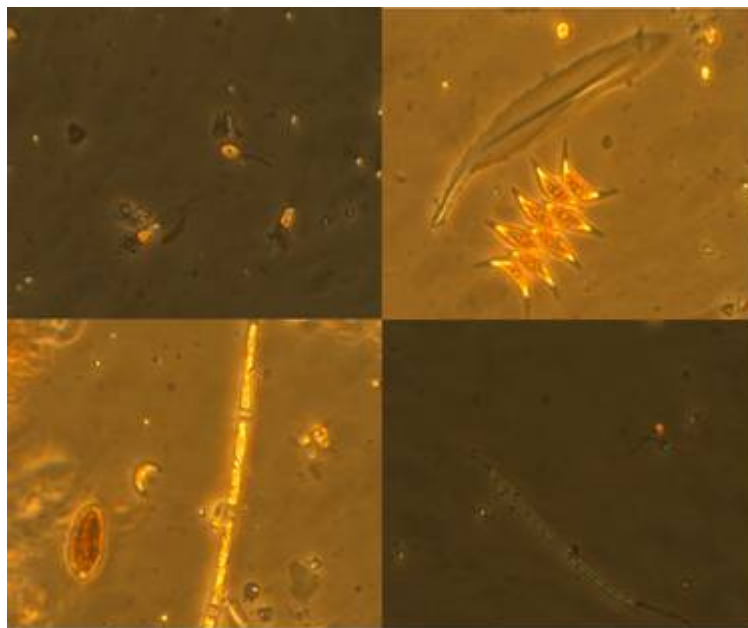


# **EVALUACIÓN DEL BIOVOLUMEN FITOPLANCTÓNICO EN LAGOS Y HUMEDALES INTERIORES DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO Y DETERMINACIÓN DE CONDICIONES DE REFERENCIA**



## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>DETERMINACIÓN DE BIOVOLUMEN FITOPLANCTÓNICO TOTAL EN LOS HUMEDALES DE LA CAPV (CICLOS 2001/2012) .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>6</b>
2.1.1	PRE-TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS (UTERMÖHL).....	6
2.1.2	IDENTIFICACIÓN Y RECuento .....	7
2.1.3	CÁLCULO DEL BIOVOLUMEN .....	8
<b>2.2</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>VALORACIÓN DE LAS FORMAS METODOLÓGICAS DE ESTIMACIÓN DE LA BIOMASA FITOPLANCTÓNICA.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES DE REFERENCIA EN LOS HUMEDALES INTERIORES DE LA CAPV .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1</b>	<b>ASIGNACIÓN DE TIPOLOGÍAS.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2</b>	<b>DETERMINACIÓN DE CONDICIONES DE REFERENCIA .....</b>	<b>29</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>33</b>
<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>34</b>
<b>7</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>37</b>

## 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

---

El proyecto titulado “*Evaluación del biovolumen fitoplanctónico en lagos y humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco y determinación de condiciones de referencia*”<sup>1</sup> sobre el cual se redacta este informe ha sido realizado por un equipo compuesto de las siguientes personas:

- **Autores** (Departamento de Ecología de la Universidad Autónoma de Madrid, Fundación Universidad Autónoma de Madrid): Eugenio Rico Eguizabal y Adel el Anjoumi el Amrani.
- **Dirección y coordinación del trabajo** (Dirección de Planificación y Obras de la Agencia Vasca del Agua-URA): Iñaki Arrate Jorrín (Responsable de Planificación e Innovación); J. Alberto Manzanos Arnaiz (Técnico de Información Hidrológica.)

El trabajo que se presenta pretende como objetivo general la proposición de las condiciones de referencia conforme a los elementos de calidad biológica (**fitoplancton**), y por consiguiente la evaluación del estado ecológico en lagos y zonas húmedas interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco. Para tal fin, se pretenden alcanzar los siguientes objetivos específicos:

- Determinación de biovolumen fitoplanctónico total de los ciclos comprendidos entre 2001-2012.
- Idoneidad de la utilización de datos bibliográficos para el cálculo del biovolumen algal
- Proponer condiciones de referencia y umbrales de calidad asociados.

En 2000, el Parlamento Europeo adoptó un acuerdo por el que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas: la Directiva Marco del Agua 2000/60/CE. Su cometido principal es la protección de las aguas y de los ecosistemas relacionados, promover un uso sostenible del agua y contribuir a paliar los efectos de las inundaciones y las sequías. Esta nueva normativa ha introducido cambios muy importantes en los conceptos manejados hasta ahora en la gestión del agua, en la determinación y mejora de su calidad y, en última instancia, en la planificación hidrológica.

A diferencia de los lagos, donde la DMA los incluye directamente en su ámbito de actuaciones, para los humedales no existe una definición específica (artículo 11). Sin embargo, y para ayudar a la implementación de la DMA, se elaboró el documento *Wetlands Horizontal Guidance* (diciembre de 2003), donde se aborda la problemática particular de las zonas húmedas, y se señala la importancia de los humedales en la dinámica funcional de los ecosistemas acuáticos y se dan directrices metodológicas para su inclusión en los trabajos de implementación de la Directiva Marco.

---

<sup>1</sup> Este informe debe ser citado de la siguiente manera: Rico E., el Anjoumi A., 2013. *Evaluación del biovolumen fitoplanctónico en lagos y humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco y determinación de condiciones de referencia*. Informe de la Fundación Universidad Autónoma de Madrid (Departamento de Ecología de la Universidad Autónoma de Madrid) para la Agencia Vasca del Agua. 43 pp.

La finalidad de la DMA es proteger y mejorar el estado ecológico de las aguas y de los ecosistemas acuáticos y humedales y promover el uso sostenible del agua. El objetivo principal de la Directiva es “establecer un marco para la protección de las aguas superficiales continentales, las aguas de transición, las aguas costeras y las aguas subterráneas”, con la finalidad de mejorar el estado de los ecosistemas acuáticos, hasta llegar a alcanzar el buen estado ecológico en el año 2015. Esto constituye un cambio significativo de concepto por dos motivos:

- En primer lugar, las normativas determinaban hasta el momento que para establecer el estado de las aguas había que conocer sus características **fisicoquímicas** exclusivamente. Sin embargo, la Directiva Marco marca que para establecer el estado ecológico, además de las características fisicoquímicas del agua habrá que conocer las características **hidrológicas** y **morfológicas** de las masas de agua, además de una serie de parámetros **biológicos** representativos de los ecosistemas relacionados con las mismas.
- Por otro lado, la Directiva indica que las características fisicoquímicas, hidromorfológicas y biológicas representativas de un buen estado ecológico pueden variar de un lugar a otro en función de factores climatológicos, geológicos, orográficos, etc. En consecuencia, será preciso determinar áreas ecológicamente homogéneas (ecorregiones) y en cada una de estas áreas establecer las condiciones que definen el muy buen estado ecológico específico de esa región.

Según la DMA, los elementos biológicos son el componente con mayor peso específico para determinar el estado ecológico de una masa de agua. y tras ellos otros indicadores secundarios “*que afectan a los indicadores biológicos*”, tales como indicadores hidromorfológicos, físico-químicos y contaminantes específicos.

El fitoplancton es uno de los elementos biológicos considerados por la Directiva Marco de Agua (DMA) ya que los procesos de eutrofización por enriquecimiento de nutrientes constituyen una de las presiones más comunes en los sistemas acuáticos de la Unión. La primera respuesta biológica a un enriquecimiento por nutrientes en ecosistemas acuáticos, es el crecimiento de las células fitoplanctónicas y el cambio en la composición de la comunidad fitoplanctónica que afecta directa o indirectamente a todos los organismos consumidores. Dentro de éste parámetro la directiva señala las siguientes aspectos: composición, abundancia y biomasa fitoplanctónica.

## 2 DETERMINACIÓN DE BIOVOLUMEN FITOPLANCTÓNICO TOTAL EN LOS HUMEDALES DE LA CAPV (CICLOS 2001/2012)

---

El objetivo principal de este apartado es la determinación de biovolumen fitoplanctónico total de los principales lagos y humedales pertenecientes a la red de seguimiento de la CAPV (ciclos 2001/2012).

En ecología acuática, hace tiempo que se ha dejado de ver a un lago como una estructura separada de su entorno. Dicho sistema y las comunidades que lo habitan son, en gran parte, consecuencia de las características de la cuenca de drenaje y de las actividades que en ella se desarrollan (Wetzel 2001). El estado trófico de un lago, depende principalmente de la carga de nutrientes, de su morfometría y del tiempo de permanencia del agua en el mismo (Vollenweider 1969, Dillon & Rigler 1975). Y los niveles de trofia normalmente están acompañados de cambios estructurales en la biota y en directa relación entre la carga de nutrientes y la productividad, relacionada

principalmente con la composición del fitoplancton y el zooplancton (Watson et al, 1997. Tallberg et al, 1999).

A diferencia de los lagos profundos, los humedales son ambientes hidrológicamente inestables y heterogéneos debido al gran número de factores que interactúan en ellos (escasa profundidad, grandes poblaciones de macrófitos, formación de charcas aisladas en periodos de sequía, etc.). Además, poseen una dinámica de nutrientes particular. Por su ubicación, la carga de nutrientes es generalmente más elevada que en los lagos profundos. Por otra parte, y debido a la mayor temperatura que tienen sus sedimentos en verano, la tasa de reciclaje de la materia orgánica es comparativamente más elevada (Jeppesen et al 1997). Sumado a esto, los nutrientes son rápidamente devueltos a la columna de agua a causa de la continua resuspensión del fondo. Bajo estas circunstancias, el plancton de estos sistemas puede tener patrones distintos y de mayor complejidad que los descritos en lagos.

El Fitoplancton constituye una parte muy importante del plancton de estos ecosistemas (organismos acuáticos microscópicos que viven en suspensión en la columna de agua), englobando todas aquellas especies de algas microscópicas unicelulares, filamentosas o coloniales, con capacidad fotosintética y que contienen, entre otros, pigmentos clorofílicos.

La estructura de estas poblaciones fotosintéticas de los ecosistemas acuáticos es dinámica y se encuentra en constante cambio tanto en su composición taxonómica como en su actividad fisiológica. Estos cambios en abundancia y composición de las comunidades fitoplanctónicas dependen además en gran medida de una serie de factores: físicos e hidrológicos (luz, temperatura, tiempo de residencia del agua, turbulencia y estabilidad de la columna del agua), químicos (nutrientes, materia orgánica, pH, composición iónica y grado de mineralización) y biológicos (depredación, parasitismo, competencia).

Estos cambios afectan a la capacidad de asimilar los nutrientes, a la producción de la energía química necesaria para mantener la estructura trófica y a la productividad del sistema. Su papel ecológico es fundamental por cuanto representan la “llave” que regula la entrada de energía al sistema, constituyendo la base de la pirámide trófica.

El fitoplancton, al formar el primer eslabón de la cadena trófica planctónica, de quien depende el resto de los organismos ubicados en niveles más altos, es el que va a condicionar toda la producción del resto de los eslabones de dicha cadena. Como es evidente, cualquier alteración en los productores primarios afecta directa- o indirectamente a todos los organismos consumidores. Por otra parte, El fitoplancton se renueva rápidamente (su ciclo está en el orden de algunos días) y es un indicador sensible a las agresiones ambientales, está afectado por factores físicos, químicos y biológicos (Hutchinson, 1967), por tanto, se convierte en un referente del estado ecológico de cualquier sistema acuático.

Así, el estudio del fitoplancton permite obtener una información más precisa y detallada del estado trófico y de la calidad de las aguas, que la obtenida a partir de un simple estudio de las condiciones hidroquímicas, y constituye una herramienta fundamental para el diagnóstico de la eutrofización, no solo porque proporciona una respuesta inicial al enriquecimiento de nutrientes sino porque también abarca cambios taxonómicos y de composición, ligados al estado de los ecosistemas. De hecho, ha sido considerado en la Directiva 2000/60 de aguas, como uno de los indicadores biológicos de calidad para la clasificación del estado ecológico en lagos y humedales

por lo que su estudio se ha convertido en la actualidad en una parte esencial en cualquier proyecto de caracterización ecológica de una masa de agua.

## **2.1 MATERIAL Y MÉTODOS**

---

La metodología utilizada para el análisis de la comunidad fitoplanctónica de los humedales del País Vasco se ha redactado teniendo en cuenta las siguientes normas:

- UNE – EN 15204:2007 – Guía para el recuento de fitoplancton con microscopía invertida (técnica de Utermöhl).
- UNE – EN 14996:2007 – Guía para el aseguramiento de la calidad de las evaluaciones biológicas y ecológicas en el medio ambiente acuático.
- Draft proposal of “Water quality – Phytoplankton biovolume determination by microscopic measurement of cell dimensions” (CEN TC 230 / WG 2 / TG 3/N116 30/03/2008).
- Draft proposal for “Water Quality – Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters” (CEN TC 230 / WG 2 / TG 3/ N118 15/04/2008).
- UNE – EN 5667-1:2007 – Parte 1: Guía para el diseño de los programas de muestreo y técnicas de muestreo.

Para el proceso de identificación y recuento de las especies de fitoplancton se contó con el siguiente material específico:

- Microscopio invertido: con contraste de fases marca OLYMPUS; modelo IX50.
- Analizador de imagen acoplado al microscopio (Leica IM 1000 Basic), con software Leica Application Suite V 3.3.1.
- Cubeta y torres de sedimentación.
- Claves y guías para la identificación de las especies del fitoplancton (están descritas detalladamente en la bibliografía).

### **2.1.1 PRE-TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS (UTERMÖHL)**

---

Tanto para las muestras correspondientes a los ciclos 2001/2009 (donde se ha realizado el cálculo de densidad) como a las muestras correspondientes a los ciclos 2009/2011 se ha realizado un tratamiento de homogeneización mediante resuspensión y separación de las partículas manualmente y/o con un dispositivo de mezcla, vertiéndose posteriormente una alícuota en las cubetas de sedimentación (Fig 1), donde han permanecido 1 ó 2 días, según la altura de la columna (el tiempo de sedimentación recomendado es de 3 horas por centímetro de la columna de sedimentación para las muestras fijadas con lugol) en un lugar sin luz solar directa, a temperatura ambiente constante y evitando cualquier vibración.

En el caso de aguas con una densidad algal muy baja, se realizó una concentración de la muestra. Para ello se dejó sedimentar la muestra en la propia botella o en cilindros de sedimentación graduados. El sobrenadante se retira mediante una pipeta Pasteur unida a una bomba de vacío.



En el caso de aguas que presentan elevadas concentraciones de algas se diluyó la muestra añadiendo agua destilada filtrada (a través de 0,45  $\mu\text{m}$  de poro) al incorporar la muestra a la cubeta de sedimentación.

El objetivo final de estos procesos de concentración/dilución es conseguir que el número final de algas por campo óptico sea el óptimo para permitir la correcta identificación de las especies y facilitar el recuento.

