmente organismos epifíticos. Si se opta por el cálculo de un índice concreto, será necesario consultar la metodología de muestreo adaptada a dicho índice.

9.3.2.1. Muestreo con salabre (“dipping”)

Consiste en realizar pasadas con una red de muestreo (100 µm de diámetro de poro) con un recorrido de bajada seguido de un recorrido a aproximadamente 1m cerca del fondo y subiendo hasta la superficie; esto se denomina “dipping” en versión anglosajona.

Se realizará un número de pasadas de red en varios puntos representativos de la variedad de hábitats del litoral del lago (piedras, gravas y arenas, vegetación acuática, etc.) y el contenido se guardará en un recipiente y se fijará (ver apartado 10.3); obteniéndose de esta forma una muestra integrada del litoral.

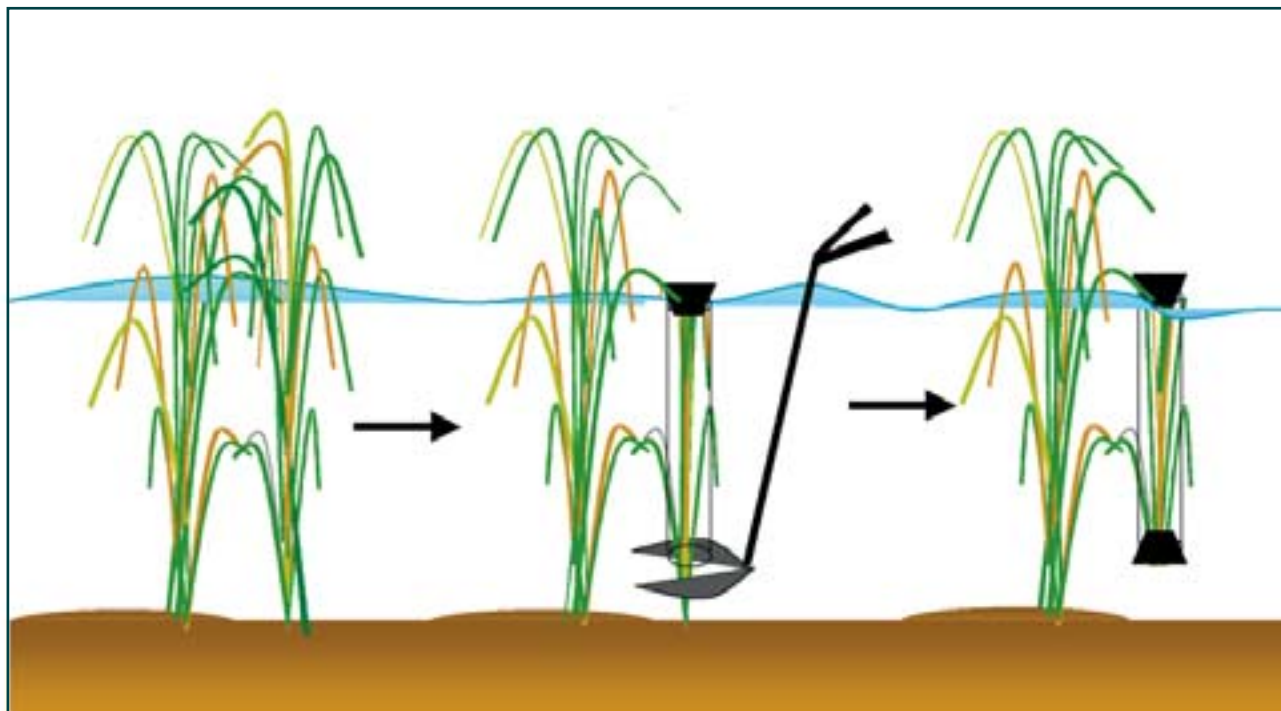
El número de pasadas puede determinarse previamente al inicio del muestreo (por ejemplo 20 en el estudio de los ecosistemas leníticos someros de Cataluña; ACA 2004).

La toma de muestras se completará con la limpieza de 2-3 piedras sumergidas para recoger aquellos organismos que estén adheridos a ellas y que, por lo tanto, no suelen encontrarse en las pasadas de red.

9.3.2.2. Muestreo en vegetación sumergida (método de Kornijow y Kairesalo)

La aplicación del método Kornijow y Kairesalo (1994) permite un estudio cuantitativo de las comunidades de invertebrados epifíticos y de los que nadan en el seno de los carrizales. La metodología consiste en la recolección de tallos individuales o grupos de tallo, mediante tubos de PVC. El procedimiento se esquematiza en la siguiente figura, y consiste en:

1. Seleccionar tallos de carrizo o enea que hayan permanecido sumergidos suficiente tiempo como para presentar macroinvertebrados epifíticos; deben evitarse tallos que, por fluctuaciones del nivel del agua, hayan permanecido al descubierto recientemente.
2. Cortar el/los tallos al nivel de la superficie del agua y colocar el tubo de PVC intentado perturbar

MUESTREO EN VEGETACIÓN SUMERGIDA

el mínimo posible tanto el tallo como el agua de su alrededor.

3. Tapar la parte superior del tubo con un tapón de goma.

4. Cortar la caña a la altura de la parte inferior del tubo de modo que podamos colocar el otro tapón de goma. Actuando así no sólo habremos recolectado los invertebrados epifíticos sino también aquellos que se encontraban alrededor del tallo.

5. Retirar el tubo con cuidado de no perder el contenido de agua y verterlo en una bandeja.

6. Lavar los tallos con la misma agua contenida en el tubo cuidando de despegar todos los organismos en ellos adheridos.

7. Medir la longitud y el diámetro de los tallos con un pie de rey y apuntar los datos en una hoja de campo. Estos datos servirán para poder calcular la superficie colonizable y así, posteriormente, referir el número de individuos encontrados a un área.

9.3.3. Limpieza de las muestras en el campo

Es conveniente realizar una limpieza previa en el campo de las muestras, con la finalidad de extraer restos grandes de macrófitos y/o macroalgas; no obstante el material desechado deberá ser examinado en detalle para desprender los organismos que estén adheridos. En todo caso hay que tener en cuenta que no es conveniente eliminar todas las masas de algas o restos vegetales ya que con ellas se perderá una buena parte de microcrustáceos y otros grupos de pequeño tamaño.

Una opción es ajustar a la red de 100 μm un tamiz de 1000 μm que sirva para retener las fracciones vegetales mayores.

9.4. CONSERVACIÓN Y ETIQUETADO DE LAS MUESTRAS

Las muestras se conservarán y etiquetarán según lo indicado en los apartados 10.3 y 10.4.

9.5. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO

Las muestras obtenidas mediante las técnicas de muestreo indicadas se limpiarán y analizarán siguiendo el siguiente procedimiento:

- Colocar la muestra bajo la lupa binocular y anotar la información más importante en la hoja de recuentos o en el programa de ordenador. La información mínima recomendada es: código de la muestra, nombre del lago, localidad y fecha de muestreo. Otra información importante es la fecha del recuento y el nombre del analista.
- Identificar y contabilizar todos los individuos presentes en la muestra en el nivel de estudio requerido (género o especie los microcrustáceos; género o familia los insectos y otros grupos). Para el recuento puede usarse escalas de abundancia relativa (1= <5; 2= 5-50; 3= 50-100; 4= 100-1000; 5= >1000) o bien el total en la muestra.
- Para las muestras tomadas según el método Kornijow & Kairesalo la abundancia se referirá a la su-

perficie colonizable (que se estimará con los datos de diámetro y longitud de las cañas muestreadas).

9.6. CÁLCULO DE MÉTRICAS

Para los invertebrados bentónicos de lagos y zonas húmedas se pueden calcular las siguientes métricas, entre otras:

- Riqueza taxonómica: Nº de taxones de los grupos de invertebrados presentes en la muestra o bien de grupos previamente seleccionados.
- Índices de diversidad de Shannon, Margalef, etc.
- Índice QAELS (ver hoja adjunta) adaptado a la demarcación del Ebro.
- Presencia y abundancia relativa de especies o asociaciones de especies de microcrustáceos característicos del tipo de lagos.
- Abundancia (%) de oligoquetos / quironómidos, y de otros grupos taxonómicos.

Los resultados obtenidos (listado de especies, diversidad, abundancias, cálculo de índices, etc.) de los muestreos realizados se deberían incluir en una base de datos centralizada diseñada para la cuenca del Ebro, o para todo el territorio nacional que recoja el ámbito de trabajo de la DMA.

10. PROTOCOLO GENERAL PARA EL MUESTREO Y MANIPULACIÓN DE INVERTEBRADOS BENTÓNICOS

10.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se han recogidos los aspectos referidos a los equipos de muestreo y laboratorio, técnicas de conservación de muestras y etiquetado de las muestras, los cuales son comunes a los procedimientos incluidos en el documento. Si algún equipo está indicado en un procedimiento concreto, se indica la referencia.

10.2. EQUIPOS

10.2.1. Equipos de muestreo de invertebrados en ríos y lagos

Equipos de protección personal

- Botas o vadeadores de pescador.
- Guantes de látex.

Equipos para la recolección de muestras

- Redes y salabres de muestreo.
- Bateas blancas (mínimo 20 x 30 cm).
- Pinzas entomológicas.
- Botes de plástico con tapón hermético de ¼ de litro como mínimo.
- Viales de plástico o vidrio (recoger ejemplares aislados).
- Bolígrafo o rotulador permanente (o cualquier otro método para etiquetar las muestras). Si se usan etiquetas, estas deben ser resistentes a la humedad.

- Lápiz, tijeras, cinta aislante.
- Cámara digital.
- Hojas de campo, cartografía.

En la tabla adjunta se muestran los tipos de redes a usar para la aplicación de los métodos indicados:

El tamaño de malla varía según los objetivos del estudio. En la tabla adjunta se indican los tamaños recomendados en las guías EN 27828: 1994 y EN 28265: 1994.

La malla de 500 µm para ríos, y la de 100-250 µm para lagos son las que se consideran adecuadas para la aplicación de los procedimientos indicados en este documento.

10.2.2. Equipos para el tratamiento de muestras en el laboratorio

Equipos de protección personal

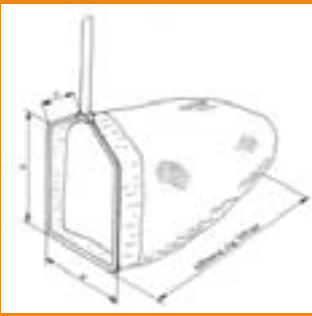




- Guantes.
- Mascarilla.
- Gafas.

