Metodología para el establecimiento del estado ecológico en los ríos de la cuenca del Ebro según la directiva del agua

Protocolos de muestreo y análisis de indicadores biológicos

Concha DURÁN *
Miriam PARDOS *

* Confederación Hidrográfica del Ebro. Paseo de Sagasta, nº 24-28. E-50071 Zaragoza. España.
C/e: cduran@chebro.es; mpardos@chebro.es

Introducción

La Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60/CE, DMA) ha puesto en marcha, desde su publicación en el año 2000, una nueva forma de valorar el estado de los ríos. Se ha pasado de una visión utilitarista del agua, en la que la calidad de la misma venía determinada por los usos a los que iba destinada, a una visión del río como ecosistema, en la que el río en su conjunto (condiciones biológicas, físico-químicas e hidromorfológicas) ha de estar en buen estado. Por ello, los indicadores biológicos han cobrado una gran importancia y se está realizando un inmenso esfuerzo para estandarizar su muestreo y medida, de cara a la evaluación posterior del estado ecológico de las aguas superficiales.

A lo largo de 2004, la Confederación Hidrográfica del Ebro llevó a cabo una serie de sesiones de trabajo dirigidas a identificar los indicadores biológicos y los procedimientos metodológicos más adecuados para el establecimiento del estado ecológico de ríos y lagos tal y como establece la DMA. La fórmula utilizada fue la de reunir a un grupo de expertos a nivel nacional en los indicadores biológicos y favorecer, mediante el intercambio de datos, opiniones y experiencias, la recopilación de la información básica que permitiera la redacción de unos **protocolos**.

Los expertos validaron los protocolos, revisando y corrigiendo los borradores hasta completar el documento final.

Los protocolos pretenden ser prácticos y servir de ayuda en los trabajos de determinación del estado ecológico tanto a los gestores de las Administraciones como a las empresas del sector. Por esta razón los manuales que contienen los protocolos, se han puesto a disposición de todos los interesados en internet y pueden descargarse en la siguiente dirección:

http://oph.chebro.es/DOCUMENTACION/Calidad/CalidadDeAguas.html

Tabla I. Relación de expertos.

Fitobentos (microalgas bentónicas)	*Jaume Cambra, Luc Ector, Sergi Sabater*
Fitoplancton	*Eduardo Vicente, Caridad de Hoyos, Pedro Sánchez Castillo, Jaume Cambra.*
Macrófitos	*Santos Cirujano, Jaume Cambra, César Gutiérrez*
Zoobentos	*Javier Alba-Tercedor, Isabel Pardo, Narcís Prat, Ana Pujante*
Peces	*Adolf Sostoa, Diego García de Jalón, Emili García-Berthou*

¿En qué consisten los protocolos?

La aplicación de la 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 de las masas de agua epicontinentales.

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

- Selección de los elementos de calidad biológica, parámetros y métricas[1] 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 operativo[2].
- 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, se indican en la tabla II.

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 prenormas 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.

Tabla II. Elementos de calidad biológica considerados.

Elementos de calidad biológica (Ap. 1.1. 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 ictiológica	●	●

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.

Fruto de estas reuniones se han elaborado cinco manuales por cada uno de los cinco indicadores biológicos, que son:

- Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton.
- Protocolos de muestreo y análisis para fitobentos (microalgas bentónicas).
- Protocolos de muestreo y análisis para macrófitos.
- Protocolos de muestreo y análisis para ictiofauna.
- Protocolos de muestreo y análisis para invertebrados bentónicos.

La información obtenida en cada seminario se ha completado con datos obtenidos de fuentes bibliográficas cuyas referencias se incluyen en

[1] *En el documento se adoptan los siguientes términos y definiciones extraídos de la DMA y de las Guías de monitorización /* Monitoring guides *(Guías, 2003) 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, etcétera).*

** 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, etcétera).*

[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).*

Figura 1. Alga clorofícea volvocal.
Fondo documental de URS.
Foto del natural tomada con microscopio óptico por técnicos de URS.

cada uno de los manuales.

¿Qué información proporcionan?

Los cinco manuales presentan el siguiente esquema:

Generalidades

- Definiciones.
  - Valor indicador de indicador biológico considerado 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 indicador biológico considerado.
  - Selección de los puntos de control.
  - Frecuencia de muestreo.