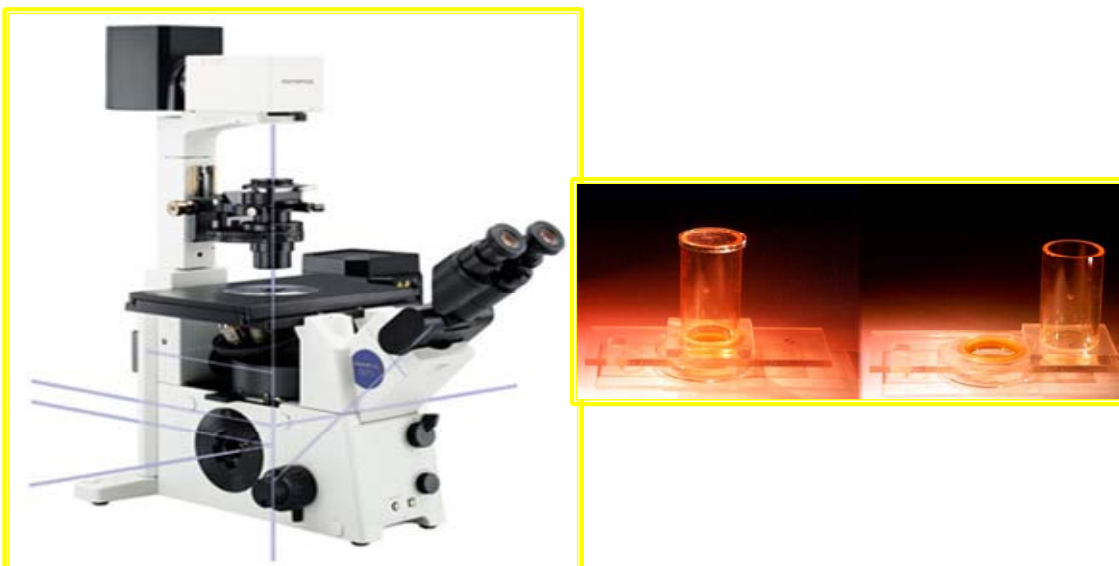


Figura 1 Microscopio invertido y Cámaras de sedimentación

### 2.1.2 IDENTIFICACIÓN Y RECuento

El primer paso consistió en realizar una visualización previa de las muestras con la finalidad de confeccionar desde el inicio la lista de taxones presentes. La identificación de los taxones se realizó mediante el apoyo de claves y guías especializadas (descritas detalladamente en la bibliografía). En algunos casos, se recurrió a muestras frescas para la correcta identificación de los taxones, ya que muchas especies han sido clasificadas en función de sus diversos estadios vitales y pocas son las ocasiones en las que puedan ser observados todos ellos en una muestra.

Para el recuento de las especies del fitoplancton se utilizó dos aumentos, el primero con (Objetivo de 40 x y ocular de 10 x) y el segundo con (Objetivo de 20 x y ocular de 10 x), este último sirve para la observación y el conteo de las especies de mayor tamaño y de poca abundancia.

Para llevar a cabo el conteo de individuos existen dos estrategias, recuento por campo y recuento de la cámara completa.

En nuestro caso se optó por la primera estrategia de conteo debido a que la segunda metodología es apropiada para ecosistemas ultra-oligotróficos cuando la densidad de células es baja, o bien se realiza el recuento de una especie poco representada pero de gran tamaño.

En la metodología de Recuento por campos la cuadrícula del ocular debe tener un campo cuadrado o rejilla, procediendo a contar un número determinado de campos

ópticos elegidos al azar. El número de campos o de algas a contar, son función del nivel de precisión (D) requerido y del límite de detección.

$$\text{Nivel de precisión (D)} = 1/x * [\sqrt{(s^2/n)}] = 1/x * \sqrt{(x/n)} = 1/\sqrt{(n*x)} = 1/\sqrt{(\sum x)}$$

donde: n = número de campos contados; x= número medio de objetos por campo; s = número total de objetos contados

Límite de detección = Concentración mínima de un taxón para la cual se puede detectar con una probabilidad del 99%. Se calcula según la distribución de Poisson:

$$P(x>0) = 1 - e^{-\mu}; \text{ donde } \mu \text{ es la media del estadístico de Poisson.}$$

Para este método de conteo se aplicó un criterio estándar sobre los organismos que cruzan las líneas, de forma que, por ejemplo, se cuentan los individuos que toquen arriba y a la derecha pero no abajo y a la izquierda del recuadro. En el caso de filamentos en los que no se distinguen las células, se cuentan éstos y se estima su longitud media.

Por otra parte, y para estandarizar el recuento se contaron campos al azar hasta completar un total de 500 células algales habiendo contado al menos 100 campos.

### **2.1.3 CÁLCULO DEL BIOVOLUMEN**

La abundancia de las algas expresada como biovolumen (mm<sup>3</sup>/l) permite una mejor comparación con la concentración de clorofila "a" (la cual se usa habitualmente como indicador de la biomasa del fitoplancton).

Una estrategia de recuento puede ser la de calcular sólo los biovolúmenes de las especies que más contribuyen al biovolumen total. Pero actualmente lo más riguroso es utilizar técnicas de análisis de imagen utilizando como base recuentos digitalizados.

Para la determinación del biovolumen se utilizó el método de Rott (1981), que consiste en medir como mínimo 20 individuos de cada especie, asimilando su morfología a una forma geométrica conocida; posteriormente se calculó el volumen de cada especie, según la fórmula para la figura geométrica escogida y, finalmente, se multiplico el volumen por el número de células/ml obtenido.

En la Tabla 11 se detallan algunas formas geométricas y sus fórmulas para el cálculo de biovolumen algal. Estas formas fueron seleccionadas de modelos geométricos propuestos por (Hillebrand et al., 1999, Sun and Liu, 2003, Rott, 1981). En esta tabla se muestra la forma geométrica, la fórmula para el cálculo, el número y los tipos de medidas requeridas y algunos ejemplos de los géneros donde se aplica.

Las formas geométricas que se seleccionaron finalmente después de analizar todas las muestras del fitoplancton fueron formas geométricas similares a la forma de los taxones identificados, pero al mismo tiempo formas simples. Formas más simples reducen el número medidas y, por consiguiente, el tiempo necesario para cada determinación.

Por último, se han seguido las siguientes pautas para el cálculo del biovolumen algal:

- Se han medido al menos 20 individuos, y, en los casos de taxones con tamaños variables, 50 individuos.



- Par algunas especies con esqueleto exterior más grande que la propia célula (*Dinobryon*, *Rhizosolenia*), se midió solamente las dimensiones de la célula y no del esqueleto exterior.
- En el caso de filamentos (*Oscillatoria*, *Planktothrix*) el cálculo del biovolumen se hizo sobre los tricomas. En este caso se midieron al menos 30 filamentos de cada especie.
- En el caso de colonias (*Microcintas*, *Aphanocapsa*), y dependiendo del tamaño de la colonia se utilizaron dos métodos diferentes: se calculó el volumen de cada célula aparte y se multiplicó por el número total de células o se estimó el volumen total de la colonia.

## 2.2 RESULTADOS

---

El objetivo principal de este apartado es la determinación de biovolumen fitoplanctónico total de los principales lagos y humedales pertenecientes a la red de seguimiento de la CAPV (ciclos 2001/2012).

### 2.2.1.1.1 Lago de Arreo

Durante los seis primeros ciclos (Figura 2), la tendencia de eutrofización es claramente detectada en el lago de Arreo. Se observa un aumento progresivo en los valores de biovolumen total hasta alcanzar en el ciclo 2006/07 el valor máximo de todo el periodo estudiado (7,6 mm<sup>3</sup>/l). El valor mínimo se detectó en el ciclo 2011/12 (1,3 mm<sup>3</sup>/l). Los valores observados en Arreo en estos ciclos pueden situar al lago en la categoría de meso-eutrófico según la clasificación de Willén (2000).

La contribución relativa de los grupos taxonómicos al biovolumen total de fitoplancton durante estos años mostró cambios de un ciclo de otro, siendo *Cryptomonas erosa*, *Cyclotella distinguenda*, *Oocystis lacustris*, *Pediastrum boryanum*, *Peridinium cinctum*, *Scenedesmus linearis* y *Tetraedron minimum* los taxones más destacados.

### 2.2.1.1.2 Laguna de Carralagroño

La laguna Carralagroño (Figura 2) presentó bajos biovolúmenes en la mayoría de los ciclos estudiados, excepto los ciclos 2010/11 y 2011/12, donde se alcanzaron máximos muy pronunciados (21 y 6,6 mm<sup>3</sup>/l respectivamente). El valor mínimo se calculó en el ciclo 2004/05 (0,6 mm<sup>3</sup>/l).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Carteria* sp., *Chromulina* sp., *Chlamydomonas* sp., *Dunaliella* sp., *Gymnodinium wawriake*, *Tetraselmis* cf. *cordiformis* y *Tetraselmis chuii*.

### 2.2.1.1.3 Laguna de Carravalseca

La evolución del biovolumen total del fitoplancton en la laguna de Carravalseca (Figura 2)a lo largo de los once ciclos estudiados muestra grandes fluctuaciones. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2009/10 (0,5 mm<sup>3</sup>/l), mientras que el valor máximo se calculó en 2011/12 (10,5 mm<sup>3</sup>/l).

La contribución relativa de los grupos taxonómicos al biovolumen total de fitoplancton durante estos años mostró cambios de un ciclo de otro, siendo *Chlamydomonas* sp., *Dunaliella* sp., *Gymnodinium wawriake*, *Lobocystis dichotoma*, *Navicula veneta* y *Pseudopedinella pyriformis* los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de sus respectivos grupos.

#### **2.2.1.1.4 Laguna de Musco**

La evolución del biovolumen total del fitoplancton de la laguna Musco (Figura 2) a lo largo de los nueve ciclos estudiados muestra fluctuaciones considerables. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2007/08 ( $0,4 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2009/10 ( $2,7 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Chromulina ettliei*, *Chromulina sp.*, *Cryptomonas erosa*, *Mougeotia sp.*, *Pinnularia divergens* y varias especies del género *Peridinium*.

#### **2.2.1.1.5 Laguna de Lacorzana**

La evolución del biovolumen total del fitoplancton en la laguna de Lacorzana (Figura 2) a lo largo de los cinco ciclos estudiados muestra grandes fluctuaciones. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2009/10 ( $0,6 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2004/05 ( $6,5 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

La contribución relativa de los grupos taxonómicos al biovolumen total de fitoplancton durante estos años mostró cambios de un ciclo a otro, siendo *Caloneis permagna*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Colacium vesiculosum*, *Cryptomonas erosa*, *Euglena tripteris*, *Mougeotia sp.*, *Nodularia spumigena*, *Oedogonium sp.*, *Spirogyra sp.*, *Synura uvella* y *Tetraselmis cordiformis* los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de sus respectivos grupos.

#### **2.2.1.1.6 Laguna de Navaridas**

La laguna Navaridas (Figura 2) presentó valores moderados de biovolúmenes en la mayoría de los ciclos estudiados, excepto el ciclo 2004/05 donde se alcanzó el valor máximo ( $15,3 \text{ mm}^3/\text{l}$ ). El valor mínimo se calculó en el ciclo 2002/2003 ( $0,4 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Chromulina sp.*, *Cryptomonas erosa*, *Euglena sp.*, *Mougeotia sp.*, *Ochromonas sp.*, *Peridinium cinctum*, *Peridinium umbonatum* var. *Umbonatum* y *Strombomonas sp.*

#### **2.2.1.1.7 Laguna de Olandina**

Durante el periodo estudiado, la tendencia de eutrofización es claramente detectada en la laguna de Olandina (Figura 2). Se observa un aumento progresivo en los valores de biovolumen total hasta alcanzar en ciclo 2010/11 el valor máximo de todo el periodo estudiado ( $15,4 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), lo que situaría a la laguna, en este periodo, en la categoría de eutrófica según la clasificación de Willén (2000). El valor mínimo se detectó en el ciclo 2004/05 ( $0,4 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Amphora ovalis*, *Cryptomonas curvata*, *Cryptomonas erosa*, *Cryptomonas reflexa*, *Cyclotella meneghiniana*, *Mallomonas caudata*, *Rhodomonas lacustris*, *Scenedesmus opoliensis*, *Scourfieldia complanata* y *Spermatozopsis exultans*.

#### **2.2.1.1.8 Laguna de Bikuña**

La laguna Bikuña (Figura 2) presentó bajos biovolúmenes ( $\leq 1 \text{ mm}^3/\text{l}$ ) en la mayoría de los ciclos estudiados, excepto los ciclos 2006/07 y 2007/08, donde se alcanzaron máximos poco pronunciados ( $2,3$  y  $1,8 \text{ mm}^3/\text{l}$  respectivamente). El valor mínimo se calculó en el ciclo 2010/2011 ( $0,08 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Cosmarium botrytis*, *Cosmarium depressum*, *Mallomonas akrokomos*, *Navicula rhynchocephala*, *Nodularia spumigena*, *Rhopalodia gibba* y *Spirogyra* sp.

#### **2.2.1.1.9 Laguna Grande de Maeztu**

Con la excepción del ciclo 2002/03, la laguna Grande de Maeztu (Figura 2) presentó, generalmente, altos biovolúmenes ( $\geq 3 \text{ mm}^3/\text{l}$ ) en la mayoría de los ciclos estudiados. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2002/03 ( $1,6 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2007/08 ( $12,7 \text{ mm}^3/\text{l}$ ). Son valores que situarían la laguna en la categoría de eutrófica según la clasificación de Willén (2000).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Cryptomonas erosa*, *Peridinium cinctum*, *Phacus longicauda*, *Spirogyra* sp., *Strombomonas acuminata*, *Trachelomonas oblonga* y *Uroglena volvox*.

#### **2.2.1.1.10 Humedal de Salburua-Arkaute**

La evolución del biovolumen total del fitoplancton del humedal de Salburua-Arkaute (Figura 2) a lo largo de los once ciclos estudiados muestra grandes fluctuaciones. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2008/09 ( $1,9 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2011/12 ( $34,2 \text{ mm}^3/\text{l}$ ). Son valores que situarían al humedal en la categoría de meso-eutrófico según la clasificación de Willén (2000).

La contribución relativa de los grupos taxonómicos al biovolumen total de fitoplancton durante estos años mostró cambios de un ciclo de otro, siendo *Carteria cordiformis*, *Chlorogonium spirale*, *Chlamydomonas* sp., *Cryptomonas erosa*, *Cryptomonas ovata*, *Euglena stellata*, *Spirogyra* sp. y *Trachelomonas hispida* los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de sus respectivos grupos.

#### **2.2.1.1.11 Humedal de Salburua-Betoño**

Al igual que en Arkaute, la evolución del biovolumen total del fitoplancton del humedal de Salburua-Betoño (Figura 2) a lo largo de los once ciclos estudiados muestra grandes fluctuaciones. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2009/10 ( $0,3 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2007/08 ( $6,5 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Chromulina* sp., *Chroomonas* sp., *Chrysococcus rufescens*, *Cryptomonas erosa*, *Cryptomonas erosa* var. *Reflexa*, *Dinobryon bavaricum*, *Dinobryon divergens*, *Gymnodinium wawriake*, y *Trachelomonas volvocina*.

#### **2.2.1.1.12 Balsa del Prao de La Paúl**

La balsa de El Prao de la Paúl (Figura 2) presentó altos biovolúmenes ( $\geq 4 \text{ mm}^3/\text{l}$ ) en todos los ciclos estudiados. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2008/09 ( $4,7 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2002/03 ( $16,3 \text{ mm}^3/\text{l}$ ). Son valores que situarían la balsa en la categoría de eutrófica según la clasificación de Willén (2000).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Chroomonas* sp., *Closterium aciculare*, *Closterium acutum* var. *Línea*, *Crucigenia tetrapedia*, *Cryptomonas erosa*, *Euglena acus*, *Euglena oxyuris*, *Phacotus coccifer*, *Phacus curvicauda*, *Phacus pleuronectes*, *Phacus tortus*, *Scourfieldia complanata*, *Staurostrum gracile*, y *Teilingia granulata*.