Equipos para la manipulación de muestras en el laboratorio

- Fregadero.
- 3 Bateas blancas de plástico (mínimo 30 x 20 cm).
- Tamices de 5mm, 1mm y 0,5 mm (Metodología Multimétricos).
- Submuestreador (Wrona et al., 1982) (Metodología Multimétricos).
- Jeringas de 60 ml (Metodología Multimétricos).
- Placas de Petri.
- Pinzas entomológicas y/o aspirador entomológico.
- Viales de plástico y otros recipientes con tapones herméticos.
- Contadores.
- Estereomicroscopio.
- Campana de gases o extractor.
- Rotulador resistente al agua.
- Etiquetas.
- *Formularios* previamente preparados para anotar la identificación y recuentos. Pueden contener una lista de taxones con espacios en los que indicar su presencia en la muestra y anotar el recuento; también puede usarse un programa de ordenador preparado para la entrada directa de datos.
- *Guías de identificación*: adecuadas al ámbito de estudio.

10.3. CONSERVANTES

Las muestras se deben fijar inmediatamente después de la recolección para evitar la acción de los carnívoros, especialmente de plecópteros (*Perlidae*), odonatos, heterópteros (népidos), coleópteros (*Adephaga*), tricópteros (*Rhyacophylidae*), megalópteros (*Sialidae*), entre otros. Si la muestra se va a procesar antes de 24 horas se pueden separar las especies de carnívoros de mayor tamaño, y mantener la muestra en frío (4°C), ya que la separación en vivo ayuda mucho.

PROCEDIMIENTO DEL MUESTREO	MEDIDAS	TAMAÑO DE MALLA RECOMENDADO	ESQUEMA/DIBUJO
Guadalmed (IBMVP)	Anchura 200-400mm Altura 200-300 mm	300 - 500 μ m	 EN 27828: 1994
Método con multimétricos (I. Pardo)	Anchura 250 mm	500 μ m	
Sustratos artificiales	Cubos de 25 cm de lado	1 cm (Fondo y laterales (hasta unos 10 cm de altura) reforzados con malla de 0,5 mm)	 
Lagos (columna de agua)	Red de mano de diámetro: 20 cm	250-300 μ m (macroinvertebrados) 100 μ m (microcrustáceos)	

TIPOS DE ESTUDIO	TAMAÑO MÁXIMO DE APERTURA	COMENTARIOS
Seguimientos rutinarios de la calidad biológica, mediante el uso de índices bióticos	500-750 μ m	Nula o escasa representación en la muestra de los primeros estadios de desarrollo (principalmente en insectos)
Seguimientos de la calidad biológica a partir de inventarios más completos de los taxones presentes	500 μ m	Captura de un mayor número de insectos en los primeros estadios de su desarrollo
Estudios que requieran listas de taxones completos	250 μ m	Asegura la captura de primeros estadios y de organismos muy pequeños que pueden ser interesantes para determinar la calidad del agua

Para conservar las muestras se pueden usar los siguientes fijadores:

- Etanol (C₂H₅OH). Es adecuado para la conservación de los invertebrados una vez extraídos de la muestra. También puede usarse como conservador de la muestra en el campo pero en este caso deberá ajustarse bien la concentración para asegurar la correcta fijación de los organismos. La concentración ideal es del 70%, por ello si los organismos se separan en el campo vivos, es mejor usar directamente alcohol de 96% (o ligeramente diluido), ya que cada vez que se introduce un individuo en el vial, se añade una pequeña cantidad de agua que hace que el alcohol se vaya diluyendo. En este tipo de muestras es aconsejable sustituir el alcohol de la muestra de campo por nuevo alcohol de 70%, al llegar al laboratorio (si las muestras se van a almacenar por un periodo superior a una semana).

Para las muestras conservadas con formaldehído se usarán recipientes con cierre hermético para evitar la liberación de vapores.

10.4. ETIQUETADO DE LAS MUESTRAS

Las muestras se identificarán mediante una etiqueta adhesiva en el exterior del recipiente y con una etiqueta de papel vegetal colocada en el interior. En ambas se anotará la siguiente información:

- Nombre del proyecto.
- Código de la estación de muestreo.
- Nombre del río.
- Localidad.
- Fecha.

En la etiqueta externa se anotará también:

- Conservante (por ejemplo formaldehído 4-10% o alcohol 70-95%).
- Si se utiliza más de un recipiente por muestra, éstos de numerarán (p.ej. 1 de 2, 2 de 2, etc.).

En la ficha de campo se anotarán todo lo indicado anteriormente y además:

- Nombre del recolector.
- Otras codificaciones de interés (tipo de río o lago según la clasificación de la DMA, número de la masa de agua, etc.).
- Descriptor de la muestra. Esto incluye si la muestra corresponde a un tipo de hábitat concreto; fracción filtrada, profundidad (lagos), etc...
- Taxones que son difíciles de capturar, o que se han devuelto al río (Gérridos, hidrométridos, cangrejos, etc...).

10.5. TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Las muestras con material no fijado se transportarán refrigeradas en nevera. También es útil el uso de neveras o cajas con tapa estanca para el transporte de las muestras fijadas con formaldehído. De este modo se evita que

los operadores respiren los vapores de este producto durante su transporte en el vehículo.

10.6. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS E IDENTIFICACIÓN DE LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS

Los procedimientos de tratamiento de las muestras en el laboratorio se han incluido en cada uno de los protocolos que incluye esta memoria (ver capítulos 6, 7 y 9).

La identificación de los invertebrados bentónicos se realiza con el apoyo de manuales de taxonomía y mediante el examen de los ejemplares bajo un estereoscopio (a 4, 10 y 25 aumentos). En ocasiones la identificación requiere la disección de los ejemplares, su montaje en una preparación microscópica (con diferentes medios de montaje) y su examen en el microscopio óptico (a 40, 100, 200 y hasta 1000 aumentos). En la bibliografía se recogen los textos generales más usuales para la identificación de los invertebrados bentónicos a nivel de familia o género.

II. PROTOCOLO PARA CONTROL DE CALIDAD

En los tipos de estudio cuya metodología se presenta en este documento es obligado disponer de los mecanismos que evalúen y aseguren la calidad de la aplicación de los procedimientos y del tratamiento de los datos (Stevenson *et al.* 2004). Además la implementación de la Directiva 2000/60/CE requiere que los métodos que se utilicen en el establecimiento del estado ecológico procedan de metodologías estandarizadas (ISO, CEN, o de organismos nacionales de estandarización), que los laboratorios dispongan de programas de aseguramiento de la calidad (EN ISO 17025) y participen regularmente en ejercicios de intercalibración (*Proficiency testing programmes*).

El muestreo e identificación de los invertebrados bentónicos como elementos de calidad para la determinación de la DMA debe realizarse siguiendo procedimientos estandarizados y con sistemas de control de la calidad. Asimismo la correcta identificación de los invertebrados bentónicos a nivel de familia, género o especie es un aspecto de gran importancia. Son de aplicación las siguientes normas:

- EN 27828: 1995. Calidad del agua. Métodos de muestreo biológico. Guía para el muestreo manual con red de macroinvertebrados béticos (ISO 7828:1985). (Versión oficial EN 27828:1994).
- EN 28265: 1995. Calidad del agua. Concepción y utilización de los muestreadores de macroinvertebrados béticos sobre sustrato rocoso en aguas dulces poco profundas (ISO 8265: 1988). (Versión oficial EN 28265:1994).
- UNE-EN-ISO 9391: 1995. Calidad del agua. Muestreo de macroinvertebrados en aguas profundas.

TRATAMIENTO DE MUESTRAS E IDENTIFICACIÓN DE INVERTEBRADOS BENTÓNICOS



Limpieza de la muestra, separación de los taxones y recuento.
Identificación de los taxones hasta el nivel requerido (familia, género...)



⬆ Tubificidae
⬇ Polycentropodidae

⬆ Perlidae
⬇ Chironomidae

Baetidae

Guía de utilización de aparatos de toma de muestra de colonización cualitativos y cuantitativos (ISO 9391:1993).

- EN ISO 8689-1: 1999. Calidad del agua. Clasificación biológica de los ríos. Parte 1: Guía para la interpretación de los datos relativos a la calidad biológica a partir de estudios de macroinvertebrados bénticos (ISO 8689-1:2000).

- EN ISO 8689-2: 1999. Calidad del agua. Clasificación biológica de los ríos. Parte 2: Guía para la presentación de los datos relativos a la calidad biológica a partir de estudios de macroinvertebrados bénticos (ISO 8689-2:2000).

El grupo CEN TC 230 WG 2 está desarrollando otros estándares aplicables al muestreo de invertebrados (00230176 prEN 27828:1994 rev. *Guidance on handnet*

sampling of aquatic benthic macroinvertebrates; 00230213 – *Guidance on the sampling and processing of the pupal exuviae of Chironomidae (Order Diptera) for ecological assessment*)

Del mismo modo, el manual de *USEPA Rapid Bioassessment Protocols* incluye directrices para el control de calidad de los trabajos de campo y de laboratorio.

En cualquier caso es muy importante la adecuada formación del personal que participa en el muestreo, análisis de las muestras y tratamiento de los resultados, por lo que deberían arbitrarse los mecanismos necesarios que aseguren este aspecto.

En el apartado siguiente se recogen algunas directrices sobre la calidad de los trabajos incluidos en el presente documento.

11.1. DIRECTRICES PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD EN LA TOMA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Objetivo: Realizar el trabajo de campo y evaluaciones según los procedimientos estándar previamente definidos.

Medidas

- Preparar una hoja directriz que resuma de forma clara y didáctica las tareas y procedimientos a desarrollar en el trabajo de campo.
- Documentar los trabajos y usar hojas de campo previamente preparadas en las que se pueda incluir:
 - La localización de la estación de muestreo (coordenadas GPS y esquema del tramo) y los códigos aplicables (código de estación, código de masa de agua, fecha, técnicos a cargo, etc.).
 - Datos para la caracterización hidromorfológica, y fisicoquímica.
 - Características del muestreo de invertebrados realizado (tipo de muestreo, nº muestras y submuestras; réplicas para control de calidad).
 - Especies identificadas no incluidas en la muestra.
 - Aspectos de interés (identificación de presiones e impactos fisicoquímicos e hidromorfológicos).
- Aportar documentación fotográfica de las estaciones fluviales y lacustres. La comparación de fotos realizadas en diferentes años será de gran ayuda para la identificación de tendencias.

Objetivo: Asegurar la correcta identificación de los taxones en el campo, si se aplica el método del IBMWP con identificación “in situ”.