Protocolo

- Equipos y reactivos.
- Muestreo en lagos y ríos.
- Tratamiento de las muestras.
- Identificación y recuento.
- Periodos de muestreo y frecuencia.
- Conservación y etiquetado de muestras.
- Identificación – Tratamiento de resultados.
- Control de calidad.

¿Qué indicadores biológicos incluye la Directiva Marco del Agua?

Fitoplancton

Se define como **fitoplancton** la comunidad de microorganismos, en su mayoría fotosintéticos, (microalgas, cianobacterias, flagelados heterótrofos y otros grupos sin clorofila) que vive suspendida en la masa de agua (fig. 1).

El fitoplancton se ha usado ampliamente como indicador del estado trófico de las masas de agua y existe abundante bibliografía que incluye métodos de muestreo y análisis. Su uso como indicador biológico en los ríos se ha discutido mucho en los grupos europeos de trabajo de la DMA. La mayoría de las opiniones coincide en que su uso en ríos debe restringirse a zonas de muy poca corriente. En España existe un conocimiento abundante del fitoplancton como indicador de calidad, especialmente en los embalses.

Fitobentos

El término **fitobentos** se refiere a los organismos autótrofos que viven asociados a cualquier sustrato del fondo en los ecosistemas acuáticos, e incluye cianobacterias, algas microscópicas (microalgas; fig. 2), macroalgas y macrófitos.

El término **perifiton** describe a la comunidad microbiótica que vive sobre sustratos sumergidos de diferente naturaleza (sustratos duros, vegetación acuática viva y muerta...); incluye microalgas, bacterias, hongos y protozoos. Diferentes grupos de algas forman parte del perifiton (diatomeas, clorofíceas, etcétera), así como las cianobacterias.

Los términos **epiliton**, **epifiton** y **epipelon** se refieren a los sustratos que colonizan las algas, que son sustratos pétreos, vegetación acuática y sedimento, respectivamente.

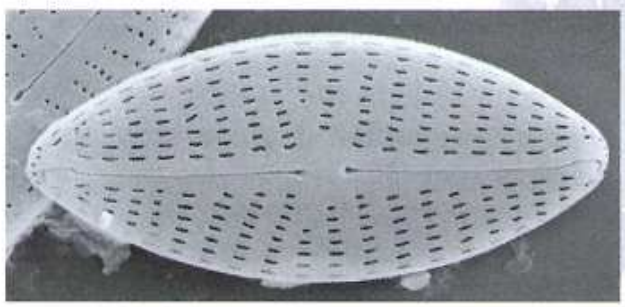

Figura 2. Navicula antonii, *vista externa (C. Bouillon y L. Ector, Centre de Recherche Public Gabriel Lippmann).*

Figura 3. Macrófitos.
a) Polygonum; *b)* Ceratophyllum demersum; *c)* Potamogeton crispus; *d)* Typha *sp.*
Fondo documental de URS.
Foto del natural tomada por técnicos de URS.

El documento correspondiente al fitobentos está dedicado a las microalgas bentónicas de aguas corrientes y de lagos.

El uso de microalgas bentónicas para evaluar la calidad del agua es una práctica habitual en muchos países europeos, y existe abundante bibliografía sobre su capacidad bioindicadora. No obstante la inmensa mayoría de los estudios realizados se refieren a diatomeas, y existe mucha menos información sobre los restantes grupos de algas. Asimismo, los ríos han sido objeto preferente de estudio, mientras que en los lagos el uso de las microalgas bentónicas como bioindicadores es más reciente. En la cuenca del Ebro se utilizan las diatomeas como indicadoras desde el año 2002.

Macrófitos

El término **macrófito** se refiere a las plantas acuáticas visibles a simple vista (fig. 3), entre las que se encuentran plantas vasculares (cormófitos), briófitos, macroalgas (algas caráceas y de otros grupos) y cianobacterias.

El término **hidrófito** describe a las plantas acuáticas en sentido estricto, es decir aquellas que completan su ciclo biológico cuando todas sus partes se encuentran sumergidas o flotando en la superficie (CIRUJANO y MEDINA, 2002). Por el contrario los **helófitos** son plantas anfibias con la parte inferior sumergida en el agua.