### **2.2.1.1.13 Humedal de Gimileo**

La laguna Gimileo (Figura 2) presentó altos biovolúmenes ( $\approx 7 \text{ mm}^3/\text{l}$ ) en la mayoría de los ciclos estudiados. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2007/08 ( $7,4 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2008/09 ( $14,5 \text{ mm}^3/\text{l}$ ). Son valores que situarían la laguna en la categoría de eutrófica según la clasificación de Willén (2000).

Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Chlamydomonas ehrenbergii*, *Chlorella vulgaris*, *Chrysococcus rufescens*, *Chrysidalis peritaphrena*, *Cyclotella meneghiniana*, *Cryptomonas erosa*, *Mallomonas caudata*, *Spirogyra sp.* y *Synura uvella*.

### **2.2.1.1.14 Laguna de Arbieto**

La evolución del biovolumen total del fitoplancton de la laguna Arbieto (Figura 2) a lo largo de los once ciclos estudiados no muestra grandes fluctuaciones. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2009/10 ( $0,5 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2002/03 ( $1,6 \text{ mm}^3/\text{l}$ ). Son valores que situarían al humedal en la categoría de oligo-mesotrófica según la clasificación de Willén (2000).

La contribución relativa de los grupos taxonómicos al biovolumen total de fitoplancton durante estos años mostró cambios de un ciclo de otro, siendo *Carteria sp.*, *Chlamydomonas sp.*, *Cyclotella distinguenda*, *Chromulina ettliei*, *Oedogonium sp.* y *Peridinium cinctum* los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de sus respectivos grupos.

### **2.2.1.1.15 Laguna de Lamiogín**

Durante los cuatro primeros ciclos, la tendencia de eutrofización es claramente detectada en la laguna de Lamiogín (Figura 2). Se observa un aumento progresivo en los valores de biovolumen total hasta alcanzar en ciclo 2004/05 el valor máximo de todo el periodo estudiado ( $2,53 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), lo que situaría a la laguna, en este periodo, en la categoría de eutrófica según la clasificación de Willén (2000). El valor mínimo se detectó en el ciclo 2007/08 ( $0,4 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

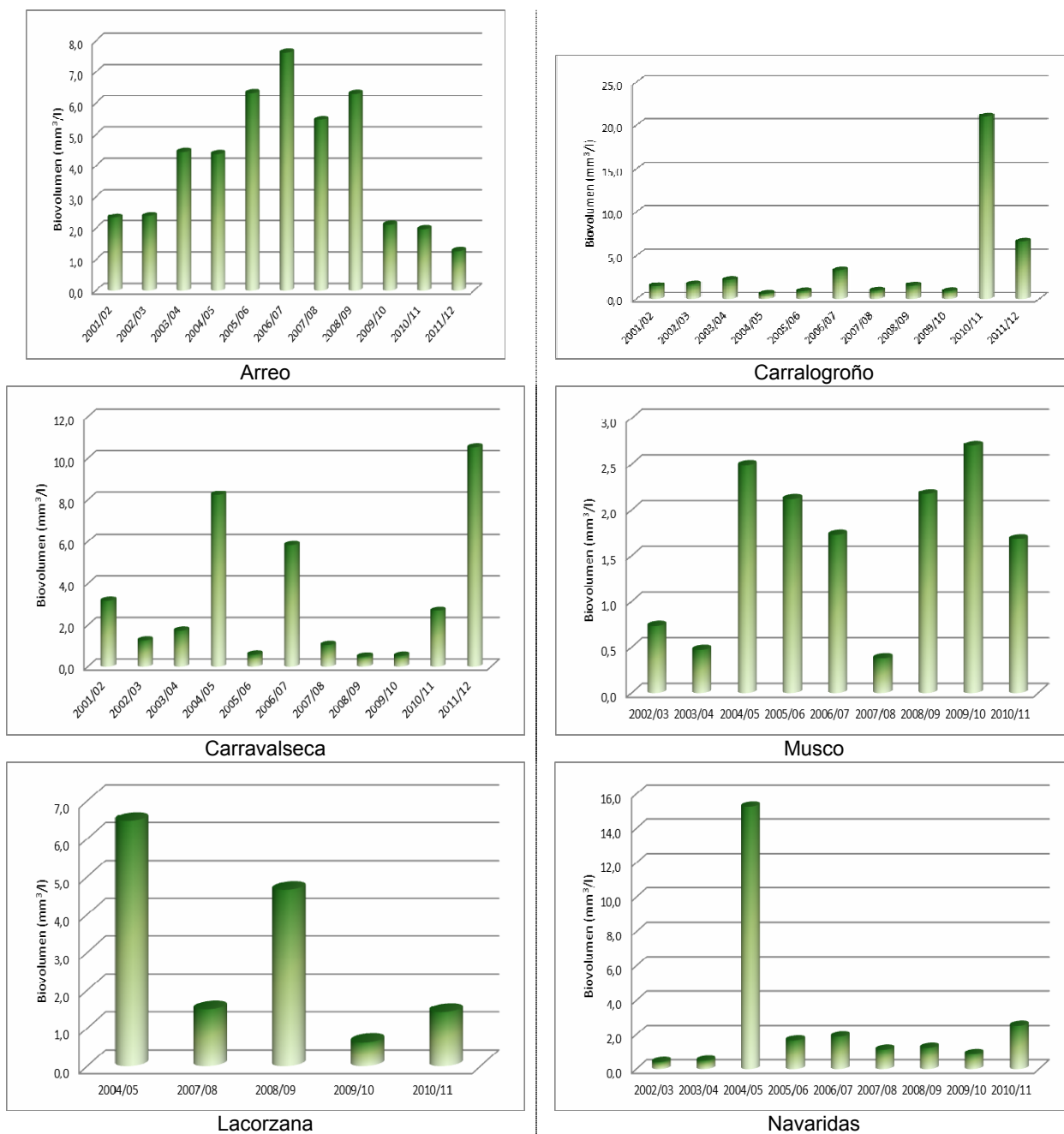
Los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de fitoplancton en alguna fase del periodo estudiado fueron *Ceratium hirundinella*, *Cryptomonas erosa*, *Cosmarium depressum*, *Cyclotella distinguenda*, *Peridinium cinctum*, *Peridiniopsis elpatiewskyi* y *Spirogyra sp.*

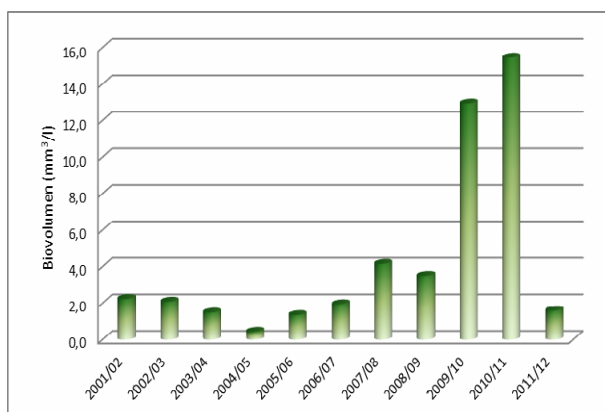
### **2.2.1.1.16 Laguna de Monreal**

La evolución del biovolumen total del fitoplancton en la laguna de Monreal (Figura 2) a lo largo de los once ciclos estudiados muestra grandes fluctuaciones. El valor mínimo se observó durante el ciclo 2007/08 ( $0,2 \text{ mm}^3/\text{l}$ ), mientras que el valor máximo se calculó en 2009/10 ( $4,9 \text{ mm}^3/\text{l}$ ).

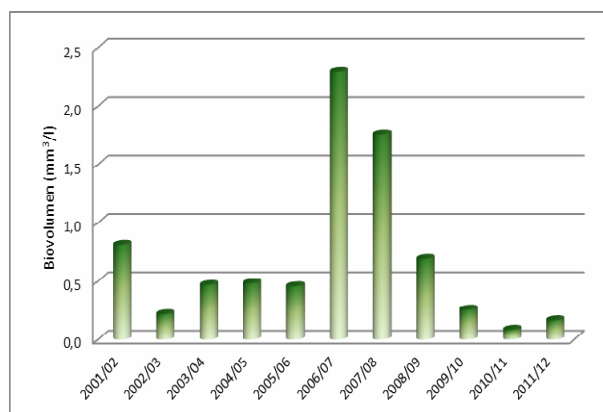
La contribución relativa de los grupos taxonómicos al biovolumen total de fitoplancton durante estos años mostró cambios de un ciclo de otro, siendo *Cosmarium botrytis*, *Cryptomonas erosa var. reflexa*, *Cryptomonas marssonii*, *Cryptomonas ovata*, *Oedogonium sp.* y *Spirogyra sp.* los taxones que más contribuyeron al biovolumen total de sus respectivos grupos.

Figura 2 Variación interanual del biovolumen total ( $\text{mm}^3/\text{l}$ ) durante el periodo 2001-2012 (zona fótica).

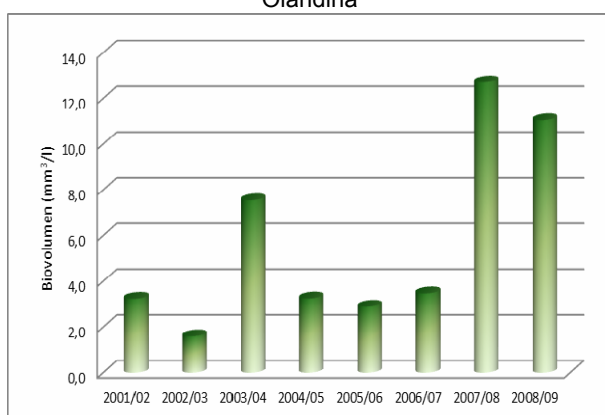




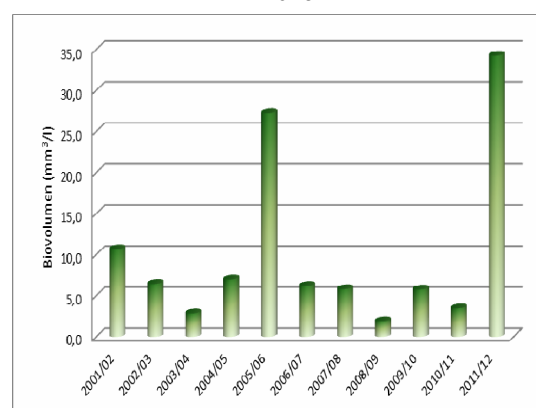
Olandina



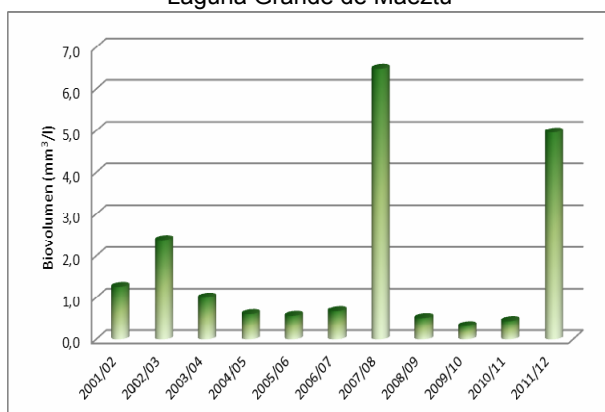
Bikuña



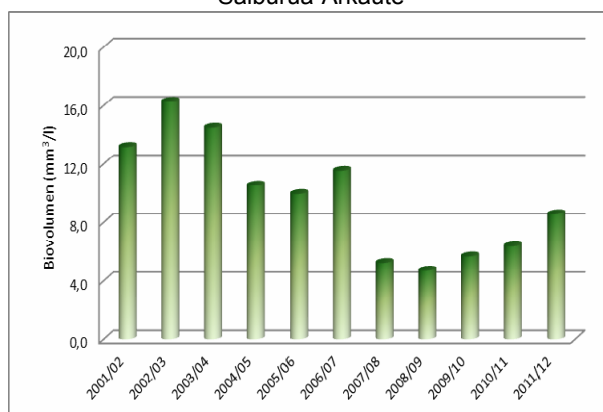
Laguna Grande de Maeztu



Salburua-Arkaute

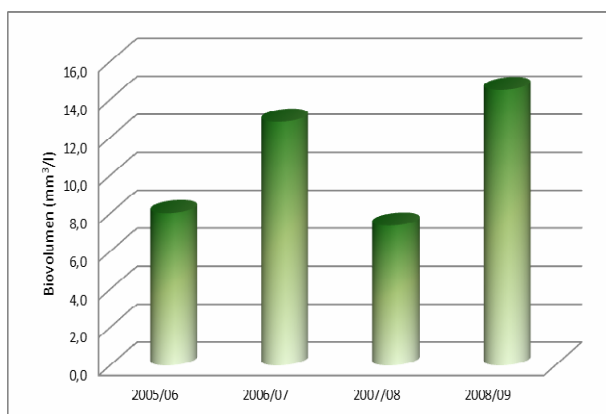


Salburua-Betoño

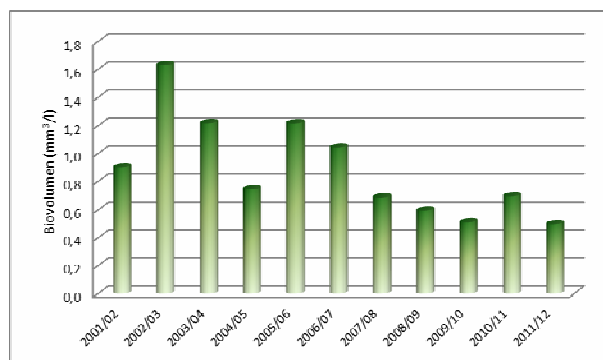


Balsa del Prao de La Paúl

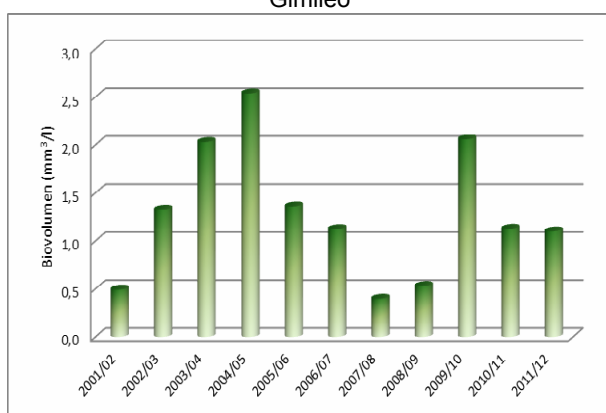




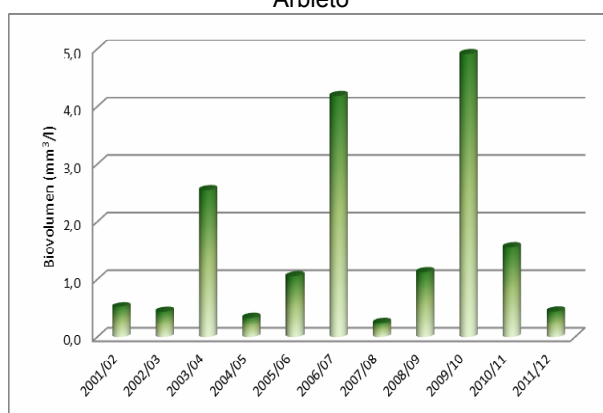
Gimileo



Arbieto



Lamiogín



Monreal

### 3 VALORACIÓN DE LAS FORMAS METODOLÓGICAS DE ESTIMACIÓN DE LA BIOMASA FITOPLANCTÓNICA

El objetivo principal de este apartado es poder validar las diferentes formas en la que puede ser estimada la biomasa fitoplanctónica a partir de diferentes propuestas metodológicas.