Medidas

- Contar con personal entrenado para la identificación y manipulación de macroinvertebrados bentónicos.
- Conservar de 1-3 individuos por taxón en viales con alcohol convenientemente etiquetados para su posterior comprobación (si fuera requerida).

Objetivo: Asegurar la correcta identificación de las muestras en el campo.

Medidas

- Etiquetar convenientemente el recipiente por el exterior, e incluir etiquetas con la misma información en el interior del mismo. Se indicarán los códigos del proyecto, de la estación y de la muestra (si se toma más de una); el nombre del río/lago y su localización; la fecha, el nombre del recolector; y el conservante utilizado.
- Completar la cadena de custodia que acompañe a las muestras al laboratorio.

Objetivo: Asegurar que no se contaminan las muestras ni los sistemas acuáticos muestreados.

Medidas

- Aclarar con agua abundante y por ambas caras las redes usadas para el muestreo con la finalidad de que no queden ejemplares adheridos a la red.
- Dejar secar la red o pasar por una solución de alcohol para reducir el riesgo de transportar especies no deseables de un río a otro.

Objetivo: Verificar los resultados del muestreo de los equipos de trabajo.

Medidas

- Tras tomar la muestra, tomar otra en un tramo situado aguas arriba y que tenga las mismas características del inicial. Esto permitirá conocer el nivel de variabilidad y determinar el nivel que se considere aceptable.
- Conservar al menos un ejemplar de los organismos que se identifican en el campo para comprobar que la identificación es la misma por parte de los diferentes equipos.

II.2. DIRECTRICES PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD EN EL LABORATORIO

Objetivo: Asegurar la correcta identificación de los diferentes taxones (familias, géneros o especies, según el caso).

Medidas

- Contar con técnicos que posean formación. En la actualidad la formación de este personal se realiza en Universidades y centros de investigación. Es de vital importancia favorecer la organización de cursos de capacitación que faciliten la formación del personal.
- Someter a un control de calidad los resultados obtenidos (Acreditación).
- Realizar colecciones de los diferentes taxones recogidos en las estaciones de referencia y estaciones de la red de vigilancia.
- Aportar documentación gráfica y fotográfica de los taxones.
- Disponer de bibliografía adecuada para el nivel de estudio requerido.

Objetivo: Correcta manipulación de las muestras y organismos.

Medidas

- Evitar el deterioro de los organismos manejando la muestra de forma que se reduzca la abrasión (no lavar la muestra bajo el chorro fuerte del grifo, decantar con suavidad, no dejar secar la muestra).

II.3. DIRECTRICES PARA EL CONTROL DE CALIDAD EN EL TRATAMIENTO DE LOS DATOS

Objetivo: Control del manejo de datos y análisis de los resultados.

Medidas

- Todos los datos de un muestreo específico se deben identificar de forma individual, en la base de datos por medio de códigos.
- La documentación de campo y laboratorio (muestras, estadillos, fotos) se guardará durante un periodo no inferior a 5-6 años.
- Los datos en formato electrónico deberán incluir identificación de su origen (autores, fechas, etc...) y referencias para ampliar la información.



GLOSARIO Y BIBLIOGRAFÍA

GLOSARIO

- Assemblages:** Asociaciones de organismos que tienden a repetirse en un tipo de masa de agua, en determinadas épocas del año o condiciones ambientales. En la memoria se aplica a los microcrustáceos de lagos.
- Batea:** Bandeja en la que se deposita la muestra de zoobentos para su limpieza.
- Bentos:** Comunidad animal y vegetal que habita asociada a los sustratos sumergidos.
- Condiciones de referencia:** Para cualquier masa de agua, las condiciones de referencia del tipo al que pertenece son un estado ecológico, en el presente o en el pasado, donde los valores de los elementos hidromorfológicos, fisicoquímicos y biológicos corresponden a los que existen en ausencia de alteraciones antropogénicas o de muy escasa importancia (según Guía REFCOND, 2003).
- Conservante:** Sustancia que se añade a la muestra con el objetivo de impedir o retrasar la alteración de las características originales.
- DMA:** Directiva Marco del Agua, Directiva 2000/60/CE. Establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.
- Dipping:** Es una técnica de muestreo de aguas lentíticas someras consistente en realizar pasadas con un sables (o red de muestreo) en el seno de agua (ver apartado 9.3.2.1.).
- ECOFRAME:** Propuesta metodológica para la determinación del estado ecológico en lagos someros. Ver Moss et al (2003).
- Elutriación:** En este documento se aplica a la técnica de liberar los organismos y restos orgánicos del sustrato que los contiene (piedras, arenas,...), mediante el lavado con agua y la resuspensión de la fracción fina de la muestra.
- Estado ecológico:** En el marco de aplicación de la DMA, se define como una expresión de la calidad de la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos asociados a las aguas superficiales.
- Estereomicroscopio:** Lupa binocular.
- Eutrofización:** Aumento del número de algas y otros productores primarios como resultado del enriquecimiento de las masas de agua por nutrientes, de origen natural o antropogénico.
- Fitobentos:** Organismos fototróficos que viven asociados a cualquier sustrato del fondo de los ecosistemas acuáticos. Incluye cianobacterias, algas microscópicas (microalgas), macroalgas y macrófitos.
- Hábitat:** Lugar donde habita un organismo (planta o animal) y que está caracterizado por unos factores ambientales determinados (velocidad del agua, tipo de sustrato, temperatura, etc.).
- Hipolimnion:** En un lago estratificado térmicamente se refiere al volumen de agua que queda por debajo de la termoclina.
- Índice biótico:** Expresión matemática que traduce la información contenida en una lista faunística o vegetal en valores de una escala establecida. Permite realizar estudios comparativos y comprobar cambios en la estructura de las comunidades biológicas.
- Índice de diversidad:** Expresión matemática que relaciona el número de taxones y su abundancia.
- Kick:** Es una unidad de muestreo de los invertebrados bentónicos consistente en remover con pies y/o manos el sustrato existente en el área frente a la red de muestro, con la finalidad de que los organismos puestos en suspensión en el agua sean arrastrados hasta el fondo de la red (ver apartado 7.3.3.).
- Macrófitos:** Plantas acuáticas visibles a simple vista, entre las que se encuentran plantas vasculares (cormófitos), briófitos y macroalgas (algas caráceas y de otros grupos).
- Macroinvertebrados:** Este término se aplica a los invertebrados bentónicos, en general, visibles al ojo humano (ver capítulo I).
- Métricas:** Son los resultados de las mediciones de diferentes parámetros (por ejemplo nº de taxones, índices bióticos, índices de diversidad, abundancia de taxones o grupos taxonómicos, etc...).
- Microinvertebrados:** Agrupa a los invertebrados bentónicos de pequeño tamaño (en general inferior a 1 mm) (ver capítulo I).
- Placa de Petri:** Recipiente redondo, de cristal o plástico, de diferentes diámetros (en general de 5 y 10 cm), de fondo bajo, y con una cubierta de la misma forma que la placa pero de diámetro superior, lo que permite su colocación encima a modo de cierre.
- Preparación microscópica:** Porta-objetos y cubre-objetos entre los que se monta todo o parte de un invertebrado para su observación en el microscopio.
- Poza:** Charca o concavidad en la que queda estancada agua del río.
- Recolonización:** Proceso mediante el cual diferentes organismos vuelven a ocupar un hábitat que ha sido afectado por una perturbación física o química.
- Reófilo:** Zona del río donde la velocidad del agua es elevada.
- Salabre:** Artilugio construido con un aro al que se fija una red. El aro puede tener mango de diferente longitud.
- Sobrenadante:** Fracción de la muestra que queda en suspensión en el agua al efectuar movimientos sucesivos del recipiente (bandeja) en el que se limpia una muestra.
- Sustrato artificial:** Sustrato introducido en el río por un operador especialmente para la colonización de los invertebrados bentónicos.
- Tamiz:** Cedazo tupido (diferentes diámetros de poro) que se utiliza para separar las diferentes fracciones de tamaño en las muestras de macroinvertebrados.

Taxón: Unidad taxonómica, por ejemplo familia, género o especie.

Tolerancia: Capacidad máxima que tiene un organismo de soportar una variación del hábitat sin que ello perjudique a su ciclo vital.

Transecto: Recorrido que realiza el muestreador para llevar a cabo la toma de medidas o de muestras.

Vadeador: Peto confeccionado con neopreno que lleva incorporado unas botas de agua. Permite acceder

al río en zonas vadeables para tomar medidas y/o muestras.

Viales: Recipientes de vidrio o plástico de diferente tamaño que se usan para conservar los invertebrados bentónicos una vez separados de la muestra.

Zoobentos: Fauna de invertebrados que habita los sustratos sumergidos de los medios acuáticos