El protocolo dedicado a los macrófitos se

Figura 4. Zoobentos.
a) Familia Odontoceridae; b) familia Nertidae; c) familia Taeniopterygidae; d) familia Philopotamidae.
Fotos al natural tomadas por Javier Oscoz. Universidad de Navarra.

Figura 5. Peces.
a) Salaria fluviatilis;
Foto del natural proporcionada por Adolf de Sostoa (Universidad de Barcelona
b) Alburnus alburnus; *c)* Barbus graellsii; *d)* Chondrostoma miegii
Fotos del natural (ejemplares vivos durante la toma de medidas biométricas o ejemplares destinados a análisis toxicológicos) tomadas por URS.

centra en macrófitos de aguas corrientes y de lagos, especialmente, hidrófitos.

El uso de los macrófitos como indicadores del estado ecológico está claramente señalado en la DMA, y procede de experiencias realizadas, en Europa, en el marco de la vigilancia de la calidad de las aguas en aplicación de otras directivas europeas: Directiva de tratamiento de aguas urbanas residuales (91/271/EEC), Directiva de nitratos (91/676/EEC), y de normativas de diferentes países. En los EE. UU., los macrófitos se usan como indicadores de forma habitual y existen procedimientos estandarizados para el muestreo y procesado de muestras por parte de la Agencia de Protección Ambiental (*Environmental Protection Agency*).

En España, las experiencias con indicadores basados en macrófitos (especialmente en hidrófitos) se limitan en muchos casos al ámbito de la investigación, y éstos todavía no se han incluido en las redes de control de calidad gestionadas por la Administración.

Zoobentos

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 macroinvertebrados (el término «macroinvertebrados» es una abstracción artificial sin implicaciones taxonómicas) 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 larvarias); 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.

El documento correspondiente al zoobentos, está dedicado a los macroinvertebrados bentónicos de aguas corrientes y de lagos, y a los microinvertebrados de lagos y humedales.

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.