Del conjunto de las diferentes formas en las que puede ser abordado el análisis del fitoplancton se podría hacer una agrupación entre los métodos funcionales y los estructurales, los cuales, a su vez, podrían ser diferenciados entre cualitativos y cuantitativos. Los métodos funcionales se centran en analizar el estado fisiológico de la comunidad, en tanto que los segundos nos permite determinar parámetros poblacionales, como son la descripción de la composición y estructura de la comunidad fitoplanctónica, así como en la búsqueda de especies estenoicas e indicadoras de condiciones ambientales específicas. En relación a los segundos, las diferentes métricas utilizadas se centran mayoritariamente en el recuento de unidades algas (células, filamentos, colonias) y en el cálculo de biomasa a través de la estimación del biovolumen.

La información obtenida a partir de los recuentos resulta en muchos casos insuficiente para alcanzar los objetivos pretendidos. El amplio rango de tamaños que existe dentro del fitoplancton imposibilita la transformación directa de los datos de abundancia a biomasa, lo que en muchos casos resulta esencial para poder realizar una adecuada interpretación del estado ecológico de una masa de agua y de la eficacia de las medidas adoptadas en la gestión. Las características del ambiente en el que se

desarrolla el fitoplancton y su pequeño tamaño no permiten el uso de las técnicas habitualmente utilizada en ecología, como son el método gravimétrico de recogida y pesaje.

La forma más universalmente utilizada para la estimación de la biomasa fitoplanctónica se basa en la estimación de la clorofila a; el cálculo del contenido de este pigmento fotosintético tiene como ventaja adicional la posibilidad de poder inferir también sobre su estado fisiológico-funcional.

Pero la concentración de clorofila a en cada célula puede variar dentro de un amplio rango; aproximadamente puede representar entre el 0,3% y el 4% del peso seco algal (Reynolds, 2006), pero este rango puede variar en función del estado fisiológico, de las condiciones lumínicas, la disponibilidad de nutrientes y la composición de la comunidad fitoplanctónica.

Otros métodos indirectos, como son la actividad ATPasa, la concentración de carbono orgánico particulado o la fijación de carbono, aportan una información extraordinariamente valiosa que permite conocer el estado fisiológico de la comunidad, pero, dado que está afectado en gran medida por las condiciones ambientales (disponibilidad de luz, nutrientes, etc.), su capacidad para estimar la biomasa es muy limitada (Verity, 1992).

Otros métodos que permiten la automatización o semi-automatización del análisis empiezan a tomar cierta relevancia en el campo de la estimación cuantitativa del fitoplancton, como son los contadores de partículas (HIAC), los dispositivos coulter, la fluorocitometría, los analizadores de imagen o las técnicas moleculares; todas ellas ofrecen una mayor agilidad en el procesado de las muestras y una gran especificidad y calidad de resultados (bajo error sistemático) para el análisis de muestras que reúnan ciertas características (i.e. densidades algales no muy bajas o rangos de tamaños no demasiado amplios) (Godhe et al., 2007), pero aún mantienen un uso limitado como consecuencia del costoso valor de la instrumentación necesaria y a ciertas restricciones metodológicas. En consecuencia, los métodos automatizados son extraordinariamente útiles en experimentos con cultivos unialgales, o formados por un conjunto de algas claramente diferenciables (Hillebrand, 1999).

En la actualidad el método que ofrece un mayor grado de exactitud es el que está asociado al uso del microscopio óptico y al cálculo directo del volumen celular. Sin lugar a dudas, es el método más ampliamente utilizado para la estimación de biomasa (Hillebrand, 1999). Los resultados se obtienen a partir de la estimación del espacio ocupado por la forma geométrica que más se asemeje a cada una de las especies encontradas. Pero la calidad de los datos está supeditada a la forma de proceder del analista y a su nivel de experiencia. El número de mediciones (nº células) y la forma geométrica elegida son algunas de las principales fuentes de error (Hobro, & Willén, 1977). En consecuencia, para alcanzar un adecuado nivel de exactitud es necesario invertir un elevado volumen de trabajo, lo que se traduce en un importante incremento del costo asociado a este nivel de análisis. El rango de tamaños que puede alcanzar las células de una misma especie a lo largo de su ciclo de vida puede llegar a ser en algunos casos de hasta un orden de magnitud (Hötzel & Croom, 1999). Estas diferencias pueden ser igualmente significativas entre las diferentes masas de agua en las que una misma especie puede ser encontrada. Por todo ello, la utilización de la información publicada, la aplicación de los tamaños estimados en masas de agua de similares y/o con cierta proximidad geográfica, o incluso en la misma masa de agua en algún momento previo al de la propia muestra que pretende ser analizada son

alternativas que pueden debilitar la calidad del dato obtenido y están desaconsejadas por los especialistas (Smayda, 1978), pero que, obviamente, reduce los costos y agiliza la obtención de los resultados y la toma de decisiones.

### 3.1 METODOLOGÍA

El estudio fue realizado tomando datos de diferentes fuentes de información disponibles:

- Base de datos de los humedales de la Comunidad Autónoma del País Vasco ( $BD_{HPVT}$ ). Esta base de datos fue analizada también teniendo en cuenta la metodología utilizada para la obtención de los biovolúmenes, distinguiéndose entre los valores obtenidos a partir de las medidas realizadas sobre la propia muestra ( $BD_{HPV1}$ ), las estimadas en alguna muestra distinta de la analizada pero obtenidas a partir de otras procedentes de la misma masa de agua ( $BD_{HPV2}$ ), y las obtenidas a partir de otros humedales pero que se encuentran dentro del mismo ámbito territorial ( $BD_{HPV3}$ ); estos dos últimos tipos de estimaciones fueron agrupados bajo la denominación de  $BD_{HPV2-3}$ .
- Base de datos bibliográfica ( $BD_b$ ). Esta base se ha construido a partir de muestras recogidas en un amplio espacio territorial que abarca varias Cuencas Hidrográficas como las del Tajo, del Segura, del Júcar y del Duero, etc.
- Base de datos de MAGRAMA ( $BD_{TAXAGUA}$  V2).

Para poder contrastar la información ofrecida por estas bases de datos se realizó un filtrado previo de la información. En el caso de la base HPV, para evitar situaciones ambiguas, fueron eliminados todos los taxones cuya determinación no estuviera a nivel específico o que estuvieran en este nivel pero de forma incierta (forma cf.); fueron también excluidos del análisis todos los taxones cuyos valores no estuvieran soportados por un nivel mínimo de mediciones ( $n < 20$ ), entendiéndose por éste, no un nivel de individuos medidos sino referido al número de muestras estudiadas, ya fueran pertenecientes a diferentes humedales o al mismo. En total fueron analizadas 2378 entradas dentro de  $DB_{TAXAGUA}$  y 9995 dentro de  $BD_{HPV}$ , con un total de 5387 para  $BD_{HPV1}$  y de 3649 para  $BD_{HPV2-3}$ ; de  $BD_b$  sólo se dispuso del valor medio por taxón.

El amplio rango encontrado para algunas de las especies, en cuanto al biovolumen celular estimado, permite presumir que se podría tratar de entradas erróneas en la base en muchos de los casos. Para evitar ese posible sesgo de la información, se adoptó el criterio de eliminar todos aquellos valores que estuvieran fuera del rango comprendido entre  $\pm 3SD$  de la media aritmética. En cualquier caso, esa delimitación del rango de datos no ha supuesto una modificación significativa en los resultados estadísticos obtenidos ya que, en la mayoría de los casos, no ha habido que eliminar ninguna medida, llegando a realizarse de forma puntual la eliminación de un máximo de 5 registros.

La clasificación de los diferentes organismos que constituyen el fitoplancton se encuentra en permanente revisión. Eso implica que algunos de los nombres incluidos en las bases de datos hayan cambiado de nominación en tiempo más o menos reciente, o que haya dado lugar a sinonimias. En la Tabla 1 se presentan los cambios que actualmente son reconocidos para las especies que han sido analizadas.

Si bien los nombres se han mantenido en el presente estudio, no ha sido así en su agrupación en las categorías taxonómicas superiores (0), en la que se ha tenido en

cuenta su actual denominación y estatus. Igualmente en los datos presentados para cada especie se ha tenido en cuenta las sinonimias de aquellas especies que en la base de datos de los humedales del País Vasco (BD<sub>HPV</sub>) se encontraban como especies diferenciadas pero que actualmente han sido sinonimizadas bajo una sola denominación (i.e. *Rhodomonas minuta*, *Rhodomonas lacustris* var. *nannoplanctica* y *Plagioselmis nannoplanctica* fueron analizadas bajo la denominación única de *Plagioselmis nannoplanctica*).

Tabla 1 Revisión del estatus nomenclatural de los taxones incluidos en la base de datos que actualmente reciben un nombre diferente (taxones sinoninizados o reagrupados).

Denominación que figura en la base de datos HPV	Denominación actual (Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2013)
<i>Achnanthes minutissima</i>	<i>Achnantheidium minutissimum</i>
<i>Ankyra lanceolata</i>	<i>Lanceola spatulifera</i>
<i>Chlorogonium fusiforme</i>	<i>Rusalka fusiformis</i>
<i>Chromulina etlii</i>	Taxón con estatus incierto
<i>Coelastrum reticulatum</i>	<i>Hariotina reticulata</i>
<i>Cosmarium depressum</i>	<i>Cosmarium baileyi</i>
<i>Cryptomonas erosa</i> var. <i>reflexa</i>	<i>Cryptomonas pyrenoidifera</i>
<i>Cymbella amphicephala</i>	<i>Cymboppleura amphicephala</i>
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	<i>Mucidosphaerium pulchellum</i>
<i>Dinobryon petiolatum</i>	<i>Dinobryon faculiferum</i>
<i>Euglena acus</i>	<i>Lepocinclis acus</i>
<i>Fragilaria capitata</i>	<i>Ulnaria capitata</i>
<i>Fragilaria ulna</i>	<i>Ulnaria ulna</i>
<i>Gomphonema angustum</i>	<i>Gomphonema vibrio</i> var. <i>intricatum</i>
<i>Navicula cocconeiformis</i>	<i>Cavinula cocconeiformis</i>
<i>Navicula pupula</i>	<i>Sellaphora pupula</i>
<i>Navicula rostellata</i>	<i>Navicula crucifera</i>
<i>Ochromonas sphaerella</i>	Taxón con estatus incierto
<i>Oocystis bispora</i>	Taxón con estatus incierto
<i>Oocystis nephrocytioides</i>	<i>Oocystella nephrocytioides</i>
<i>Oscillatoria limnetica</i>	<i>Pseudanabaena limnetica</i>
<i>Oscillatoria subtilissima</i>	<i>Jaaginema subtilissimum</i>
<i>Pediastrum boryanum</i>	<i>Pseudopediastrum boryanum</i>
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>echinulatum</i>	<i>Monactinus simplex</i> var. <i>echinulatum</i>
<i>Pediastrum tetras</i>	<i>Stauridium tetras</i>
<i>Planctonema lauterbornii</i>	<i>Binuclearia lauterbornii</i>
<i>Rhodomonas lacustris</i> var. <i>nannoplanctica</i>	<i>Plagioselmis nannoplanctica</i>
<i>Rhodomonas minuta</i>	<i>Plagioselmis nannoplanctica</i>
<i>Scenedesmus acuminatus</i> var. <i>acuminatus</i>	Taxón con estatus incierto
<i>Scenedesmus acunae</i>	Taxón con estatus incierto
<i>Scenedesmus caliptratus</i>	Taxón con estatus incierto
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	<i>Acutodesmus dimorphus</i>
<i>Scenedesmus disciformis</i>	<i>Scenedesmus verrucosus</i>
<i>Scenedesmus intermedius</i>	<i>Desmodesmus intermedius</i>
<i>Scenedesmus linearis</i>	<i>Scenedesmus ellipticus</i>
<i>Scenedesmus opoliensis</i>	<i>Desmodesmus opoliensis</i>
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	<i>Desmodesmus communis</i>

Tabla 2 Listado de las categorías taxonómicas superiores que engloban el conjunto de los taxones incluidos en el estudio.

División	TAXONES&DIV.		Clase	Código	TAXONES&CLASE	
	nº	%			nº	%
<i>Charophyta</i>	5	4	<i>Conjugatophyceae</i>	7	4	3
			<i>Klebsormidiophyceae</i>	15	1	1
<i>Chlorophyta</i>	56	42	<i>Chlorodendrophyceae</i>	2	2	1
			<i>Chlorophyceae</i>	3	42	31
			<i>Nephroselmidiophyceae</i>	16	1	1
			<i>Pedinophyceae</i>	17	2	1
			<i>Trebouxiophyceae</i>	19	9	7
<i>Choanozoa</i>	1	1	<i>Choanoflagellata</i>	4	1	1
<i>Cryptophyta</i>	9	7	<i>Cryptophyceae</i>	9	9	7
<i>Cyanobacteria</i>	5	4	<i>Cyanophyceae</i>	10	5	4
<i>Dinophyta</i>	6	4	<i>Dinophyceae</i>	12	6	4
<i>Euglenophyta</i>	4	3	<i>Euglenophyceae</i>	13	4	3
<i>Haptophyta</i>	1	1	<i>Coccolithophyceae</i>	6	1	1
<i>Heterokontophyta</i>	47	35	<i>Bacillariophyceae</i>	1	23	17
			<i>Chrysophyceae</i>	5	9	7
			<i>Coscinodiscophyceae</i>	8	3	2
			<i>Dictyochophyceae</i>	11	2	1
			<i>Fragilariophyceae</i>	14	9	7
			<i>Synurophyceae</i>	18	1	1

### 3.2 RESULTADOS

Del conjunto de los taxones incluidos en BDHPV, 134 fueron los que cumplieron los criterios metodológicos establecidos para el estudio. En total son 9 las divisiones y 19 clases las que se encuentran representadas en este subconjunto de BDHPV. De todos ellos, las divisiones *Chlorophyta* y *Heterokontophyta*, fueron las mejor representadas, alcanzándose entre ambas el 77% de los taxones estudiados; a su vez las clases *Chlorophyceae* y *Bacillariophyceae* fueron las clases que englobaron un número mayor de especies (48%), mientras que el resto de las clases se mantuvieron en un nivel de representación muy reducido, generalmente inferior al 5%. A su vez, el conjunto que de especies que constituyeron BDHPV1 (n=90) fue superior al de BDHPV2-3 (n=45). Por otro lado, el número de los taxones coincidentes dentro de las otras bases de datos con los de BDHPV y que pudieron ser utilizados para el análisis comparativo fueron de 121 y 32 para BDb y DBTAXAGUA respectivamente (Tabla 3).