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Agencia Catalana de l'Aigua (2003). Desenvolupament d'un índex integral de qualitat ecològica i regionalització ambiental dels sistemes lacustres de Catalunya. Centre d'estudis Avançats de Banes (CSIC). 88 pàgs.
- Agencia Catalana de l'Aigua (2004). Caracterització, regionalització i elaboració d'eines d'establiment de l'estat ecològic de les zones humides de Catalunya. Institut d'Ecologia Aquàtica. Universitat de Girona. 86 pàgs.
- Alba-Tercedor J. y A. Sánchez-Ortega (1988). Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnetica* 4: 51-56.
- Alba-Tercedor, J. (1996). Macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas de los ríos. *IV Simposio del Agua en Andalucía (SIAGA)*. Almería. Vol II: 203-213. ISBN: 84-7840-261-6.
- Alba-Tercedor, J. y A.M. Pujante (2000). Running-water biomonitoring in Spain: Opportunities for a predictive approach. Pp:207-216. En: *Assessing the biological quality of fresh waters. RIVPACS and similar techniques* (J.F.Wright, D.W. Sutcliffe y M.T. Furse Editors). Freshwater Biological Association, Ambleside, 400 pàgs. ISBN: 0-900386-62.
- Alba-Tercedor, J. y N. Prat (1992). Spanish experience in the use of macroinvertebrates as biological pollution indicators. En: *River Water Quality. Ecological Assessment and Control*. 1992. pp733-738 (Eds. Newman, P.J., M.A. Piavaux y R.A. Sweeting). Commission of the European Communities. Brussels. ISBN.: 92-826-2929-5.
- Alba-Tercedor, J., Jáimez-Cuellar, P., Álvarez, M., Avilés, J., Bonada, N., Casas, J., Mellado, A., Ortega, M., Pardo, I., Prat, N., Rieradevall, M., Robles, S., Sáinz-Cantero, C.E., Sánchez-Ortega, A., Suárez, M.L., Toro, M., Vidal-Abarca, M.R., Vivas, S. y C. Zamora-Muñoz (2004). Caracterización del estado ecológico de ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWP). *Limnetica* (2002) 21(3-4): 175-185.
- Alba-Tercedor, J., Picazo-Muñoz, J. y C. Zamora-Muñoz (1995). Relationships between the distribution of mayfly nymphs and water quality in the Guadalquivir River basin (Southern Spain). En: *Current Research on Ephemeroptera*. pp 41-54 (L.D. Corkum y J.J.H. Ciborowski Editors), Canadian Scholar Press Toronto.
- Allan, J.D. (1995). *Stream Ecology. Structure and function of running waters*. Chapman y Hall. London.
- Andreu Moliner, E. y A. Camacho González (2002). Recomendaciones para la toma de muestras de agua, biota y sedimentos en humedales Ramsar. Ministerio de Medio Ambiente. Dirección general de Conservación de la Naturaleza.
- AQEM Consortium (2002). Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess european streams using benthic macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Framework Directive. Version 1.0 (www.aqem.de).
- Armitage P.D. y Petts, G.E. (1992). Biotic score and prediction to assess the effects of water abstractions on river macroinvertebrates for conservation purposes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater ecosystems*, vol 2: 1-17.
- Armitage P.D., Pardo I., Furse M.T. y J.F. Wright (1990). Assessment and prediction of biological quality. A demonstration of a British macroinvertebrate-based method in two Spanish rivers. *Limnetica* 6: 147-156.
- Armitage, P.D.; Moss, D; Wright, J.F. y M.T. Furse (1983). The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Res*, 17(3): 333-347.
- Barbour M.T., Gerritsen J., Snyder B.D. y J.B. Strinbling (1999). *Rapid Bioassessment Protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish*. EPA 841-B-99-002. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.
- Barbour M.T., Strinbling J.B. y P.F.M. Verdonshot (en prensa). *The Multihabitat Approach of USEPA's Rapid Bioassessment Protocols: benthic Macroinvertebrates*. *Limnetica*.
- Benito de Santos G. y M.A. Puig García (1999). BMWPC un índice biológico para la calidad de las aguas adaptado a las características de los ríos catalanes. *Tecnología del Agua* 191: 43-56.
- Bonada N., Prat, N., Munné, A., Plans, M., Solà, C., Álvarez, M., Pardo, I., Moyà, G., Ramon, G., Toro, M., Robles, S., Avilés, J., Suárez, M.L., Vidal-Abarca M.R., Mellado, A., Moreno J.L., Guerrero, C., Vivas, S., Ortega, M., Casas, J., Sánchez-Ortega A., Jáimez-Cuellar, P. y J. Alba-Tercedor (2004). Intercalibración de la metodología GUADALMED. Selección de un protocolo de muestreo para la determinación del estado ecológico de los ríos mediterráneos. *Limnetica* 21 (3-4): 13-33 (2002).
- Chandler J.R. (1970). A biological approach to water quality management. *Water Poll. Control*, 69: 415-422.
- De Manuel, J y J. Armengol (1993). Rotifer assemblages: a contribution to the typology of Spanish reservoirs. *Hydrobiologia*, 255/256: 421-428.
- De Manuel, J. y D. Jaume (1993). Zooplankton of reservoirs from the River Ebro basin (Spain): Relationships with some physical, chemical and biological features. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 25(2): 1236-1241.
- De Pauw, N, Ghetti, P.F., Manzini, P. y Spaggiari, R. (1992). Biological assessment methods for running water quality. *Ecological assessment and control*. Newman, P.J. (De.). C.C.E., Brussels, 217-248.

- De Pauw, N. y G. Vanhooren (1983). Methoth for biological quality assessment of watercourses in Belgium. *Hydrobiologia* 100: 153-168.
- EVS (2003). GVRD Benthic Macroinvertebrate B-IBI Guide. Prepared for the Greater Vancouver Regional District, Burnaby, BC by Environmental Consultants, North Vancouver, BC.
- Eyto E. de, Irvine, K., García-Criado, F., Gyllström, M., Jepsen E., Kornijow, R., Miracle R.M., Nykänen M., Ba-reiss, C., Cerbin, S., Salujoe, J., Franken, R., Stephens, D. y Moss, B. (2003). The distribution of chydorids (Branchiopoda, Anomopoda) in European shallow lakes and its application to ecological quality monitoring. *Arch. Hydrobiol.* 156(2): 181 –202.
- García de Jalón D., y González del Tánago M. (1986). Métodos biológicos para el estudio de la calidad de las aguas. Aplicación a la cuenca del Duero. ICONA. Monografía 45. Madrid. 244 p.
- Ghetti, P.F. (1997). Manuale di applicazione indice biotico esteso (I.B.E.). I macroinvertebrati nel controllo della qualità degli ambienti di acque correnti. Prov. Autonomia di Trento. Agencia provinciale per la protezione dell'ambiente. Trento.
- Ghetti, P.F. y G. Bonazzi (1981). I macroinvertebrati nella sorveglianza ecologica dei corsi d'acqua. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/127, 169 pág.
- González del Tánago M. y García de Jalón D. (1984). Desarrollo de un índice biológico para estimar la calidad de las aguas de la cuenca del Duero. *Limnetica* 1: 263-272.
- Hellawell, J.M. (1986). Biological indicator of freshwater pollution and environmental management. Elsevier Science Publ. Ltd., England, 546 pp.
- Hering, D., Verdonschot, P.F.M., Moog, O. y Sanding L. Editors (2004). Integrated Assessment of Running Waters in Europe. *Hydrobiologia* 513: 1-3 (Special issue)
- Jáimez-Cuellar, P., Vivas, S., Bonada, N., Robles, Mellado, A., Álvarez, M., Avilés, J., Casas, J., Ortega, M., Pardo, I., Prat, N., Rieradevall, M., Sáinz-Cantero, C.E., Sánchez-Ortega, A., Suárez, M.L., Toro, M., Vidal-Abarca, M.R., y Zamora-Muñoz, C. y J. Alba-Tercedor (2004). Protocolo GUADALMED (PRECE). *Limnetica* (2002) 21(3-4): 187-204.
- Kolkwitz R. y M. Marsson (1902). Grundzüge für die biologische Beurteilung der Wassers nach seiner Flora und Fauna. Mitt. Prüfungsanst. Wasserversog. Abwasserreinig 1: 33-72.
- Kornijow R., Kairesalo T. (1994). A simple apparatus for sampling epiphytic communities associated with emergent macrophytes. *Hydrobiologia* 294: 141-143.
- Margalef, R. (1951). Species diversity in natural communities. *Barcelona, Publ. Inst. Biol. Appl.* 6: 59-72.
- Moreno-Amich, R., Quintana, X.D., Suñer, L. Trobajo, R. Y Gascón, S. (1999). Dinámica del heleoplancton en relación a las fluctuaciones hidrológicas en "Aiguamolls de l'Empordà" (NE de la Península Ibérica). Propuesta de un método sencillo de monitorización basado en la abundancia de grupos taxonómicos. *Limnetica* 16: 17-31
- Moss et al. (2003). The determination of ecological status in shallow lakes – a tested system (ECOFAME) for implementation of the European Water Framework Directive. *Aquatic Conservation. Marine and Freshwater Ecosystems*, 13: 507-549.
- Munné, A. y Prat, N. (1999). Regionalización de la cuenca del Ebro para el establecimiento de los objetivos del estado ecológico de sus ríos. Informe para la CHE (Oficina de Planificación Hidrológica). Zaragoza, 186p.
- National Water Council (1981): River Quality: the 1980 survey and future outlook. London.
- O'Malley C. (1995). Seven ways to a successful dipping career. *Wings Beats* 6 (4): 23-24.
- Palau, A. y Palomés, A. (1986). Los macroinvertebrados bentónicos como elementos de juicio para la evaluación de la calidad biológica del río Segre (Lérida, NE España). *Limnetica* 2: 205-216.
- Parlamento Europeo de la Unión Europea (2000). Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community actino in the field of water policy. *Off. J. Eur. Comm.* 327: 1-72.
- Prat, N., G. González y X. Millet (1986). Comparación crítica de dos índices de calidad del agua ISQA y BILL. *Tecnología del agua*, 31: 33-49.
- Prat, N., Munné, A., Rieradevall, M., Solá, C. y Bonada, N. (2000). ECOSTRIMED Protocolo para determinar el estado ecológico de los ríos mediterráneos. Diputació de Barcelona. Área de Medi Ambient (Estudis de la Qualitat Ecológica dels Rius: 8). 94 págs.
- Prat, N., Puig, M.A., i González, G. (1983). Predicció i control de la qualitat de les aigües dels rius Besòs i Llobregat. II. El poblament faunístic i la seva relació amb la qualitat de les aigües. *Monografies*, 9. Diputació de Barcelona. Servei del Medi Ambient.
- Prat, N., Rieradevall, M., Munné, A. y Chacón G. La qualitat ecológica del Besòs i el Llobregat. Informe 1994.1995. Diputació de Barcelona.
- Rico E., Rallo A., Sevillano, M.A. y Arretxe M.L. (1992). Comparison of several biological indices based on river macroinvertebrate benthic community for assessment of running water quality. *Annl. Limnol.* 28(2), 147-156.
- Rico E., Rallo, A., Sevillano, M.A. y Arretxe M.L. (1992). Comparison of several biological indices based on river macroinvertebrate benthic community for assessment of running water quality. *Annl. Limnol.* 28(2): 147-156.
- Rosenberg, D.M. y Resh, V.H. (1993). Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. Chapman y Hall. 488 p.
- Rosenberg, D.M., Davies, I.J., Cobb, D.G. y Wiens A.P. Protocols for Measuring Biodiversity: Benthic Macroinvertebrates in Fresh Waters. Freshwater Institute, 501 University Crescent, Winnipeg, Manitoba, R3T2N6.