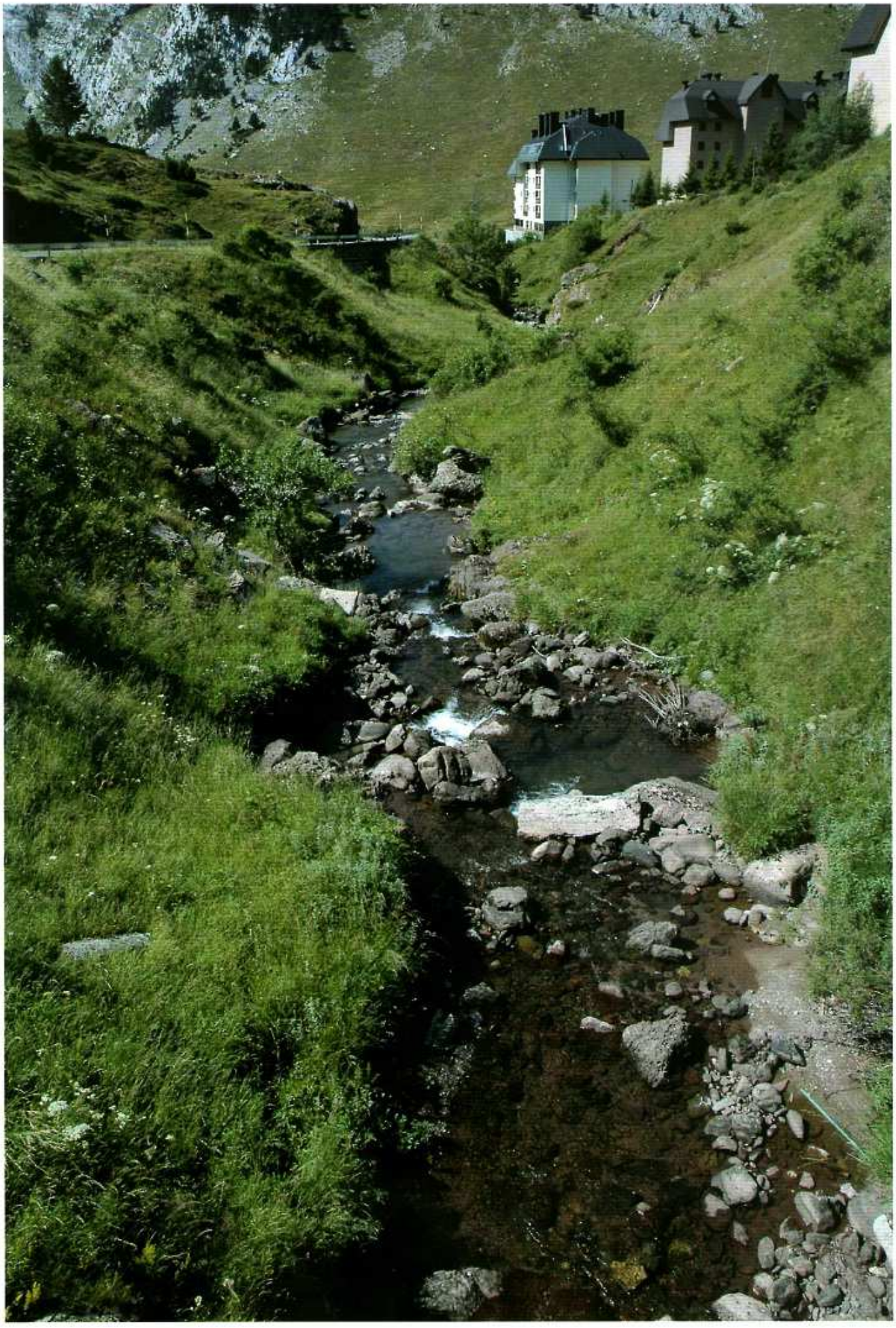

Figura 6. El río Aragón en Candanchú (Huesca). Pertenece al Ecotipo 27: Ríos de alta montaña. En 2005, calidad muy buena.

Figura 7. Río Aragón en Puentelarreina, Jaca (Huesca). Pertenece al Ecotipo 26: Ríos de montaña húmeda calcárea. En 2005, calidad muy buena.

Una ventaja de los macroinvertebrados es que su muestreo es relativamente sencillo al igual que su identificación (sólo se suele identificar hasta nivel de familia). 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 complemen-

Figura 8. Río Jiloca en Luco de Jiloca (Teruel). Pertenece al Ecotipo 12: Ríos de montaña mediterránea calcárea. En 2005, calidad moderada.

Figura 9. Río Jalón en Morata de Jalón (Zaragoza). Pertenece al Ecotipo 16: Ejes mediterráneo-continentales mineralizados.

ta el de otros elementos biológicos con tiempos de respuesta más cortos, como el fitobentos, o más largos, como los peces. Los macroinvertebrados se vienen usando como indicadores desde el año 1993 en la cuenca del Ebro.

Peces

La ictiofauna (fig. 5) es uno de los elementos de calidad biológica cuyo estudio es requerido por la DMA. En Europa se comenzó a utilizar la ictiofauna para la vigilancia de la calidad de las aguas en el ámbito de aplicación de diferentes directivas europeas: Directiva de tratamiento de aguas urbanas residuales (91/271/EEC), Directiva de nitratos (91/676/EEC), y de las normativas de diferentes países. En los EE. UU., la ictiofauna se usa para la vigilancia de la calidad de las aguas de forma habitual y se han desarrollado procedimientos estandarizados para el muestreo y procesado de muestras.

Figura 10. Determinación del estado de una masa de agua.

Las comunidades de peces incluyen diferentes niveles según el tipo de alimentación: omnívoro, insectívoro, planctívoro, piscívoro; y se sitúan en los niveles próximos al vértice de la pirámide trófica. De este modo, la composición y estructura de una comunidad piscícola integra la información de los niveles tróficos inferiores (especialmente de algas e invertebrados), y reflejan el estado de calidad de todo el ecosistema acuático.

En los cursos fluviales las comunidades de peces, denominadas *fish assemblage*, varían desde la cabecera a la desembocadura, siguiendo las variaciones de la profundidad del agua, velocidad de la corriente y sustrato. En los sistemas lóticos inalterados o con alteración mínima, la densidad de los peces y la biomasa aumenta, de una manera general, desde la cabecera hacia la desembocadura.