La dispersión de los valores medios de biovolumen encontrados en los diferentes subconjuntos en los que fue dividida BD<sub>HPV</sub> fue sensiblemente inferior al de BD<sub>TAXAGUA</sub> (Tabla 3 y Figura 3). Así, el coeficiente relativo de variación medio de los biovolúmenes celulares estimados dentro de una misma muestra (CV<sub>HPV1</sub>=40) fue inferior al calculado para DB<sub>TAXAGUA</sub> (CV<sub>TAXAGUA</sub>=47). Las diferencias encontradas fueron aún mayores entre ésta última y las estimadas para BD<sub>HPV2-3</sub> y BD<sub>HPVT</sub>.

La distribución de los valores de DB<sub>TAXAGUA</sub> resultó más asimétrica, al igual que su nivel de dispersión o rango intercuartílico (RIC), en tanto que el conjunto de BD<sub>HPVT</sub> presentaron un mayor número de puntos atípicos (outliers).

Tabla 3 Número de taxones analizados en cada una de las bases de datos utilizadas y coeficiente de variación medio ( $CV_{MED}$ ) encontrado en cada una de ellas.

	$BD_{HPV1}$	$BD_{HPV2-3}$	$BD_{HPVT}$	$BD_b$	$BD_{TAXAGUA}$
Número de taxones	90	45	134	121	32
$CV_{MED}$	40	33	36	-	47

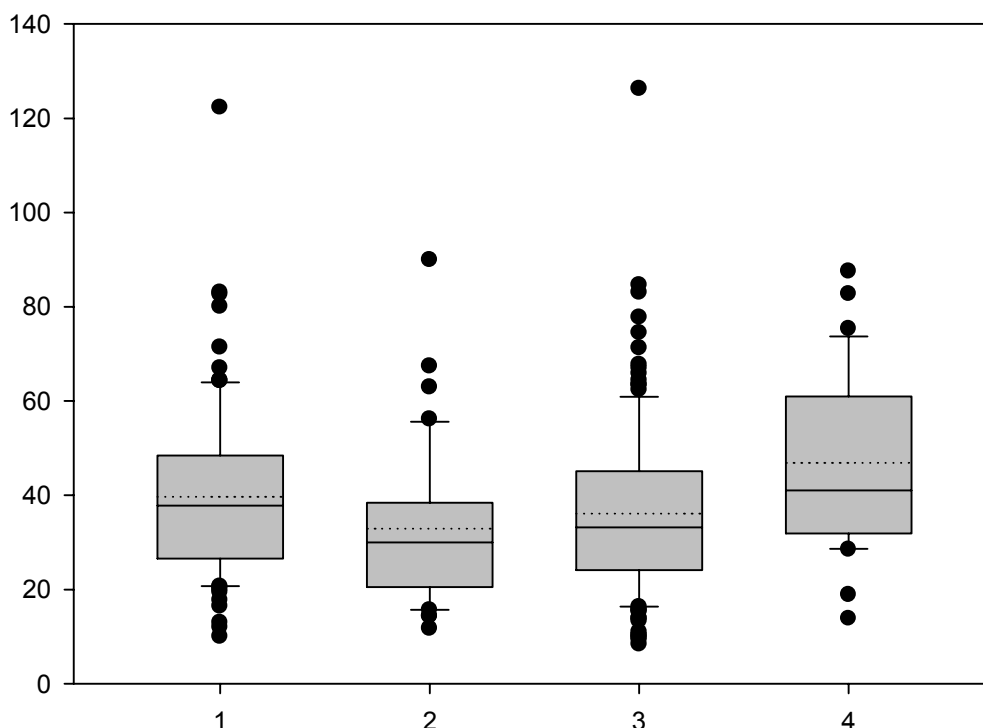


Figura 3 Coeficiente de Variación Relativo del biovolumen medio de las especies de fitoplancton incluidas en cada una de las bases de datos analizadas (1:  $CV_{HPV1}$ , 2:  $CV_{HPV2-3}$ , 3:  $CV_{HPVT}$ , 4:  $CV_{TAXAGUA}$ ). Los valores individuales pueden ser consultados en la Tabla 12

Con el fin de poder comparar las diferencias en los biovolúmenes estimados de las especies que componen cada una de las bases de datos fueron calculadas las diferencias medias relativas. Los grados de libertad para cada uno de los análisis de comparación de medias fue variable, encontrándose dentro de un rango que fue desde 133 ( $BD_{HPVT}$  &  $BD_b$ ) hasta 12 ( $BD_{HPV2-3}$  &  $BD_{TAXAGUA}$ ). En el análisis conjunto del valor medio obtenido a partir de la comparación realizada entre las diferentes bases de datos, se observa que el mayor grado de similitud se da entre los diferentes subconjuntos en los que fue segregada  $BD_{HPV}$  ( $BD_{HPV1}$ ,  $BD_{HPV2-3}$  y  $BD_{HPVT}$ ); por el contrario, el mayor alejamiento relativo de los valores medios fue el encontrado en el análisis comparativo realizado entre  $BD_{HPV}$  y  $BD_{TAXAGUA}$  (Tabla 4).

Tabla 4 Diferencia relativa (valor porcentual) del biovolumen medio estimado para los diferentes taxones incluidos en cada una de las bases de datos analizadas.

	$BD_{HPV2-3}$	$BD_{HPVT}$	$BD_b$	$BD_{TAXAGUA}$
$BD_{HPV1}$	10.4	5.2	64.2	108.6
$BD_{HPV2-3}$	-	5.1	63.6	111.6
$BD_{HPVT}$		-	71.8	110.2
$BD_b$			-	59.2



La distribución general de cada uno de los análisis comparativos permite observar diferentes grados de asimetría (Figura 4). En general, los análisis comparados de las diferentes bases de datos en las que fue dividida  $BD_{HPV}$  ( $BD_{HPV1}$ ,  $BD_{HPV2-3}$  y  $BD_{HPVT}$ ), presentaron una distribución más simétrica (RIC bajo), con un menor número de puntos atípicos. Las comparativas realizadas entre  $BD_{HPV}$  y  $BD_b$ , presentaron además de valores medios más elevados, un mayor número de valores atípicos y un RIC ligeramente mayor. Sin embargo, donde se pudo observar un mayor grado de dispersión asimétrica de los valores fue el observado en el análisis comparativo realizado entre  $BD_{HPV}$  y  $BD_{TAXAGUA}$ .

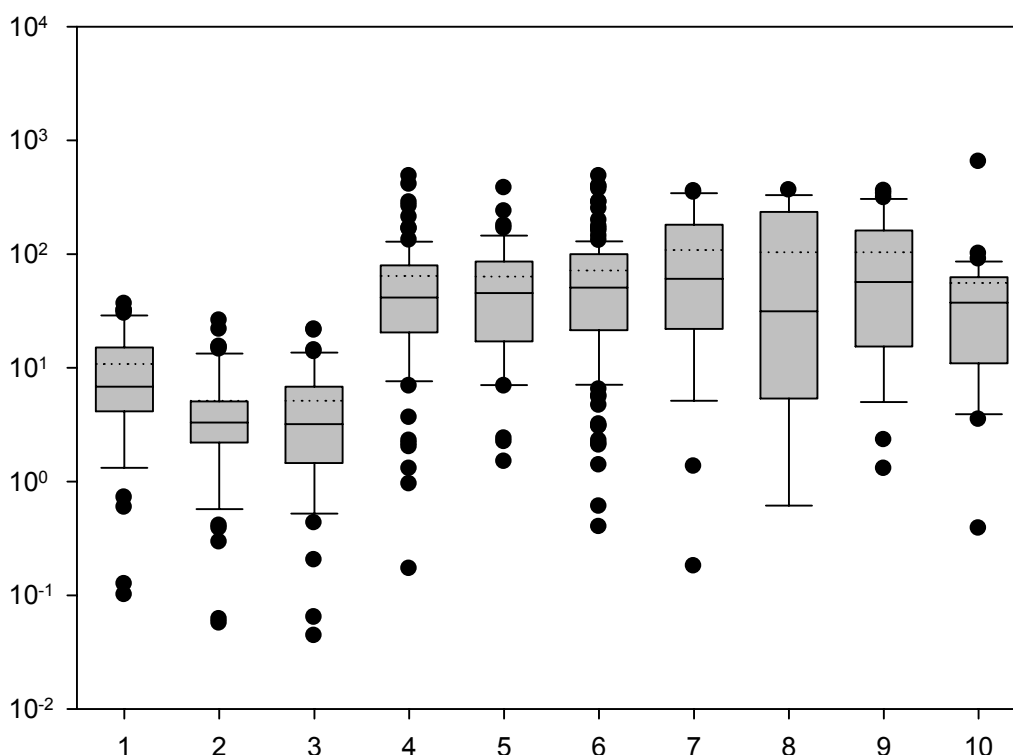


Figura 4 Diferencia relativa observada a partir de la comparación del biovolumen medio de las especies de fitoplancton incluidas en cada una de las bases de datos analizadas (1:  $\%X_{HPV2-3\&HPV1}$ , 2:  $\%X_{HPVT\&HPV1}$ , 3:  $\%X_{HPVT\&HPV2-3}$ , 4:  $\%X_{HPV1\&BD_b}$ , 5:  $\%X_{HPV2-3\&BD_b}$ , 6:  $\%X_{HPVT\&BD_b}$ , 7:  $\%X_{HPV1\&TAXAGUA}$ , 8:  $\%X_{HPV2-3\&TAXAGUA}$ , 9:  $\%X_{HPVT\&TAXAGUA}$ , y 10:  $\%X_{BD_b\&TAXAGUA}$ ). Los valores individuales pueden ser consultados en la Tabla 13. Téngase en cuenta que para una mejor presentación de la información el eje Y está en escala logarítmica.

### 3.3 DISCUSIÓN

La estimación adecuada de la biomasa fitoplanctónica es una de las actividades que más interés y preocupación ha suscitado en los últimos años en el ámbito de la gestión del control y la vigilancia ambiental de las masas de agua continentales.

Encontrar un procedimiento estandarizado que de la suficiente calidad de valoración del estado ecológico de las masas de agua es por tanto un objetivo prioritario. Son muchos esfuerzos los que se han llevado a cabo en este sentido, especialmente en Europa, como consecuencia de la aprobación y puesta en marcha de la Directiva Marco del Agua.

Pero los criterios de calidad deben estar adecuadamente justificados con los objetivos que se pretenden alcanzar. La estimación de esta importante variable ecológica resulta siempre controvertida por encontrarse sujeta a diferentes aproximaciones metodológicas, cada una de ellas podría estar caracterizada por diferentes niveles de esfuerzo, lo que representaría un costo económico significativamente variable. En consecuencia, la decisión de la metodología a adoptar debería ser una solución de compromiso entre la calidad del dato y su coste económico.

De modo general, las recomendaciones dadas por diferentes autores en este sentido obligan a realizar una estimación volumétrica de todas las unidades algales encontradas en cada una de las muestras, desaconsejándose la utilización de datos bibliográficos o cualquier estimación realizada a partir de otros ambientes acuáticos (Smayda, 1978).

La elevada variabilidad volumétrica que pueden adoptar una misma especie en función de su estado fisiológico o de su grado de maduración y posición dentro de su particular ciclo reproductivo, son los principales argumentos que justificarían adoptar éste criterio.

La agilidad en el análisis de los resultados como apoyo fundamental en muchos casos para la gestión y el abaratamiento de los costes de ejecución, sin que se lleguen a sobrepasar niveles críticos de calidad, son argumentos que podrían motivar la revisión de las propuestas metodológicas iniciales y la búsqueda de alternativas que ayuden a dar una resolución más satisfactoria a los estudios cuyo principal objetivo es dar apoyo a las labores de vigilancia y control ambiental de las masas de agua.

Una de las propuestas que va ganando terreno sería la de poder desarrollar una base de datos constituida por un amplio número de especies con un biovolumen estandarizado y específico para cada una de las especies que habitualmente forman parte de la composición del fitoplancton de las aguas continentales.

Sin embargo, existen diferentes causas por las que esta normalización en la asignación volumétrica especie-específica puede resultar tremendamente problemática. Los errores habituales en la identificación y las frecuentes revisiones y cambios nomenclaturales que se producen en las clasificaciones taxonómicas (sinonimias y basionimias) son otra fuente importante de error a la hora de poder estandarizar una base de datos de uso común y que pueda dársele una aplicación generalizada. Otra importante fuente de incertidumbre es la estimación precisa de algunas especies cuya adecuada resolución está sujeta a la medición de dimensiones celulares ocultas (i.e. longitud pleural de muchas diatomeas).

Cuando se trata de recoger la información ya obtenida por diferentes laboratorios, otra forma de incrementarse la variabilidad es la que puede venir dada por el uso de diferentes modelos geométricos que han podido ser asignados a las diferentes formas que puede adoptar cada una de las especies fitoplanctónicas.

Por último, la variabilidad natural intrínseca (la alcanzada por los diferentes tamaños que adoptan a lo largo de su ciclo celular natural y por un particular estado fisiológico) y la condicionada ambientalmente (por la disponibilidad de recursos y/o por el acceso a éstos), imprimen al fitoplancton diferentes estrategias de adaptación que afectan a su crecimiento, a su tamaño y al grado de correlación biomasa-biovolumen.

Del conjunto de taxones que componen DB<sub>HPV</sub>, 134 fueron los que cumplieron con los requisitos mencionados en la metodología. Es por tanto una muestra de tamaño suficiente como para poder dar una adecuada valoración de las diferencias

encontradas en los diferentes métodos utilizadas para la estimación del biovolumen celular, al menos en su conjunto.

El CV relativo encontrando en los diferentes subconjuntos presenta una tendencia esperable, siendo más alto en CV<sub>HPV1</sub> y menor CV<sub>HPV2-3</sub>; eso es lógico teniendo en cuenta que en el segundo se obtuvo a partir de un menor número de muestras y por tanto menos afectada por los diferentes estados en los que podrían estar las especies encontradas.

La base de datos desarrollada para los humedales del País Vasco (DB<sub>HPV</sub>) presenta una variabilidad relativamente alta, pero acorde con la que cabría esperar en este tipo de muestras poblacionales.

El CV encontrado en la otra base de datos de la que se dispone de este tipo de información (DB<sub>TAXAGUA</sub>) es similar, con una dispersión ligeramente mayor, pero con un menor número de datos atípicos, algo que probablemente se encuentra condicionado por la diferencia en el número de registros de cada una de ellas.

La información obtenida a partir del uso de valores no tomados directamente sobre las muestras analizadas, pueden estar introduciendo un error significativo de forma puntual para algunas especies cuyo ciclo biológico pasa por diferentes estadios y/o tamaños celulares, es el caso de muchas diatomeas y de algunas clorófitas que se reproducen a través de autoesporas cuyo aspecto es similar al de la célula madre y que, sin embargo, mantiene tamaños celulares significativamente inferiores.

También es posible que algunos grupos taxonómicos presenten un mayor nivel de alejamiento puntual de sus valores medios volumétricos (i.e. las diatomeas presentan un amplio rango de tamaños celulares como consecuencia de ciclo de vida; en cambio, las cianobacterias, que se reproducen principalmente por bipartición, suelen presentar un tamaño celular con escasas diferencias dentro de la misma población).