- Shannon, C.E. y W. Weaver (1963). *The Mathematical Theory of Communication*. Univ. of Illinois Press. ISBN 0252725484.
- Spence K., Soranno P.A. y Serbin R.D. (2000). Macroinvertebrates associated with submerged macrophytes: sample size and power to detect effects. *Hydrobiologia* 441: 133-139.
- Stevenson R.J., Bailey, R.C., Harrass M.C., Hawkins, CH. P., Alba-Tercedor J., Couch C., Dyer, S., Fulk, F.A., Harrington J.M., Hunsaker C.T. y Johnson R.K. (2004). Designing Data Collection for Ecological Assessments. In: *Ecological Assessment of Aquatic Resources*. Michael T. Babour et al. editors. 55-84 p.
- Stevenson R.J., Bailey, R.C., Harrass M.C., Hawkins, CH. P., Alba-Tercedor J., Couch C., Dyer, S., Fulk, F.A., Harrington J.M., Hunsaker C.T. y Johnson R.K. (2004). Interpreting Results of Ecological Assessments. In: *Ecological Assessment of Aquatic Resources*. Michael T. Babour et al. editors. 85-111 p.
- Verneaux, J. y G. Tuffery (1967). Une méthode de zoologique pratique de détermination de la qualité biologique des eaux courantes. *Annales scientifiques de l'Université de Besaçon, Zoologie* 3: 79-90.
- Vinson, M.R. y Hawkins, C.P. (1996). Effects of sampling area and subsampling procedure on comparisons of taxa richness among streams. *Journal North American benthological society*, 15: 392-399.
- Williams, D.D. y Hynes, H.B.N., 1976. The recolonization mechanisms of stream benthos. *Oikos*, 27: 265-272.
- Woodiwis F.S. (1978). Second Technical Seminar – Background information. Commission of the European Communities.
- Woodiwis, F.S. (1964). The biological system of stream classification used by Trent River Board. *Chem. Indust.*, 11: 443-447.
- Wright J.F., Armitage P.D. y M.T. Furse (1989). Prediction of invertebrate communities using stream measurements. *Regulated Rivers* 4: 147-155.
- Wright, J.F., Armitage, P.D. Furse, M.T. y Moss, D. (1985). The classification and prediction of macroinvertebrate communities in British rivers. *Rep. Freshwat. biol.Ass.* 53:80-93.
- Wright, J.F., Furse M.T. y P.D. Armitage (1993). RIVPACS – a techniques for evaluating the biological quality of rivers in the UK. *European Water pollution Control*, 3(4): 15-25.
- Wright, J.F., Sutcliffe, D.W. y Furse, M.T. (2000). Assessing the biological quality of fresh waters. RIVPACS and other techniques. *Freshwater Biological Association*.
- Wrona, F.J., Culp, J.M. y R.W. Davies (1982). Macroinvertebrate subsampling: a simplified apparatus and approach. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 39:1051 – 1054.
- Zamora-Muñoz, C., Sáinz-Cantero C.E., Sánchez-Ortega, A. y Alba-Tercedor, J. (1995). Are biological indices BMWP' and ASPT' and their significance regarding water quality seasonally dependent? Factors explaining their variations. *Water Research* 29(1): 285-290.
- BIBLIOGRAFÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS INVERTEBRADOS BENTÓNICOS**
- Adam, W. (1960). *Faune de Belgique. Tome I. Mollusques terrestres et dulcicoles*. Ed. Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique. 402 pp.
- Alba – Tercedor, J. (1981). *Recopilación de las citas de efemerópteros en la Península Ibérica e Islas Baleares*. Trab. Monogr. Dep. Zool. Univ. Granada, (N.S.), 4 (2): 41-81.
- Alba – Tercedor, J. (1982). *Las familias y géneros de las ninfas de Efémeras de la Región Paleártica Occidental*. Claves para la identificación de la fauna española, 4. Publicaciones de la Universidad Complutense de Madrid. 28 pp.
- Alba – Tercedor, J. y Derka, T. (2003). *Torleya nazarita* sp.n., a new species from southern Spain (Ephemeroptera: *Ephemerellidae*). *Aquatic Insects*, 25(1): 23-32.
- Alba – Tercedor, J. & Derka, T. (2004). The status of knowledge of the genus *Ecdyonurus* in the Iberian Peninsula, with description of two new species of the *E. venosus* group from Spain (Ephemeroptera: Heptageniidae). *Aquatic Insects*, 26 (3/4): 227-242.
- Alonso, M. (1996). *Crustacea, Branchiopoda*. M.A. Ramos Editor. Fauna Ibérica, 7. Museo Nacional de Ciencias naturales. CSIC. Madrid. 486 págs.
- Arconada, B. y Ramos, M.A. (2001). New data on Hydrobiidae Systematics: two new genera from the Iberian Peninsula. *Journal of Natural History*, 35: 949-984.
- Aston, R. J. (1971). The Oligochaeta worms of four Welsh mountain streams. *Nature Wales*, 12: 213-220.
- Azpeitia, F. (1929). *Monografía de las Melanopsis vivientes y fósiles de España*. Mem. Inst. Geol. Min. España. 402 pp.
- Azpeitia, F. (1993). *Conchas bivalvas de agua dulce de España y Portugal*. Mem. Inst. Geol. Min. España. 2 tomos: 402 y 763 pp.
- Aubert, J. (1963). *Les Plécoptères de la Péninsule Ibérique*. *EOS*, 29 (1/2): 23-107.
- Baena, M. y Vázquez, M.A. (1986). Catálogo preliminar de los Heterópteros acuáticos ibéricos (Heteroptera: Nepomorpha, Gerromorpha). *Graellsia*, 42: 61-89.
- Ball, I.R. y Reynoldson, T.B. (1981). *British Planarians*. Cambridge University Press, New York.
- Baltanás, A., Beroiz, B. y López, A. (1996). *Lista faunística y bibliográfica de los Ostrácodos no-marinos (Crustacea, Ostracoda) de la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 12. 71 pp.
- Bargues, M.D., Vigo, M., Horak, P., Dvorak, J., Patzner, R.A., Pointier, J.P., Jackiewicz, M., Meier-Brook, C. y Mas-Coma, S. (2001). European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematoidases, base don nuclear ribosomal DNA ITS-2 sequences. *Infections, Genetics and Evolution*, 1: 85-107.

- Belfiore, C. (1983). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane*. 24. *Efemeroterteri*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/201. 113 pp.
- Boeters, H.D. (1988). Moitessieriidae und Hydrobiidae in Spanien und Portugal (Mollusca: Prosobranchia). *Arch. Moll.*, 118(4/6): 181-261.
- Bouchard, R. W., Jr. (2004). *Guide to aquatic macroinvertebrates of the Upper Midwest*. Water Resources Center, University of Minnesota, St. Paul, MN. 208 pp.
- Bouchard, M., Tachet, H. y Perrin, J.F. (1982). Les Hydropsychidae (Trichoptera) du Haut-Rhone entre Geneve et Lyon. *Annales de Limnologie*, 18(1): 61-80.
- Brindle, A. (1960). The larvae and pupas of the British Tipulidae (Diptera: Tipulidae). *Transactions of the Society for British Entomology*, 14 (3): 63-111.
- Brindle, A. (1967). The larvae and Pupae of the british *Cylindrotominae* and *Limoniinae* (Diptera, Tipulidae). *Transactions of the Society for British Entomology*, 17(7): 151-215.
- Camargo, J.A. y García de Jalón, D. (1992) Redescrición de la larva de *Agapetus laniger* (Pictet, 1834) (Trichoptera, Glossosomatidae) a partir de ejemplares de la Península Ibérica. *Boln. Asoc. Esp. Ent.*, 16: 83-93.
- Campaioli, S., Ghetti, P.F., Minelli, A. y S. Ruffo (1994). *Manuali per il riconoscimento dei macroinvertebrati delle acque dolci italiane*. Provincia Autonoma di Trento, vol. I.
- Carchini, G. (1983). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 21. Odonati. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/198. 80 pp.
- Castagnolo, L., Franchini, D. y Giusti, F. (1980). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane*. 10. *Bivalvi*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/49. 64 pp.
- Conesa, M.A. (1985). *Larvas de Odonatos*. Claves para la identificación de la fauna española, 14. Publicaciones de la Universidad Complutense de Madrid. 39 pp.
- Consiglio, C. (1980). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 9. Plecotteri. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/77. 68 pp.
- Dahm, A. G. (1958). Taxonomy and ecology of five species groups in the family Planariidae (Turbellaria, Tricladida, Paludicola). Malmö-Nya Litografen. 241 pp.
- Davies, L. (1968). A key to the British species of Simuliidae (Diptera) in the larval, pupal and adult stages. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 24. 126 pp.
- Dethier, M. (1985 – 86). Hétéroptères aquatiques et ripicoles. Genres et principales espèces. *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 54 (10): 250-261 y 55 (1): 11-40.
- Dethier, M. y Haenni, J.P. (1986). Planipennes, megalopteres et lepidopteres a larves aquatiques. *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 55(6): 201-224.
- De Manuel, J. (1997). Rotífers dels embassaments espanyols peninsulars: Ecologia I Aspectes sistemàtics I zoogeogràfics. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. Facultad de Biología. Departamento de Ecología. 190 págs.
- De Pauw, N. y Vannevel, R. (1991) *Macro-Invertebraten en Waterkwaliteit*. Dossiers stichting Leefmilieu, 11: 316 pp.
- De Pauw, N., Van Damme, D. y Bij De Vaate, A., (1995). Manual for macro-invertebrate identification and water quality assessment. Document intended for use in the "Integrated Programme for implementation of the Recommended Trans-national Monitoring Strategy for the Danube River Basin" a CEC PHARE/TACIS project. State University of Ghent.
- Descarpentries, A. y Villiers, A. (1973). *Petits animaux des eaux douces*. Natan Ed., Paris.
- Disney, R.H.L. (1975). *A key to British Dixidae*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication, No. 31. 78 pp.
- Dussart, B. (1967). *Les Copépodes des eaux continentales d'Europe occidentale, I: Calanoïdes et Harpacticoides*. Boubee y Cie Ed. Collection « Faunes et Flores actuelles ». Paris. 500 págs.
- Dussart, B. (1969). *Les Copépodes des eaux continentales d'Europe occidentale, II. Cyclopoïdes et biologie*. Bouee y Cie Ed., Collection « Faunes et Flores actuelles ». Paris.
- Edington, J. M. y Hildrew, A.G. (1981). *A key to the caseless caddis larvae of the British isles with notes on their ecology*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 43. 92 pp.
- Elliot, J. M. (1977). *A key to the larvae and adults of British freshwater Megaloptera and Neuroptera, with notes on their life cycles and ecology*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 35. 52 pp.
- Elliot, J.M. y Mann, K.H. (1979). *A key to the British freshwater leeches*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 40. 72 pp.
- Elliot, J.M. Humpesch, U.H. y Macan, T.T. (1988). *Larvae of the British Ephemeroptera: A key with ecological notes*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 49. 145 pp.
- Faessel, B. (1985). Les trichoptères. Données biologiques, éthologiques et écologiques. Clés de détermination larvaire des familles et des principaux genres de France. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 299: 1-41.
- Fitter, R. y Manuel, R. (1986). *A Collins field guide to Freshwater life of Britain and North-West Europe*. William Collins Sons y Co. Ltd, London, 382 pp.
- Friday, L.E. (1988). A key to the adults of British Water Beetles. *Field Studies*, 7: 1-151.
- Gamo-García, J. (1987). *Claves de identificación de los turbelarios de las aguas continentales de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación Española de Limnología. 35 pp.