Desde el punto de vista indicador, los peces tienen características propias que les diferencian de otros elementos biológicos (fitobentos, plancton, macroinvertebrados, macrófitos) y les hacen complementos ineludibles. Su mayor longevidad (pueden vivir hasta 20 y 30 años) permite a los

peces ser testigos e indicadores de afecciones e impactos a las masas de aguas históricos cuyas causas ya han desaparecido y que no reflejarían los análisis físico-químicos habituales. Su mayor tamaño y movilidad les permite jugar un papel preponderante en los ecosistemas, al influir en el flujo de energía y transporte de sustancias y elementos. Por todo ello, su valor indicador peculiar reside en ser los indicadores con una escala espacio-temporal mayor. Además –a diferencia de otros indicadores como el fitobentos, los macroinvertebrados y los macrófitos cuyo valor indicador reside en la escala del microhábitat–, en el caso de los peces su valor indicador se refiere a la escala del mesohábitat, es decir, de un tramo o segmento fluvial.

¿Cómo se establece después el estado ecológico?

Para la valoración del estado ecológico de los ríos de la cuenca del Ebro, se han de tener en cuenta los ocho tipos de ríos identificados en ella.

Los indicadores biológicos toman unos determinados valores en condiciones donde no existe presión antropogénica o ésta es mínima (**estaciones de referencia**). Estos valores son diferentes para cada tipo y constituyen las llamadas **condiciones de referencia**.

A la hora de determinar el estado ecológico de una masa de agua (fig. 10), se valora cada indicador biológico medido, respecto a las condiciones de referencia específicas del tipo, obteniéndose un número final, llamado EQR (*Ecological Quality Ratio*) para cada uno de los indicadores biológicos, que varían entre 0 (Mal estado) y 1 (Muy buen estado):

$$EQR = \text{Valor observado} / \text{Valor de referencia}$$
$$0 < EQR < 1$$

Cuando se valora el estado ecológico de una masa de agua, se tienen en cuenta todos los indicadores biológicos, y el que indica un estado peor es el que prevalece. Una vez valorada la información biológica, entran en juego los indicadores físico-químicos e hidromorfológicos para la determinación final del estado ecológico de una masa de agua.

La DMA establece que, en el año 2015, todas las masas de agua superficiales deben estar como mínimo en buen estado ecológico.

Para lograr ese objetivo, además de medir adecuadamente los indicadores biológicos expuestos en este artículo, se llevarán a cabo los programas de medidas pertinentes que aseguren que podrá alcanzarse dicha meta.

La elaboración de estos manuales, establecidos con el consenso entre gestores y la comunidad científica, ha supuesto un hito histórico para el seguimiento y control del estado de las masas de agua superficiales y un punto de partida fundamental para el mantenimiento de nuestros ecosistemas acuáticos.

Bibliografía

CIRUJANO, S. y MEDINA, L. 2002. *Plantas acuáticas de las lagunas y humedales de Castilla-La Mancha*. Real Jardín Botánico de Madrid, CSIC-Junta de Castilla-La Mancha, Madrid. 340 pp.

DIRECTIVE 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy. *Off. J. Eur. Comm.*, **327**, pp. 1-72.

DIRECTIVA 91/271/CEE de 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. *Diario Oficial* n° **L 135** de 30/05/1991 P. 0040-0052.

DIRECTIVA 91/676/CEE de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en agricultura. *DOCE* **375/L**, DE 31-12-91.

GUIAS UE. 2003:

- *Guidance nº 1 - Economics- WATECO (WG 2.6).*
- *Guidance nº 2 - Identification of Water Bodies.*
- *Guidance nº 3 - Pressures and Impacts - IMPRESS (WG2.1).*
- *Guidance nº 4 - Heavily Modified Water Bodies - HMWB (WG 2.2).*
- *Guidance nº 5 - Characterisation of coastal waters - COAST (WG 2.4).*
- *Guidance nº 6 - Intercalibration (WG2.5).*
- *Guidance nº 7 - Monitoring (WG 2.7).*
- *Guidance nº 8 - Public Participation (WG 2.9).*
- *Guidance nº 9 - Implementing the Geographical Information Elements (GIS) (WG 3.1).*
- *Guidance nº 10 - River and Lakes – Typology, Reference Conditions and Classification Systems - REFCOND (WG 2.3).*
- *Guidance nº 11 - Planning Process.*
- *Technical Report No 01 - GW trends (WG 2.8).*