Pero también es posible que puedan estar afectando las diferentes condiciones ambientales sobre las que una misma especie puede estar desarrollándose. Así, la limitación por algún tipo de nutriente o una heterogénea distribución de los recursos (i.e. la luz) hacen que una misma especie pueda estar creciendo en condiciones óptimas o limitantes, con la consiguiente influencia sobre su desarrollo celular y su crecimiento hasta iniciar el proceso de división.

En cianobacterias es también especialmente relevante tener en cuenta a la hora de estimar su biovolumen, el espacio ocupado por los aerotopos, en el caso de que los presentara ya que, de ser así, el volumen ocupado por la biomasa celular se estaría sobrevalorando. En este sentido, se realizaron análisis comparativos con el fin de poder explorar la posible relación entre las estimaciones volumétricas celulares y el tamaño de éstas, sin que se encontrara ninguna tendencia y/o distribución significativa en este sentido. También se hicieron análisis de los datos agrupados por grupos taxonómicos de rango superior (clase y división), pero igualmente los resultados obtenidos no aportaron ninguna información relevante que permitiera poder establecer relación sobre los diferentes grados de precisión (similitud) que pueden ser esperados de acuerdo al grupo taxonómico estudiado.

Aunque, como ya se ha mencionado que en el estudio de los datos obtenidos no se obtuvieron resultados concluyentes en relación al tamaño celular o a su pertenencia a un determinado grupo taxonómico, algunos géneros algales presentaron un mayor nivel de discrepancia en el valor medio asignado en cada una de las bases de datos consultadas. Así, caben destacar las especies *Franceia amphitricha*, *Gymnodinium*

*wawriake*, *Kirchneriella lunares*, *Monoraphidium arcuatum*, *M. circinale*, *M. minutum*, *Navicula phyllepta*, *Nitzschia palea*, *Oocystis parva*, *Plagioselmis nannoplanctica*, *Pseudanabaena articulata*, *Acutodesmus dimorphus* (*Scenedesmus dimorphus*), *Scenedesmus obtusus*, *Tetrastrum triacanthum* y *Tetrastrum triangulare*. Todas éstas especies superaron ampliamente una diferencia de su valor medio volumétrico superior al 100%, lo que podría significar, en una valoración del estado de una masa de agua, la asignación de un estado ecológico muy diferentes en el caso de fueran las especies dominantes encontradas.

Las diferencias encontradas en el análisis comparativo entre los valores medios muestran también claras diferencias en los biovolumen asignado a cada una de las especies algales, siendo especialmente significativas las encontrados entre DB<sub>HPV</sub> y DB<sub>TAXAGUA</sub>.

Sin embargo, si se tiene en cuenta las diferencias medias del conjunto de los taxones que componen cada una de las bases de datos analizadas se observa un mayor grado de discrepancia entre DB<sub>HPV</sub> y cualquiera de las otras bases de datos analizadas que el obtenido en el análisis comparativo que se hizo dentro de las propias bases de datos en las que se subdividió DB<sub>HPV</sub>. Así, de los valores obtenidos en %X<sub>HPV2-3&HPV1</sub> solo 9 taxones superaron el 20%, lo que representa un total del 20% de los taxones utilizados en el análisis comparativo, en tanto que en los valores obtenidos en %X<sub>HPVT&TAXAGUA</sub>, fueron 24 taxones los que superaron el 20% de diferencia, una cifra que representa el 75% de los taxones comparados, siendo el 13% de ellos los que llegan a presentar diferencias superiores al 300%. Los análisis comparativos llevados a cabo entre DB<sub>HPV</sub> y BDb, dieron resultados algo menos discrepantes en su conjunto, pero también con un importante alejamiento entre los valores medios asignados a cada una de las especies analizadas. Así, el 80% de los taxones (n=103) presentaron diferencias mayores a 20% y el 4% de ellas sobrepasaron el 300%.

Estos resultados evidencian claramente las diferencias tan significativas que podrían estar dándose en las estimaciones de biomasa fitoplanctónica cuando éstas se intentan obtener a partir de estimaciones biovolumétricas obtenidas de muestras que no se corresponden con la masa de agua analizada. Por el contrario, las diferencias encontradas entre los valores obtenidos a partir de la misma muestra analizada y las de muestras diferentes pero recogidas dentro de la misma masa de agua, si bien son puntualmente altas (>20%), generalmente se encuentran dentro de un margen de error asumible (≈10%).

#### **4 ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES DE REFERENCIA EN LOS HUMEDALES INTERIORES DE LA CAPV**

De acuerdo con el Anexo II de la DMA, tras la definición de los tipos de masas de agua, el siguiente paso es el establecimiento de las condiciones de referencia para cada una de las tipologías definidas.

Las condiciones de referencia para una masa de agua son una descripción de los elementos de calidad biológica que existen o existirían en el estado prístino con prácticamente ninguna o muy pocas alteraciones derivadas de las actividades humanas.

El CEDEX (Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas) ha propuesto como métricas útiles para la evaluación del estado ecológico de las masas de agua de

la categoría lago conforme al elemento de calidad fitoplancton su abundancia, y en concreto propone el uso de concentración de clorofila a y biovolumen total <sup>(2)</sup>.

Posteriormente el mismo CEDEX propone unos valores de condiciones de referencia y valores frontera entre clases de estado ecológico para los elementos de calidad “fitoplancton” para la evaluación del estado ecológico de lagos y zonas húmedas, es decir, para clorofila a y biovolumen total <sup>(3)</sup>.

Sin embargo, los valores de referencia y umbrales propuestos por el CEDEX para biovolumen fitoplanctónico total no incluyen a la mayoría de los tipos establecidos para los lagos y zonas húmedas interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco (solamente se proponen condiciones de referencia para el tipo 15 (Arreo)). Por otro lado, el Grupo Geográfico de Intercalibración de Lagos Mediterráneos (L-M GIG, 2007) ha establecido valores umbral para está métrica, pero no para lagos naturales, sino para embalses.

En base a lo expuesto anteriormente, este apartado tiene por objeto proponer las condiciones de referencia y umbrales de calidad asociados de los principales lagos y humedales pertenecientes a la red de seguimiento de la CAPV (ciclos 2001/2012), tarea que se ha desarrollado en base a las directrices marcadas por la Directiva, en la que se plantean cuatro métodos para establecer las condiciones de referencia de las masas de aguas: Estudio de una zona sin alteración o con una alteración mínima; Utilización de datos históricos; Empleo de modelos; y Juicio de expertos

El objetivo de establecer condiciones de referencia es permitir el establecimiento de los Índices de Calidad Ambiental (EQR: Environmental Quality Ratio). Estos ratios representan la relación entre los valores de los parámetros biológicos observados para una masa de agua determinada y aquellos de las condiciones de referencia. Este cociente debe expresarse en valores numéricos comprendidos entre 0 y 1, con un estado ecológico “Muy bueno” para valores cercanos a uno y “Malos” para valores cercanos a cero (Apartado 1.4.1. del Anexo V de la DMA).

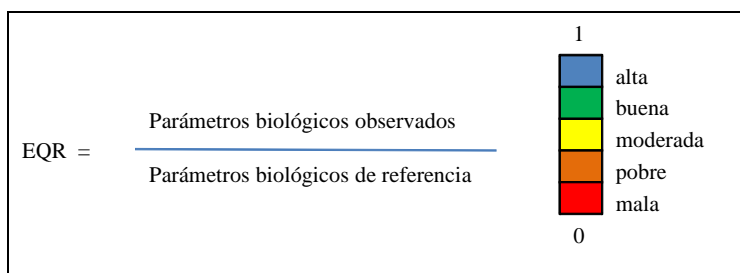


Figura 5 Esquema para el establecimiento de los Índices de Calidad Ecológica (EQR).

<sup>2</sup> CEDEX 2009. Selección de métricas para la evaluación del estado ecológico de las masas de agua del tipo “lagos” basadas en el elemento de calidad “fitoplancton”, en aplicación de la Directiva Marco del Agua v 1.0

<sup>3</sup> CEDEX 2009). Establecimiento de condiciones de referencia y valores frontera entre clases de estado ecológico para los elementos de calidad “fitoplancton” y “otra flora acuática” en masas de agua de la categoría “lago”

#### 4.1 ASIGNACIÓN DE TIPOLOGÍAS

---

Con la necesidad de proteger y/o gestionar eficazmente los ecosistemas acuáticos, surge la necesidad de describirlos e identificarlos de manera eficiente, lo que implica estudiar su origen, su comportamiento y la distribución de los distintos tipos de funcionamiento ecológico en sus respectivas cuencas vertientes. Esto implica necesariamente una clasificación.

La Directiva Marco del Agua (Comisión Europea, 2000) ha reconocido la importancia de la clasificación de los ecosistemas acuáticos para su gestión, y ha requerido una cuidadosa tipificación inicial de las masas de agua previa al establecimiento de las condiciones de referencia de cada tipo.

Actualmente, y tras varias versiones previas realizadas por el CEDEX, el estado español ha realizado una Instrucción de Planificación Hidrológica, que incluye una tipología estatal de las masas de agua, y que ha sido publicada en el BOE (BOE, 2008). Sin embargo, en Gobierno Vasco (2008 y 2009) se ha considerado que la tipología propuesta por el CEDEX se puede mejorar, y/o no se ajusta a varios humedales de la red vasca.

A continuación realizamos una serie de consideraciones sobre la adecuación real de las distintas masas de agua de la red de seguimiento de los HPV a los tipos que el CEDEX efectuó.

CEDEX (2008) define un grupo de tipos de lagos cársticos considerando aquéllos en los que la génesis cárstica es determinante para su funcionamiento ecológico y, consecuentemente, para las comunidades biológicas que en ellos se desarrollan (tipos 10 a 15). Entre éstos distingue, dentro de la variable origen, entre sistemas cársticos generados sobre materiales calcáreos, es decir calizas puras o calizas con intercalaciones de margas o dolomías, y sistemas cársticos de evaporitas, las cuales se desarrollan sobre rocas solubles, principalmente yesos. Se establece esta distinción ya que el hecho de que se desarrollen sobre uno u otro tipo de materiales es condicionante, según ellos, para su funcionamiento ecológico, puesto que los sistemas cársticos sobre evaporitas presentan una mayor mineralización, así como un mayor contenido en sulfatos que los que se desarrollan sobre materiales calcáreos. En nuestra opinión, el que se desarrollen sobre un tipo de roca u otro no es condicionante del funcionamiento ecológico en los sistemas dulces y/o subsalinos (<3000 uS/cm).

Los humedales pertenecientes a la red de seguimiento de la CAPV que deben encuadrarse en un tipo de lagos/humedales típicamente cársticos son: la laguna de Monreal, la laguna de Lamiogín, la laguna de Arbieto, el lago de Arreo, la laguna de Olandina. Asimismo, se encuadrarían aquí el resto de humedales del complejo de Altube, formado por otros 15 humedales, además de la laguna de Monreal, que no forman parte de la red de seguimiento, y que erróneamente se han constituido como masas de agua de forma individualizada.

La laguna de Monreal, que se incluía en versiones anteriores de la tipología de humedales dentro de un tipo definido como “*cárstico húmedo*”, se ha excluido de este tipo con la errónea argumentación de que a pesar de que se desarrolla sobre sustratos en parte evaporíticos, en donde han intervenido procesos cársticos en su génesis, su funcionamiento no parece que sea el propiamente cárstico (CEDEX, 2008), por lo que se ha incluido en un tipo dentro de humedales interiores de cuenca de sedimentación. Es de destacar, no obstante, que su funcionamiento es cárstico sin duda alguna.



En URA (2009) ya argumentamos que es preciso definir para la laguna de Monreal un tipo cárstico de evaporitas, de tipo húmedo (índice >2), con mineralización media (conductividad: 500-3000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), de hidroperiodo permanente-semi-permanente y aguas no profundas (<3m). Considerando también el resto de humedales del complejo de Altube, cabría la duda si diferenciar, en base a la importancia que marca la presencia o ausencia de peces, entre un tipo con régimen de aportación hipogénico estricto de otro con régimen mixto, o crear un único tipo. Desde nuestro punto de vista la importancia de la presencia o ausencia natural de un elemento biológico de calidad de los que marca la Directiva Marco de Agua haría necesario la existencia de dos tipos diferenciados.

El caso de la laguna de Lamiogín ya se abordó igualmente en URA (2009); así, esta laguna (que en principio no está definida como masa de agua nivel estatal, pero que aparece como discusión en varios documentos anteriores al creerse erróneamente que forma parte del complejo de masas de agua de Altube) es una laguna cástica-calcárea, no evaporítica, de tipo hipogénico, y, por tanto pertenecería a un tipo distinto de los humedales de Altube; es de destacar, no obstante que Lamiogín pertenecería a un tipo de humedales común dentro del ámbito regional cantábrico-atlántico, pero que, ante la no existencia de masas de agua definidas, es un tipo aún no definido. Este tipo estaría formado por humedales cástico-calcáreos, hipogénicos, de tipo húmedo (índice de humedad >2), de mineralización media (500-3000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), de hidroperiodo permanente-semi-permanente y aguas profundas (>3m, aunque sin una marcada estratificación a lo largo del año).

La laguna de Arbieto tampoco podría asignarse de una forma correcta a los tipos definidos en BOE (2008). Esta laguna debería encuadrarse en un tipo nuevo de carácter cástico de evaporitas, de tipo húmedo (índice >2), con mineralización media (Arbieto tiene una conductividad media de 1684  $\mu\text{S}/\text{cm}$  entre 2002-09, con máximo de 2036  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), de hidroperiodo permanente y aguas profundas (>3m). Se asemejaría a los tipos de ecosistema que, siendo de tipo torca, se encuadran en el tipo 15, pero de carácter húmedo. Dentro de este tipo 15 se encuadra, como ya se señaló en URA (2009) el lago de Arreo.

La laguna de Olandina es un humedal de tipo cástico evaporítico, hipogénico mayoritariamente (está asociado a ella un pequeño arroyo que lleva agua esporádicamente), mineralización media (valor medio de conductividad entre 2002-09 de 540  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , con máximo de 898  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), hidroperiodo permanente y aguas profundas, aunque de nivel de agua muy fluctuante. En relación con la profundidad de sus aguas, se han registrado máximos superiores a los 8 m, si bien un ciclo hidrológico normal presenta profundidades máximas en torno a 3 m, que en un año seco resultan inferiores; además, probablemente este nivel de las aguas se vea influido por una influencia de extracciones de agua del acuífero en la zona. En este sentido la laguna de Olandina se englobaría en el tipo 15, si bien se distinguiría de la mayoría de representantes en que no forma una estratificación de la columna de agua a lo largo del ciclo hidrológico. En este sentido, si el valor de 3m de profundidad máxima estuviera definiendo sistemas de aguas profundas con estratificación térmica, la laguna de Olandina tendría que ser sacado de este grupo y conformar uno nuevo, no existente en BOE (2008) con las mismas características del grupo 15 pero definido como de aguas someras. Otro factor a considerar con el resto de cuerpos de agua incluidos en el grupo 15 es el hecho de que una hidrología hipogénica frente a otra de carácter mixta está asociada frecuentemente con la ausencia o existencia natural de

poblaciones piscícolas, lo que en si mismo ya justificaría la existencia de tipos distintos de humedales/lagos.