- García de Jalón, D. (1981). *Description of Hydropsyche larvae found in the Iberian Peninsula*. Proceedings of the 3rd International Symposium on Trichoptera. Series Entomologica, 20: 87-92. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- Gasull, L. (1971). Fauna malacológica de las aguas continentales del Sudeste Ibérico. *Bol. Soc. Hist. Nat. Baleares*, 16: 23-93.
- Gasull, L. (1981). Fauna malacológica terrestre y de agua dulce de la provincia de Castellón de la Plana. *Bol. Soc. Hist. Nat. Baleares*, 25: 55-102.
- Germain, L. (1969). *Faune de France. Mollusques terrestres et fluviatiles*. Klaus reprint. Nendeln/Liechtenstein. 817 pp.
- Ghetti, P.F. y McKenzie, K. (1981). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 11. Ostracodi*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/108. 83 pp.
- Girod, A., Bianchi, I. y Mariani, M. (1980). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 7. Gasteropodi, 1*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/44. 86 pp.
- Giusti, F. y Pezzoli, E. (1980). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 8. Gasteropodi, 2*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/47. 67 pp.
- Gledhill, T., Sutcliffe, D.W. y Williams, W.D. (1993). *British Freshwater Crustacea Malacostraca: A Key with Ecological Notes*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 52. 173 pp.
- Glöer, P. y Meier-Brook, C. (1994). *Süsswassermollusken Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung. Hamburg*. 136 pp.
- González, G. (1998). *Claves para la identificación de las larvas y pupas de los simúlidos (Diptera) de la Península Ibérica*. Asociación Española de Limnología. 77 pp.
- González, M., Da Terra, L.S.W., García de Jalón, D. y Cobo, F. (1992). *Lista faunística y bibliográfica de los Tricópteros de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 11. 200 pp.
- Henry, J.P. y Magniez, G. (1983). Crustacées Isopodes (principalment Asellotes). *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 52(10): 319-357.
- Hynes, H.B.N. (1977). *A key to the adults and nymphs of British Stoneflies (Plecoptera) with notes on their Ecology and Distribution*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 17. 92 pp.
- Illies, J. (1978). *Limnofauna Europaea*. Gustav Fischer Verlag-Stuttgart-New York, Swets y Zeitlinger-Amsterdam. 532 pp.
- Jiménez, J. M. y García-Más, I. (1981). El género *Batrachobdella* Viguer, 1879, en la Península Ibérica (Hirudinea, Glossiphoniidae). *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.)*, 79: 265-271.
- Jiménez, J.M. y García – Más, I. (1982). Hirudíneos de España: Catálogo provisional. *Bolm. Soc. Port. Cièn. Nat.*, 20: 119-125.
- Kiefer, F. (1978a). Freilebende Copepoda. In: *Das zooplankton der binnengewässer*, 2 Teil: 1-343 (Die Binnengewässer 26, 2 Teil). Schweizerbart, Stuttgart.
- Kiefer, F. (1978b). Calanoida. In: *Limnofauna europaea*. J. Illies (ed.): 211-213. G.F.Verlag. Stuttgart-New York.
- Koste, W. (1978). *Rotatoria. Die Radertiere Mitteleuropas (Überordnung Monogononta)*. Bestimmungswerk begründet von Max Voigt. 2 vols. (Borntraeger, Stuttgart).
- Lafont, M. (1983). Anélides Oligochètes. *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 4: 108-135.
- Macan T.T. (1975). *Guía de animales. Invertebrados de agua dulce*. Ediciones Universidad de Navarra. Pamplona. 118 págs.
- Macan, T.T. (1977). *A key to the British fresh- and brackish-water Gastropods with notes on their ecology*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 13. 46 pp.
- Mann, K.H. (1962). *Leeches (Hirudinea). Their structure, Physiology, Ecology and Embryology*. Pergamon Press, 201 pp.
- Margalef, R. (1953). *Los crustáceos de las aguas continentales ibéricas*. Min. Agricultura, Inst. For. Inv. Exp., Madrid 243 pp.
- Margalef, R. (1955). *Los organismos indicadores en la Limnología. Biología de las aguas continentales. 12*. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias. Madrid. 300 pp.
- Martínez-Ortí, A. y Robles, F. (2003). *Moluscos continentales de la Comunidad Valenciana*. Generalitat Valenciana. Conselleria de Territori i Habitatge. 259 pp.
- McCafferty, W.P. (1981). *Aquatic Entomology*. Science Books International. Boston.
- McCafferty, W.P. (1983). *Aquatic Entomology*. Jones and Bartlet Publishers, Inc. 448 pp.
- Meier-Brook, C. (1983). Taxonomic studies on *Gyraulus* (Gastropoda: Planorbidae). *Malacología*, 24(1-2): 1-113.
- Miller, P.L. (1987). Dragonflies. *Naturalists' Handbooks*, 7: 1-84.
- Minelli, A. (1977). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane 1. Irudinei*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/2. 43 pp.
- Minelli, A. (1979). *Fauna d'Italia: Hirudinea*. Ed. Calderini. Bologna. 152 pp.
- Montes, C. y Soler, A.G. (1986). *Lista faunística y bibliográfica de los coleópteros acuáticos Dryopoidea (Dryopidae y Elmidae) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 3. 38 pp.
- Moretti, G. (1983). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 19. Tricotteri*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/1996. 155 pp.
- Mouthon, J. (1982). Les mollusques dulcicoles. Données biologiques et écologiques. Clés de détermination des principaux genres de Bivalves et de Gasterópodes de France. *Bull. Franç. Pisciculture*, 5: 1-27.
- Needham, J.G. y Needham, P.R. (1978). *Guía para el estudio de los seres vivos de las aguas dulces*. Ed. Reverté. Barcelona. 131 pp.

- Nieser, N. y Montes, C. (1984). *Lista faunística y bibliográfica de los Heterópteros acuáticos (Nepomorpha y Gerromorpha) de España y Portugal*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 1. 69 pp.
- Nieser, N., Baena, M., Martínez-Avilés, J. y Millán, A. (1994). *Claves para la identificación de los heterópteros acuáticos (Nepomorpha y Gerromorpha) de la Península Ibérica- con notas sobre las especies de las Islas Azores, Baleares, Canarias y Madeira*. Asociación Española de Limnología. 112 pp.
- Nourisson, M. y Thierry, A. (1988). Crustacés Branchiopodes (Anostracés, Notostracés, Conchostracés). *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 57(3-4): 75-135.
- Ocaña, A. (1990). *Clave de identificación de las especies de nematodos dulceacuicolas de la Península Ibérica (órdenes: Monhysterida, Araeolaimida, Chromadorida y Enoplida)*. Asociación Española de Limnología. 83 pp.
- Pattée, E. y Gourbault, N. (1981). Turbellariés triclades paludicoles (planaires d'eau douce). *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 9: 279-303.
- Pinkster, S. (1973). The *Echinogammarus berilloni*-group, a number of predominantly Iberian amphipod species (Crustacea). *Bijdr. Dierk.*, 43 (1): 1-38.
- Pirisinu, Q. (1981). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 13. Palpicorni (Coleoptera: Hydraenidae, Helophoridae, Spercheidae, Hydrochidae, Hydrophilidae, Sphaeriidae)*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/128. 97 pp.
- Puig, M.A. (1984). *Efemerópteros y Plecópteros de los ríos catalanes*. Tesis de Doctorado. Universidad de Barcelona, 533 pp.
- Puig, M.A. (1999). *Els macroinvertebrats dels rius catalans. Guia il·lustrada*. Generalitat de Catalunya. Departament de Medi Ambient. 251 pp.
- Ramos, M.A., Arconada, B., Rolán, E. y Moreno, D. (2000). A new genus and a new species of hydrobiid snail (Mollusca; Gastropoda; Hydrobiidae) from eastern Spain. *Malacologia*, 43(1-2): 75-101.
- Reynoldson, T.B. (1978). *A key to the British Species of Freshwater Triclads*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication. N° 23: 32 pp.
- Richoux, P. (1982). Introduction pratique a la systematique des organismes des eaux continentales françaises. Coléoptères aquatiques (Genres: Adultes et Larves). *Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, 51 (4,8 y 9): 105-304.
- Rico, E. Pérez, L.C. y Montes, C. (1990). *Lista faunística y bibliográfica de los Hydradephaga (Coleoptera: Halplidae, Hygrobiidae, Gyrinidae, Noteridae, Dytiscidae) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 7. 216 pp.
- Rivosecchi, L. (1984). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 28. Ditteri*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/206. 177 pp.
- Rolán, E. y Martínez-Ortí, A. (2003). Nuevas especies de la familia Hydrobiidae (Mollusca, Orthogastropoda) de la Comunidad Valenciana. *Iberus*, 21(1): 191-206.
- Sánchez-ortega, A. y Alba-Tercedor, J. (1987). *Lista faunística y bibliográfica de los Plecópteros (Plecoptera) de la Península Ibérica y Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 4. 133 pp.
- Sánchez-Ortega, A. y Alba-Tercedor, J. (2002). *Lista faunística y bibliográfica de los Plecópteros (Plecoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 16. 198 pp.
- Sansoni, G. (1988). *Atlante per il riconoscimento dei Macroinvertebrate dei corsi d'acqua italiani*. Provincia Autonoma di Trento. Stazione Sperimentale Agraria Forestales. Servizio Protezione Ambiente. 191 pp.
- Satchell, G. H. (1947). *The larvae of the british species of Psychoda (Diptera: Psychodidae)*. University College, Nottingham, 38: 51-69.
- Satchell, G.H. (1949). *The early stages of the british species of Pericoma Walker (Diptera: Psychodidae)*. *Transactions of the Royal Society of London*, 100 (15): 411-447.
- Savage, A.A. (1989). *Adults of the British aquatic Hemiptera Heteroptera. A key with ecological notes*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No 50: 173 pp.
- Sawyer, R.T. (1974). Leeches (Annelida: Hirudinea). En: *Pollution Ecology of Freshwater Invertebrates* (Eds. C.V. Hart, jr. y S.L.H. Fuller). Pp. 82-136. Academic Press.
- Soriano, O., Cobo, F. Rieradevall, M. y Prat, N. (1997). *Lista faunística y bibliográfica de los quironómidos (Diptera, Chironomidae) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 13. 210 pp.
- Tachet H., Bournaud M. y Richoux P. (1980). *Introduction a l'étude des macroinvertebrées des eaux douces (Système-tique élémentaire et aperçu écologique)*. Université Lyon I. Association française de Limnologie.
- Tachet, H., Richoux, P y Usseglio-Polatera, P. (2000). *Invertebrés d'eau douce. Systématique, biologie, écologie*. CNRS editions. 588 págs.
- Tamani, L. (1979). *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. 6. Eterotteri Acquatici*. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/45. 106 pp.
- Thorp, J.H. y Covich, A.P. (1991). *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press Inc. San Diego. California.
- Traveset, A. (1986). *Clave de identificación de las esponjas de agua dulce de la Península Ibérica*. Asociación Española de Limnología. 25 pp.
- Valdecasas, A.G. (1988). *Lista sinonímica y bibliográfica de las Hidracnelas (Acari, Hydrachnellae) de la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 5. 81 pp.