Para finalizar el grupo de los humedales típicamente cársticos, las lagunas de Bikuña y Grande de Maestu presentan unas características que las hace difícilmente asignables a los tipos establecidos para las masas de agua a nivel estatal. Estas lagunas se sitúan en zona de montaña media (854m y 672 m respectivamente) caliza con alimentación epigénica principal o mixta, presentan un hidroperiodo semi-permanente fluctuante, secándose los veranos de ciclos secos, con una mineralización baja (con valores medios de conductividad entre 2002-09 para Bikuña de 365  $\mu\text{S/cm}$  y para la Grande de Maestu de 105  $\mu\text{S/cm}$ , con valores máximos de 801 y 188  $\mu\text{S/cm}$ , respectivamente), de carácter somero (con profundidades máximas entre 30-40 cm para Bikuña y 50-70 cm para la Grande de Maestu). Estas características no coinciden con ninguno de los tipos de carácter cárstico de BOE (2008), lo que haría necesario un tipo nuevo con las siguientes características: cárstico calcáreo semi-permanente (que presenta una variabilidad interanual en cuanto a la presencia de lamina de agua en el verano), someros, de mineralización débil (<500  $\mu\text{S/cm}$ ). Estas características son propias de muchos humedales de la zona húmeda de la península. Bikuña y Grande de Maestu, pese a situarse en zona mediterránea, están enclavadas en un área de transición climática, y se parecerían más a humedales cantábricos que a otros estrictamente mediterráneos.

Tabla 5 Correspondencia entre la tipología de la red de seguimiento de la CAPV y la establecida a nivel estatal para las masas de agua definidas en el País Vasco.

Tipología Red CAPV	Tipología estatal (BOE, 2008)	Lago / humedal
Ritmo climático mediterráneo. Lagos cársticos diapíricos monomícticos de aportación mixta.	Tipo 15: cárstico, evaporitas, hipogénico o mixto, pequeño	Arreo
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas endorreicas temporales salinas.	Tipo 21: interior en cuenca de sedimentación, mineralización alta o muy alta, temporal	Carralagroño Carravalseca Musco
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas endorreicas temporales subsalinas.	Tipo 19: interior en cuenca de sedimentación, mineralización media, temporal	Lacorzana Navaridas
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas diapíricas profundas de aportación mixta permanentes fluctuantes	Tipo 15: cárstico, evaporitas, hipogénico o mixto, pequeño (o tipo nuevo no definido: ver texto)	Olandina
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas de montaña media someras epigénicas semipermanentes	Se requiere tipo nuevo (ver texto)	Bikuña Grande de Maestu
Ritmo climático mediterráneo. Humedales de llanura aluvial.	Tipo 24: interior en cuenca de sedimentación, de origen fluvial, tipo llanura de inundación, mineralización baja-media	Salburua- Arkaute Salburua- Betoño
Ritmo climático atlántico. Lagunas diapíricas profundas hipogénicas permanentes fluctuantes	Se requiere tipo nuevo (ver texto)	Arbieto
Ritmo climático atlántico. Lagunas cársticas profundas hipogénicas permanentes no fluctuantes	Se requiere tipo nuevo (ver texto)	Lamiogín
Ritmo climático atlántico. Lagunas diapíricas someras de aportación mixta semipermanentes fluctuantes.	Mal asignado al tipo 18: interior en cuenca de sedimentación, mineralización media, permanente. Se requiere tipo nuevo (ver texto)	Monreal

Como ya se señaló en URA (2009) y como reflexión final, la última tipología definida en BOE (2008) refleja una carencia en el desarrollo de tipos en lo que se podría denominar la España húmeda, probablemente debido a la escasez de masas de agua definidas en este ámbito geográfico.

Para finalizar hay que añadir que, en relación con los humedales artificiales de la red de seguimiento, no es posible asignación alguna de los humedales de la red del País Vasco a ninguno de los tipos definidos para las masas de agua muy modificadas y artificiales asimilables a lagos o lénticas, ya que todas ellas hacen referencia a cuerpos de agua profundos con estratificación de la columna de agua y de carácter monomítico o dimítico. De esta forma habría que asignar, igualmente, tipos nuevos.

Tras todas las consideraciones, la correspondencia entre la tipología de la red de seguimiento de la CAPV y la establecida a nivel estatal para los humedales naturales de la red de seguimiento de la CAPV sería la reflejada en la Tabla 5.

#### 4.2 DETERMINACIÓN DE CONDICIONES DE REFERENCIA

---

La metodología empleada para fijar las condiciones de referencia para los humedales interiores de la CAPV se basó en tres de las cuatro propuestas citadas en el punto 4.5 de la *Guía nº 5 de la Estrategia para la implementación común de la Directiva Marco del Agua*:

- Consideración de masas de aguas no alteradas antropogénicamente, o con alteraciones mínimas.
- Recopilación de datos históricos procedentes los proyectos de la red de seguimiento del estado ecológico de los humedales interiores de la CAPV.
- Uso de juicio de expertos.

De acuerdo las directrices de Guidance Document No. 10, en su anexo Tool 1. Proposed pressure screening criteria for selecting potential reference condition sites or values, las estaciones de referencia son aquellas que no cuentan con presiones e impactos significativas, de modo que las comunidades biológicas que las habitan son las representativas de lugares sin presiones antropogénicas o éstas son de muy escasa importancia.

La evaluación de las presiones que influyen en el deterioro de la calidad ecológica de los humedales interiores de CAPV fue parte importante de los muchos estudios que se han realizado en los últimos años, principalmente en los trabajos de la Red de seguimiento del estado ecológico de los humedales interiores de la CAPV. En la Tabla 6 se listan de forma resumida las distintas presiones a las que estas sometidas los humedales de CAPV.

Como se observa en la Tabla 6, es inviable encontrar estaciones de referencia que no están sujetas a ningún tipo de presión antropogénicas. Por ello se ha decidido considerar como estaciones de referencia a aquellas que presentan una leve alteración antrópica que no modifica apreciablemente el valor de la métrica de biovolumen fitoplanctónico (Tabla 7).

Tabla 6 Descripción de las principales presiones en los humedales interiores de la CAPV.

Tipología Red CAPV	Lago / humedal	Presiones
Ritmo climático mediterráneo. Lagos cársticos diapíricos monomícticos de aportación mixta.	Arreo	Extracción de aguas Deforestación Presencia de especies alóctonas
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas endorreicas temporales salinas.	Carralagroño Carravalseca Musco	Desección de la cubeta Alteración de la cuenca Eutrofización Modificación de las riberas
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas endorreicas temporales subsalinas.	Lacorzana Navaridas	Desección de la cubeta
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas diapíricas profundas de aportación mixta permanentes fluctuantes	Olandina	Eutrofización Presencia de especies alóctonas
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas de montaña media someras epigénicas semipermanentes	Bikuña Grande de Maestu	Drenaje Eutrofización
Ritmo climático mediterráneo. Humedales de llanura aluvial.	Salburua- Arkaute Salburua-Betoño	Eutrofización Presencia de especies alóctonas
Ritmo climático atlántico. Lagunas diapíricas profundas hipogénicas permanentes fluctuantes	Arbieto	Presencia de residuos sólidos Presencia de especies alóctonas
Ritmo climático atlántico. Lagunas cársticas profundas hipogénicas permanentes no fluctuantes	Lamiogín	Presencia de especies alóctonas
Ritmo climático atlántico. Lagunas diapíricas someras de aportación mixta semipermanentes fluctuantes.	Monreal	Eutrofización

Tabla 7 Estaciones consideradas como de referencia así como el tipo al que pertenecen. \*En el caso de Arreo, se tomaron en cuenta solamente los datos de algunos ciclos hidrológicos donde las presiones fueron mínimas.

Tipología Red CAPV	Estación de Referencia	Lago / humedal
Ritmo climático mediterráneo. Lagunas de montaña media someras epigénicas semipermanentes	1	Bikuña
Ritmo climático atlántico. Lagunas diapíricas profundas hipogénicas permanentes fluctuantes	1	Arbieto
Ritmo climático atlántico. Lagunas cársticas profundas hipogénicas permanentes no fluctuantes	1	Lamiogín
Ritmo climático mediterráneo. Lagos cársticos diapíricos monomícticos de aportación mixta.	1	Arreo*

Los datos utilizados para el establecimiento de condiciones de referencia y valores frontera entre clases de estado corresponden al estudio del fitoplancton durante diez años (2001/2012) con periodicidad trimestral, los valores obtenidos del biovolumen fueron estimados directamente de las muestras analizadas. Por otro lado, y debido a la escasez de estaciones de referencia en los tipos definidos en los humedales interiores

de la CAPV, se ha decidido considerar solamente una estación de referencia para el establecimiento de las condiciones de referencia.

Se ha seguido la guía para establecimiento de condiciones de referencia y clasificación del estado ecológico (CIS Working Group 2.3. – REFCOND, 2005) en los tipos con estaciones consideradas como de referencia (Tabla 7). Así que:

- el valor de referencia de la métrica (biovolumen total del fitoplancton) se calculó utilizando la mediana de la distribución de los datos,
- para establecer la frontera entre el muy buen estado y el buen estado ecológico se consideró el percentil 75.
- El resto de fronteras se distribuyen de manera proporcional.
- En dichas estimaciones se han eliminado (como “outliers”) los valores que se encontraban por encima del 95 % de los valores de la distribución (CEDEX, 2010a).
- Finalmente se han calculado los valores de los EQR.

En el caso de los tipos sin estaciones de referencia, se han seguido las recomendaciones que establece la EPA (2000) para apoyar el criterio de experto.

En base a la información disponible, en la Tabla 10, se proponen las condiciones de referencia del biovolumen total del fitoplancton para algunos tipos de los humedales interiores de la CAPV.

Tabla 8 Condiciones de referencia de la métrica “biovolumen total del fitoplancton”. ( $\text{mm}^3/\text{l}$ )

Tipología Red CAPV	Valor de referencia
Lagos cársticos diapíricos monomícticos de aportación mixta (Arreo).	1,7
Lagunas endorreicas temporales salinas (Carralagroño, Carravalseca y Musco).	0,7
Lagunas endorreicas temporales subsalinas (Lacorzana y Navaridas).	1,3
Lagunas diapíricas profundas de aportación mixta permanentes fluctuantes (Olandina)	1,0
Lagunas de montaña media someras epigénicas semipermanentes (Bikuña y Laguna Grande de Maeztu).	0,3
Humedales de llanura aluvial (mediterráneos) (Salburua Arkaute y Salburua-Betoño).	1,1
Balsas de riego (Balsa de El Prao de la Paul)	1,8
Lagunas diapíricas profundas hipogénicas permanentes fluctuantes (Arbieto).	0,7
Lagunas cársticas profundas hipogénicas permanentes no fluctuantes (Lamiogin).	0,8
Lagunas diapíricas someras de aportación mixta semipermanentes fluctuantes (Monreal).	0,4

Tabla 9 Límites entre clases de calidad ecológica para el indicador biovolumen total del fitoplancton (mm<sup>3</sup>/l)

Tipología Red CAPV	MB	B	Mo	D	M
Lagos cársticos diapíricos monomícticos de aportación mixta (Arreo).	<2,4	2,4-3,7	3,8-5,3	5,4-9,6	>9,6
Lagunas endorreicas temporales salinas Carralagroño, Carravalseca y Musco).	<1,1	1,1-1,8	1,9-2,8	2,9-5,1	>5,1
Lagunas endorreicas temporales subsalinas (Lacorzana y Navaridas).	<2,2	2,2-3,7	3,8-4,9	5,0-9,2	>9,2
Lagunas diapíricas profundas de aportación mixta permanentes fluctuantes (Olandina)	<1,6	1,6-2,4	2,5-3,1	3,2-5,9	>5,9
Lagunas de montaña media someras epigénicas semipermanentes (Bikuña y Laguna Grande de Maeztu).	<0,6	0,6-1,0	1,1-1,6	1,7-3,11	>3,1
Humedales de llanura aluvial (mediterráneos) (Salburua Arkaute y Salburua-Betoño).	<2,1	2,1-3,3	3,4-4,4	4,5-8,3	>8,3
Balsas de riego (Balsa de El Prao de la Paul)	<2,5	2,5-4,1	4,2-5,3	5,4-10,0	>10,0
Lagunas diapíricas profundas hipogénicas permanentes fluctuantes (Arbieto).	<1,1	1,1-1,9	2,0-2,8	2,9-5,72	>5,7
Lagunas cársticas profundas hipogénicas permanentes no fluctuantes (Lamiogín).	<1,2	1,2-2,1	2,2-3,1	3,0-6,2	>6,2
Lagunas diapíricas someras de aportación mixta semipermanentes fluctuantes (Monreal).	<0,7	0,7-1,1	1,2-1,6	1,7-3,0	>3,0

Tabla 10 Límites entre clases de calidad ecológica para los valores EQR de la métrica "biovolumen total del fitoplancton"

Tipología Red CAPV	MB	B	Mo	D	M
Lagos cársticos diapíricos monomícticos de aportación mixta (Arreo).	>0,71	0,71-0,46	0,45-0,32	0,31-0,18	<0,18
Lagunas endorreicas temporales salinas Carralagroño, Carravalseca y Musco).	>0,64	0,64-0,38	0,37-0,25	0,24-0,14	<0,14
Lagunas endorreicas temporales subsalinas (Lacorzana y Navaridas).	>0,61	0,61-0,36	0,35-0,27	0,26-0,15	<0,15
Lagunas diapíricas profundas de aportación mixta permanentes fluctuantes (Olandina)	>0,62	0,21-0,41	0,40-0,33	0,32-0,17	<0,17
Lagunas de montaña media someras epigénicas semipermanentes (Bikuña y Laguna Grande de Maeztu).	>0,55	0,55-0,33	0,31-0,22	0,20-0,11	<0,11
Humedales de llanura aluvial (mediterráneos) (Salburua Arkaute y Salburua-Betoño).	>0,56	0,56-0,39	0,38-0,26	0,25-0,13	<0,13
Balsas de riego (Balsa de El Prao de la Paul)	>0,75	0,75-0,43	0,42-0,34	0,33-0,18	<0,18
Lagunas diapíricas profundas hipogénicas permanentes fluctuantes (Arbieto).	>0,60	0,60-0,36	0,35-0,24	0,23-0,12	<0,12
Lagunas cársticas profundas hipogénicas permanentes no fluctuantes (Lamiogín).	>0,65	0,65-0,39	0,38-0,26	0,25-0,13	<0,13
Lagunas diapíricas someras de aportación mixta semipermanentes fluctuantes (Monreal).	>0,57	0,57-0,36	0,35-0,26	0,25-0,13	<0,13



Realizando una comparación con los límites establecidos por CEDEX (2009), y en concreto el único lago-humedal (el lago de Arreo) que se corresponde, según nuestro parecer, con uno de los tipos estatales (tipo 15), consideramos que los límites que separan las diferentes clases establecidos por el CEDEX son demasiado estrictos, especialmente en el límite moderado-bueno. Esto puede condicionar en gran medida la consecución real del cumplimiento del objetivo de tener un estado bueno en las masas de agua del tipo 15.

## **5 CONCLUSIONES**

---

Se proponen condiciones de referencia y límites de entre las clases de calidad para los biovolúmenes fitoplanctónicos de los diferentes tipos de lagos-humedales establecidos en el País Vasco. Estos pueden ser tenidos en cuenta en el ámbito estatal, solo parcialmente, ya que la equiparación de tipos es escasa.