- Valladares, L.F. y Montes, C. (1991). *Lista faunística y bibliográfica de los Hydraenidae (Coleoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 10. 93 pp.
- Valladares, L.F. y Ribera, I. (1999). *Lista faunística y bibliográfica de los Hydrophiloidea acuáticos (Coleoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 15. 114 pp.
- Vázquez, A. y Baena, M. (1986). Las familias y géneros de los Hemípteros acuáticos de España. *Claves para la identificación de la fauna española*, 9. Pub. Univ. Complutense Madrid. 31 pp.
- Vera, R. (1978). *Claves de determinación de familias y géneros del orden Trichoptera (Larvas) de la Región Paleártica Occidental*. Universidad Complutense de Madrid. 122 pp.
- Verneaux, J. y Faessel, B. (1979). Larves du genre *Hydropsyche* (Trichoptères Hydropsychidae) taxonomie, données biologiques et écologiques. *Annales de Limnologie*, 12 (1): 7-16.
- Vidal-Abarca, C. y Suárez, M.L. (1985). *Lista faunística y bibliográfica de los moluscos (Gastropoda y Bivalvia) de las aguas continentales de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. Publ. N° 2. 193 pp.
- Vinçon, G. y Clergue-Gazeau, M. (1993). Les Simulies (Diptera, Simuliidae) dus Sud-Ouest de l'Europe: le crénal et l'épirhithral. *Annls. Limnol.*, 29(2): 157-169.
- Wallace, I.D., Wallace, B. y Philipson, G.N. (1990). *A key to the case-bearing caddis larvae of Britain and Ireland*. Freshwater Biological Association. Scientific Publication No. 51: 237 pp.
- Williams, D.D. y Feltmate, B.W. (1992). *Aquatic Insects*. C.A.B. Int., Toronto. 358 pp.
- Wilson, R.S. y Ruse, L.P. (2005). *A guide to the identification of genera of Chironomid pupal exuviae occurring in Britain and Ireland (including common genera from Northern Europe) and their use in monitoring lotic and lentic freshwaters*. Freshwater Biological Association Special Publication No. 13. 176 pp.
- Zamora-Muñoz, C. y Alba-Tercedor, J. (1992). Description of the larva of *Rhyacophila (Rhyacophila) nevada* Schmid, 1952 and key to the species of *Rhyacophila* of the Iberian Peninsula (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Aquatic Insects*, 14: 65-71.
- Zariquiey, R. (1968). Crustáceos decápodos ibéricos. *Investigación Pesquera*, 32: 1-510.

APÉNDICE

Formatos citados en los procedimientos

HOJA DE CÁLCULO DEL IBMWP

Nº Estación:
Código masa de agua:
Tipo:
UTM:

Río:
Localidad:
Fecha/Hora:
Técnico:

ARÁCNIDOS	Punt.	EFEMERÓPTEROS	Punt.	ODONATOS	Punt.
<i>Hidracarina</i>	4	<i>Baetidae</i>	4	<i>Aeshnidae</i>	8
COLEÓPTEROS		<i>Caenidae</i>	4	<i>Calopterygidae</i>	8
<i>Chrysomelidae</i>	4	<i>Ephemerelellidae</i>	7	<i>Coenagrionidae</i>	6
<i>Curculionidae</i>	4	<i>Ephemeridae</i>	10	<i>Cordulegasteridae</i>	8
<i>Dryopidae</i>	5	<i>Heptageniidae</i>	10	<i>Cordulidae</i>	8
<i>Dytiscidae</i>	3	<i>Leptophlebiidae</i>	10	<i>Gomphidae</i>	8
<i>Eimidae</i>	5	<i>Oligoneuridae</i>	5	<i>Lestidae</i>	8
<i>Gyrinidae</i>	3	<i>Polymitarcidae</i>	5	<i>Libellulidae</i>	8
<i>Halplidae</i>	4	<i>Potamanthidae</i>	10	<i>Platycnemididae</i>	6
<i>Hydraenidae</i>	5	<i>Prosopistomatidae</i>	7	OLIGOQUETOS	
<i>Hydrochidae</i>	5	<i>Siphonuridae</i>	10	Todos	1
<i>Hydrophilidae</i>	3	HETERÓPTEROS		PLECOPTEROS	
<i>Hygrobiidae</i>	3	<i>Aphelocheiridae</i>	10	<i>Capniidae</i>	10
<i>Noteridae</i>	3	<i>Corixidae</i>	3	<i>Chloroperlidae</i>	10
<i>Psephenidae</i>	3	<i>Gerridae</i>	3	<i>Leuctridae</i>	10
<i>Scirtidae</i>	3	<i>Hydrometridae</i>	3	<i>Nemouridae</i>	7
CRUSTÁCEOS		<i>Mesovelidae</i>	3	<i>Perlidae</i>	10
<i>Asellidae</i>	3	<i>Naucoridae</i>	3	<i>Perlodidae</i>	10
<i>Astacidae</i>	8	<i>Nepidae</i>	3	<i>Taeniopterygidae</i>	10
<i>Atyidae</i>	6	<i>Notonectidae</i>	3	TRICOPTEROS	
<i>Corophidae</i>	6	<i>Pleidae</i>	3	<i>Beraeidae</i>	10
<i>Gammaridae</i>	6	<i>Velidae</i>	3	<i>Brachycentridae</i>	10
<i>Ostracoda</i>	3	HIRUDINEOS		<i>Calamoceratidae</i>	10
<i>Palaemonidae</i>	6	<i>Erpobdellidae</i>	3	<i>Ecnomidae</i>	7
DIPTEROS		<i>Glossiphoniidae</i>	3	<i>Glossosomatidae</i>	8
<i>Athericidae</i>	10	<i>Hirudidae</i>	3	<i>Goeridae</i>	10
<i>Blephariceridae</i>	10	<i>Piscicolidae</i>	4	<i>Hydropsychidae</i>	5
<i>Ceratopogonidae</i>	4	NEUROPTEROS		<i>Hydroptilidae</i>	6
<i>Chironomidae</i>	2	<i>Sialidae</i>	4	<i>Lepidostomatidae</i>	10
<i>Culicidae</i>	2	LEPIDÓPTEROS		<i>Leptoceridae</i>	10
<i>Dixidae</i>	4	<i>Pyrilidae</i>	4	<i>Limnephilidae</i>	7
<i>Dolichopodidae</i>	4	MOLUSCOS		<i>Molannidae</i>	10
<i>Empididae</i>	4	<i>Ancyidae</i>	6	<i>Odonotoceridae</i>	10
<i>Ephyridae</i>	2	<i>Bithyniidae</i>	3	<i>Philopotamidae</i>	8
<i>Limoniidae</i>	4	<i>Ferrissidae</i>	6	<i>Phryganeidae</i>	10
<i>Muscidae</i>	4	<i>Hydrobiidae</i>	3	<i>Polycentropodidae</i>	7
<i>Psychodidae</i>	4	<i>Lymnaeidae</i>	3	<i>Psychomyiidae</i>	8
<i>Ptychopteridae</i>	4	<i>Neritidae</i>	6	<i>Rhyacophilidae</i>	7
<i>Rhagionidae</i>	4	<i>Physidae</i>	3	<i>Sericostomatidae</i>	10
<i>Sciomyzidae</i>	4	<i>Planorbidae</i>	3	<i>Thremmatidae</i>	10
<i>Simuliidae</i>	5	<i>Sphaeriidae</i>	3	TURBELARIOS	
<i>Stratiomyidae</i>	4	<i>Thiaridae</i>	6	<i>Dendrocoelidae</i>	5
<i>Syrphidae</i>	1	<i>Unionidae</i>	6	<i>Dugesidae</i>	5
<i>Tabanidae</i>	4	<i>Valvatidae</i>	3	<i>Planariidae</i>	5
<i>Thaumaleidae</i>	2	<i>Viviparidae</i>	6		
<i>Tipulidae</i>	5				

PUNTUACIÓN DEL ÍNDICE IBMWP (Alba-Tercedor et al., 2002; Jiménez-Cuellar et al., 2004):		
CLASE DE CALIDAD	IBMWP	SIGNIFICADO
I	> 150	Calidad muy buena. Aguas muy limpias (prístina).
II	101-150	Calidad buena. Aguas no contaminadas o no alteradas de modo sensible.
III	61-100	Calidad aceptable. Son evidentes algunos efectos de contaminación.
IV	36-60	Calidad dudosa. Aguas contaminadas (sistema alterado).
V	16-35	Calidad crítica. Aguas muy contaminadas (sistema muy alterado).
	<15	Calidad muy crítica. Aguas fuertemente contaminadas (sistema fuertemente alterado).

EJEMPLO DE HOJA DE CAMPO PARA EL MUESTREO BASADO EN USEPA (Elaborado por el Equipo de la Universidad de Vigo)

Localidad		Código	Investigador		Mapa 1:25.000	Fecha	Hora Inicio/Final
Descripción del punto de muestreo							
Provincia		Municipio			Observaciones y esquema		
Nombre del curso		Orden del curso	Unidad de explotación				
0 m Pto	Longitud	Latitud	Altitud (m)				
100 m Pto	Longitud	Latitud	Altitud (m)				
Sub-ecoregión		Cuenca a que pertenece	Subcuenca (km ²)				
Tipo hidrológico <input type="checkbox"/> permanente <input type="checkbox"/> temporal		Lagos / embalses aguas arriba <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí - Dist (km)					
Pendiente del curso (m/km)		Pendiente del tramo (m/km)	Distancia al origen (km)				
Tipología A (DMA)							
Altitud		Tamaño	Geología + Tipo dominante				
<input type="checkbox"/> Alto		<input type="checkbox"/> pequeño	<input type="checkbox"/> calcáreo <input type="checkbox"/> orgánico <input type="checkbox"/> aluvial				
<input type="checkbox"/> Medio		<input type="checkbox"/> mediano	<input type="checkbox"/> silíceo				
<input type="checkbox"/> Bajo		<input type="checkbox"/> grande	pizarra-esquistos-granito				
Usos en la llanura aluvial (cada 10 %) Tomar 500 m a cada lado del curso (<input type="checkbox"/> izquierda] ribera [derecha])							
<input type="checkbox"/> bosque autóctono caducifolio		<input type="checkbox"/> juncos / cañas		<input type="checkbox"/> tierra desbrozada		<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/> plantación de coníferas		<input type="checkbox"/> roquedo		<input type="checkbox"/> zona urbana		<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/> plantación de eucaliptos		<input type="checkbox"/> brezal/tojal/matorral		<input type="checkbox"/> zona industrial		<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/> bosque mixto (Mezcla)		<input type="checkbox"/> aguas estancadas		<input type="checkbox"/> otros:		<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/> humedal (Turbera)		<input type="checkbox"/> tierra cultivada		100%		100%	
<input type="checkbox"/> prados de hierbas / arbustos		<input type="checkbox"/> tierra de pastoreo					
Cobertura foliar del curso <input type="checkbox"/> 0% <input type="checkbox"/> 10% <input type="checkbox"/> 20% <input type="checkbox"/> 30% <input type="checkbox"/> 40% <input type="checkbox"/> 50% <input type="checkbox"/> 60% <input type="checkbox"/> 70% <input type="checkbox"/> 80% <input type="checkbox"/> 90% <input type="checkbox"/> 100%				Forma del canal			
Cobertura de la vegetación de ribera Izquierda: <input type="checkbox"/> 0% <input type="checkbox"/> 20% <input type="checkbox"/> 40% <input type="checkbox"/> 60% <input type="checkbox"/> 80% <input type="checkbox"/> 100% Derecha: <input type="checkbox"/> 0% <input type="checkbox"/> 20% <input type="checkbox"/> 40% <input type="checkbox"/> 60% <input type="checkbox"/> 80% <input type="checkbox"/> 100%				<input type="checkbox"/> serpenteante 			
Anchura media de la vegetación arbórea natural (m) izquierda derecha orilla				<input type="checkbox"/> trenzado 			
Número de masas de agua estancada en la llanura de inundación brazos laterales conectados brazos laterales temporales recientemente desconectados brazos laterales permanentes recientemente desconectados ausencia de masas de agua estancadas brazos laterales abandonados hace décadas en proceso de relleno masas de agua estancada en la llanura de inundación y alimentadas por afluentes otros tipos (especificar)				<input type="checkbox"/> anastomado 			
				<input type="checkbox"/> sinuoso 			
				<input type="checkbox"/> constreñido (natural) 			
				<input type="checkbox"/> constreñido (artificial) 			
Impacto humano en el tramo							
<input type="checkbox"/> Presas		Otras estructuras transversales <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Liberación de pulsos		Abstracción de agua <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Estancamiento		Canalización <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Enderezamientos		Eliminación de CWD <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Eliminación de meandros		Abrasión física <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Entubado		Incendio <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Desechos		Uso recreativo <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Vertido de cal		Minería <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Desagüe de aguas residuales		Substancias tóxicas <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Acidificación		Eutrofización <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Contaminación puntual		Contaminación difusa <input type="checkbox"/>					
<input type="checkbox"/> Otro							
<input type="checkbox"/> Eliminación / falta de vegetación natural en la llanura de inundación				<input type="checkbox"/> Vegetación vascular de ribera no-autóctona			

2

EJEMPLO DE HOJA DE CAMPO PARA EL MUESTREO BASADO EN USEPA (Elaborado por el Equipo de la Universidad de Vigo)

Localidad	Código	Investigador	Mapa 1:25.000	Fecha	Hora Inicio/Final
-----------	--------	--------------	---------------	-------	-------------------

Condiciones de Muestreo

Climatología [] Soleado [] Nublado [] Lluvioso	Condiciones muestreo [] Buena [] Regular [] Mala	Turbidez: [] agua clara [] agua turbia, se ve el fondo [] agua turbia, no se ve el fondo	Pto comienza: Pto termina:
--	--	--	-----------------------------------

Listado de Tareas por orden de realización

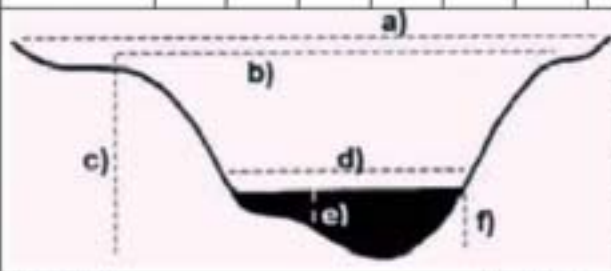
TAREA	Hecho	Fecha	Comentarios
Identificación de tramo			Examinar lugar, GPS, Mapa, Fotos
Físico-química "in situ"			
Recogida de aguas			
Invertebrados			
Diatomeas			
Perifiton (biomasa/Cla)			
Transecto/caudal			
Estadillo hábitat			
Listado de plantas			

Físico-Química (zona de corriente, 2 medidas espaciadas 10 min.) Porcentajes Resultantes de la estima de hábitats

Hora	Símbolo	Tipo hábitat	%	nº kicks de 20
Tª agua / aire (oxímetro)	*	Macrófitos sumergidos o emergentes		
Oxígeno %:	→	Rápidos sustrato duro		
Oxígeno (mg/l)	⊕	Bancos vegetados		
pH y Tª agua	⊗	Detritos (hojarasca, ramas, madera)		
Conductividad (µS/cm)	⊙	Pozas (describir sustrato: limo, arena, detritos, etc)		

Caudal y Transecto

Distancia (cm)							Medir 3 veces la velocidad del transecto (m/s)					
	1 vez (1 min.) Media Máx.		2 vez (1 min.) Media Máx.		3 vez (1 min.) Media Máx.							
Profundidad (mm)												



ancho del área de inundación (m)	
anchura media entre bancos (m)	
altura del banco (m)	
anchura media de la corriente (m)	
profundidad media de la masa de agua (m)	
profundidad máxima de la masa de agua (m)	

Perifiton Diatomeas

Metro y Anchura				
Macrófitas/-algas o Sedimento o Piedras				
Profundidad de muestreo (A/B/C)				
Situación (A/B/C)				
Tipos de vegetación	% cobertura	Apuntes	% cobertura	Apuntes
Hepáticas / Liquen / Musgo				
Juncos / Cañas / Macollas				
Flotantes con hojas (enraizadas)				
Anfibias				
Sumergidas de hoja ancha				
Sumergidas de hoja linear				
Sumergidas de hoja fina				
Algas filamentosas				
TOTAL				

Diatomeas :- Sustrato dominante:

Tipos de sustrato en mm:	Material orgánico	Arcilla (<0,0039) Cantos (16-64)	Limo (0,0039-0,063) Piedra pequeña (64-128)	Arena (0,063-2) Piedra grande (128-256)	Grava (2-16) Bloque (>256)
--------------------------	-------------------	-------------------------------------	--	--	-------------------------------

EJEMPLO DE FICHA PARA EL ÍNDICE QAELS PREPARADA PARA LAS ZONAS HÚMEDAS DE CATALUÑA

(Preparado por Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona para ACA)

taxón indicador	talasohalinas				dulces permanentes				dulces temporales			
	k_i	N_i	n_i	$k_i \times n_i$	k_i	N_i	n_i	$k_i \times n_i$	k_i	N_i	n_i	$k_i \times n_i$
cladóceros	<i>Daphnia curvirostris</i>				4				9			
	<i>Daphnia obtusa</i>								1			
	<i>Daphnia pulex</i>	8				6			6			
	<i>Daphnia magna</i>	6				1			3			
	<i>Simocephalus</i>	5				6			5			
	<i>Ceriodaphnia</i>					5			4			
	<i>Scapholeberis</i>	6				5						
	<i>Moina brachiata</i>					7			7			
	<i>Moina micrura</i>					4						
	<i>Bosmina</i>	5				6						
	<i>Pleuroxus</i>					6			1			
	<i>Alonella</i>								5			
	<i>Chydorus</i>	5				5			5			
	<i>Alona</i>					7			7			
	<i>Leydigia</i>					3						
	<i>Oxyurella</i>					7						
<i>Tretoccephala</i>								6				
calanoides	<i>Eurytemora</i>	8										
	<i>Calanipeda</i>	8										
	<i>Diaptomus</i>								10			
	<i>Mixodiaptomus</i>					9			4			
cyclopoides	<i>Halicyclops</i>	4										
	<i>Macrocyclus</i>					7						
	<i>Eucyclops</i>	4				7			6			
	<i>Tropocyclops</i>	1				6			6			
	<i>Paracyclops</i>					3						
	<i>Ectocyclops</i>					9						
	<i>Cyclops</i>	10				7			4			
	<i>Acanthocyclops</i>	5				6			4			
	<i>Megacyclops</i>					8			6			
	<i>Diacyclops</i>	7				10			6			
harpacticoides	<i>Camella</i>	6										
	<i>Tisbe</i>	1										
	<i>Nitokra</i>	4										
	<i>Canthocamptus</i>					10			6			
	<i>Cletocamptus</i>	7										
ostracodos	<i>Fabaeformiscandona</i>					7						
	<i>Cypria</i>					5						
	<i>Cyclocypria</i>								2			
	<i>Cypria</i>								9			
	<i>Eucypria</i>	5				9			5			
	<i>Bradleycypria</i>								5			
	<i>Bradleystrandesia</i>								3			
	<i>Herpetocypria</i>					4			5			
	<i>Heterocypria</i>	2				1			6			
	<i>Cypridopsis</i>	2				7			7			
	<i>Pleisocypridopsis</i>								1			
	<i>Sarsocypridopsis</i>	3										
	<i>Paralimnocythere</i>								7			
	<i>Cypridella</i>	7										
<i>Luxocochlea</i>	2											

$$N_{tot} = \sum_{i=1}^j N_i =$$

$$ACCO = \sum_{i=1}^j k_i \times n_i =$$

k_i = valor de calidad del taxón i (taxón indicador)

n_i = abundancia relativa del taxón y (N_i/N_{tot})

Índice QAELS: (2) cálculo del índice RIC

Nº de géneros de crustáceos =

Nº de géneros de adultos de coleópteros y heterópteros =

Nº de familias de larvas de insectos =

RIC =



Confederación Hidrográfica del Ebro. Comisaría de Aguas

Paseo Sagasta 24-28 • 50071 Zaragoza • Tel. 976 711 000 • Fax 976 214 596 • E-mail: che_calidad@chebro.es