La utilización de bases de datos obtenidas a partir de la bibliografía o de otras fuentes diferentes a las que hayan podido ser estimadas con poblaciones diferentes de la propia masa de agua o de cualquier otra que no guarde cierto grado de cercanía (geográfica y/o ecológica), puede dar lugar a un alto grado de incertidumbre en el resultado que pudiera ser obtenido, pudiéndose llegar a obtener clasificaciones tróficas y estados ecológicos muy dispares.

La utilización de estimaciones de biomasa celular a partir del análisis celular de individuos recogidos en la misma muestra es sin duda la forma más precisa de estimar la biomasa algal de una determinada masa de agua. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que la utilización de valores medios de biovolúmenes, obtenidos a partir de una base de datos construida por estimaciones realizadas dentro de las mismas poblaciones, o de poblaciones próximas, permiten obtener resultados satisfactorios. Adoptar esta medida puede significar un mayor nivel de error pero dentro de un orden asumible, al menos en el marco de la gestión y en el de la estimación del estado ecológico de las masas de agua.

La creación de una base de datos, construida a partir de estimas realizadas sobre la propia masa de agua, con un amplio listado de especies y sus respectivos biovolúmenes, obtenidos a partir de la estandarización de su morfología celular y de su formulación geométrica, junto a una distribución de clase de tamaño de cada una de ellas, podría significar la construcción de una herramienta extraordinariamente útil para la gestión. Dado que no todas las especies que componen el fitoplancton presentan el mismo grado de variabilidad, dicha base de datos debería contener información sobre las especies que mejor se prestan a este nivel de simplificación (en términos probabilísticos) y cuales, por sus propias características, no se recomienda la aplicación de ajuste metodológico.

## 6 BIBLIOGRAFÍA

---

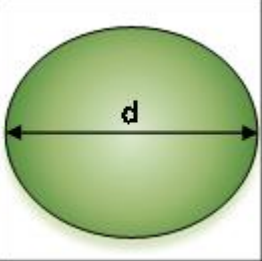
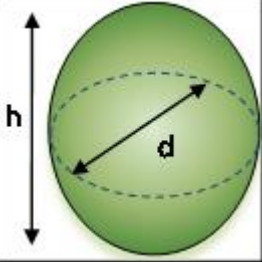
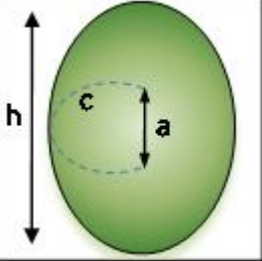
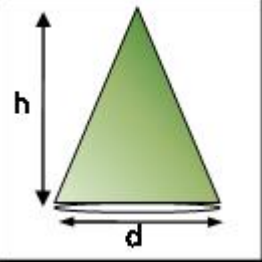
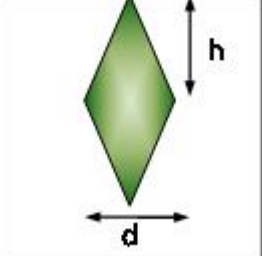
- AENOR (2007). Norma española UNE-EN 15204:2007. Calidad del agua. Guía para el recuento de fitoplancton por microscopía invertida (técnica de Utermöhl).. 44 págs.
- Agencia Vasca del Agua. 2008. Red de seguimiento de la calidad ecológica de los humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco (ciclo hidrológico 2006/07). Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid.
- Agencia Vasca del Agua. 2009. Red de seguimiento de la calidad ecológica de los humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco (ciclo hidrológico 2007/08). Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid.
- Agencia Vasca del Agua. 2010. Red de seguimiento de la calidad ecológica de los humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco (ciclo hidrológico 2008/09). Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid.
- APHA-AWWA-WEF. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Dillon, P. J & Rigler, F. H. 1975. A simple method for predicting the capacity of a lake for development based on lake trophic status. J. Fish Res Board Can 32: 1519-1531.
- CEDEX (2008). Ampliación y actualización de la tipología de lagos v 1.0. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas, Madrid.
- CEDEX (2009a). Selección preliminar de posibles estaciones de referencia en lagos v 1.0. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas, Madrid.
- CEDEX (2010a). Selección de métricas para la evaluación del estado ecológico de las masas de agua de la categoría “Lagos” basadas en el elemento de calidad “Composición, abundancia y biomasa de fitoplancton”, en aplicación de la Directiva Marco del Agua. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas. Madrid.
- CEDEX (2010b). Establecimiento de Condiciones de referencia y valores frontera entre clases de estado ecológico en masas de agua de la categoría lago para los elementos de calidad “composición, abundancia y biomasa de fitoplancton” y “composición, abundancia y biomasa de otro tipo de flora acuática”, en aplicación de la DMA. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas, Madrid.
- CEN/TC230/WG2/TG3. N 83. Water quality – Guidance standard for the routine analysis of phytoplankton abundance and composition using inverted microscopy (Utermöhl technique).
- CIS Working Group 2.3. – REFCOND (2005). Guidance on establishing reference conditions and ecological status class boundaries for inland surface waters. Final version.
- Dillon, P. J & Rigler, F. H. 1975. A simple method for predicting the capacity of a lake for development based on lake trophic status. J. Fish Res Board Can 32: 1519-1531.

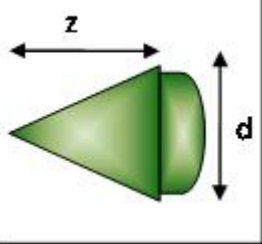
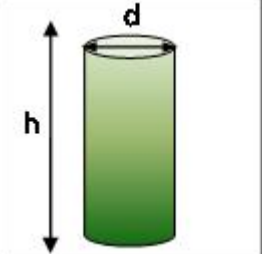
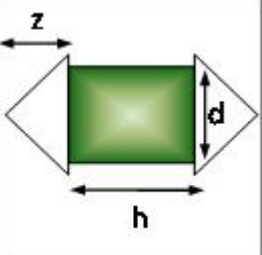
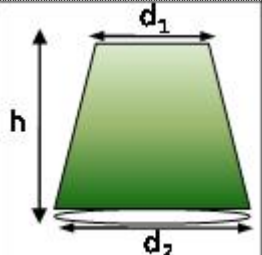
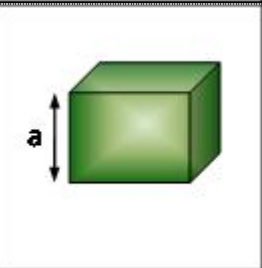
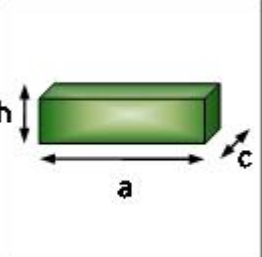
- Draft proposal of “Water quality – Phytoplankton biovolume determination by microscopic measurement of cell dimensions” (CEN TC 230 / WG 2 / TG 3/N116 30/03/2008).
- Draft proposal for “Water Quality – Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters” (CEN TC 230 / WG 2 / TG 3/ N118 15/04/2008).
- EPA (2000). Nutrient Criteria. Technical Guidance Manual. Lakes and Reservoirs. First Edition. Environmental Protection Agency of United States, Washington.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2013. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 11 September 2013.
- Gobierno Vasco. 2004. Red de seguimiento de la calidad ecológica de los humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco. Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid.
- Gobierno Vasco. 2005. Red de seguimiento de la calidad ecológica de los humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco (ciclo hidrológico 2004/05). Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid.
- Gobierno Vasco. 2006. Red de seguimiento de la calidad ecológica de los humedales interiores de la Comunidad Autónoma del País Vasco (ciclo hidrológico 2005/06). Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid.
- Godhe, A., Cusack, C., Pedersen, J., Andersen, P., Anderson, D. M., Bresnan, E., Cembella, A., Dahl, E., Diercks, S., Elbrächter, M., Edler, L., Galluzzi, L., Gescher, C., Gladstone, M., Karlson, B., Kulis, D., LeGresley, M., Lindahl, O., Marin, R., McDermott, G., Medlin, L. K., Naustvoll, L.-J., Penna, A., & Töbe K. (2007). Intercalibration of classical and molecular techniques for identification of *Alexandrium fundyense* (Dinophyceae) and estimation of cell densities. Harmful algae Vol. 6, 56-72.
- Hillebrand H, Durselen CDD, Kirschtel U, Pollinger, T, Zohary T 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. J. Phycol., 35: 403-424.
- Hobro, R. & Willén, E. (1977). Phytoplankton countings: intercalibration results and recommendations for routine work. Int. Rev. Ges. Hydrobiol. 62:805–11.
- Hötzel, G., & Croome, R. (1999). A phytoplankton methods manual for australian freshwaters. Land and Water Resources Research and Development Corporation, 66 pp.
- Hutchinson, G. E. 1967. A treatise on limnology. John Wiley and sons, New York, London, Sidney. 2 vol. 1115 p.
- Jeppesen, E. Jensen, J. P. Sondergaard, M. Lauridsen, T. L. Pedersen, L. J. Jensen, L. 1997. Top-down control in freshwater lakes: on the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. Hydrobiologia 342/343: 151-164.
- Olenina, I., Hajdu, S., Edler, L., Andersson, A., Wasmund, N., Busch, S., Göbel, J., Gromisz, S., Huseby, S., Huttunen, M., Jaanus, A., Kokkonen, P., Ledaine, I. and Niemkiewicz, E. (2006). Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea. HELCOM Balt. Sea Environ. Proc. No. 106, 144pp.

- Reynolds, C. (2006). The Ecology of Phytoplankton. Cambridge University Press, 535 pp.
- Rott E 1981. Some results from phytoplankton counting intercalibrations Schweiz Z. Hydrol., 43: 34-62.
- Smayda, T. J. (1978) From phytoplankton to biomass. In Sournia, A. (ed.), Phytoplankton Manual. Monographs on Oceanographic Methodology 6. UNESCO, Paris, pp. 273–279.
- Sun J and Liu D 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. J. Plankton Res., 25: 1331-1346.
- Tallberg, P., J. Horppila, A. Väisänen & L. Nurminen. 1999. Seasonal succession of phytoplankton and zooplankton along a trophic gradient in a eutrophic lake-implications for food web management. Hydrobiologia. 412: 81-94.
- Utermöhl, H. (1958). Zur Vervollkommnung der quantitative Phytoplankton-Methodik. Mitt.Int.Ver.Limnol., 9: 1-38.
- UNE – EN 14996:2007 – Guía para el aseguramiento de la calidad de las evaluaciones biológicas y ecológicas en el medio ambiente acuático.
- UNE – EN 5667-1:2007 – Parte 1: Guía para el diseño de los programas de muestreo y técnicas de muestreo.
- Verity, P. G., Robertson, C. Y., Tronzo, C. R., Andrews, M. G., Nelson, J. R. & Sieracki, M. E. (1992). Relationships between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton. Limnol. Oceanogr. 37:1434–46.
- Vollenweider, R. A. 1969. Möglichkeiten und grenzen elementarer modelle der stoffbilanz von seen. Archiv für Hydrobiologie 66: 1-36.
- Watson, S., E. Mc Cauley & J. Downing. 1997. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of differing nutrient status. Limnology and Oceanography. 42(3):487-495.
- Wetzel R. G 2001, Limnology: Lake and River Ecosystems. Academic press, New York. 1006 pp.
- WFD-CIS. 2003. Guidance Document No 10 Rivers and Lakes – Typology, Reference Conditions and Classification Systems. Working Group 2.3 REFCOND.
- Vollenweider, R. A. 1969. Möglichkeiten und grenzen elementarer modelle der stoffbilanz von seen. Archiv für Hydrobiologie 66: 1-36.

## 7 ANEXOS

Tabla 11 Algunas formas geométricas básicas y fórmulas para el cálculo del biovolumen de algunos taxones tipo.

Forma geométrica		Formula	Ejemplos
Sphere		$V = \pi/6 \times d^3$ d= diámetro	<i>Eutetramorus</i> <i>Golenkinia</i> <i>Planktosphaeria</i>
Prolate spheroid		$V = \pi/6 \times d^2 \times h$ d= diámetro h= altura	<i>Oocystis</i> <i>Scenedesmus</i>
Ellipsoid		$V = \pi/6 \times a \times c \times h$ a= longitud c= ancho h= altura	<i>Amphora</i> <i>Cymbella</i> <i>Surirella</i>
Cone		$V = \pi/12 \times d^2 \times h$ d= diámetro h= altura del cono	<i>Pyraminomonas</i> <i>Treubaria</i>
Two cone		$V = \pi/6 \times d^2 \times h$ d= diámetro h= altura del cono	<i>Chlorogonium</i> , <i>Monoraphidium</i> <i>Schroderia</i>

Forma geometrica		Formula	Ejemplos
Cone + half sphere		$V = \pi/12 \times d^2 \times (z+d)$  d= diámetro z= altura del cono	<i>Ochromonas</i> <i>Chroomonas</i> <i>Rhodomonas</i>
Cylinder		$V = \pi/4 \times d^2 \times h$  d= diámetro h= altura	<i>Cyclotella</i> <i>Mougeotia</i> <i>Spirulina</i>
Cylinder+2 conos		$V = (\pi/4 \times d^2 \times h) + (\pi/6 \times d^2 \times z)$  d= diámetro h= altura z= altura del cono	<i>Actinastrum</i> <i>Ankistrodesmus</i>
Truncated cone		$V = \pi/12 \times h \times (d_1^2 + d_1 \times d_2 + d_2^2)$  d <sub>1</sub> = diámetro 1 d <sub>2</sub> = diámetro 2 h= altura	<i>Pseudopedinella</i>
Cube		$V = a^3$  a= longitud	<i>Crucigenia</i>
Parallelepiped		$V = a \times b \times c$  a= longitud c= ancho h=altura	<i>Asterionella</i> <i>Diatoma</i> <i>Gyrosigma</i>



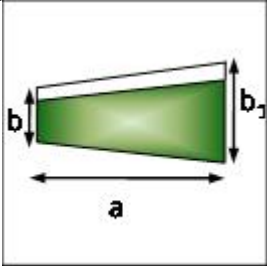
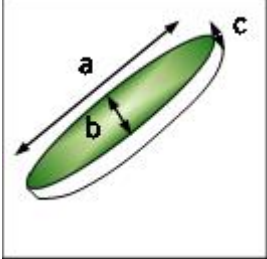
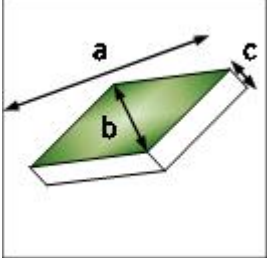
Forma geometrica		Formula	Ejemplos
Truncated pyramid		$V = [(b_1 + b) \times a] / 3$ <p>a= longitud b= ancho b<sub>1</sub>= ancho 1</p>	<i>Gomphonema</i>
Prism on elliptic base		$V = \pi/4 \times a \times b \times c$ <p>a= longitud b= ancho c=fondo</p>	<i>Achnanthes</i> <i>Cocconeis</i> <i>Navicula</i>
Prism on parallelogram base		$V = 1/2 \times a \times b \times c$ <p>a= longitud b= ancho c=fondo</p>	<i>Nitzschia</i> <i>Pleurosigma</i> <i>Pseudonitzschia</i>

Tabla 12 Listado de especies fitoplanctónicas utilizadas en el estudio, incluyendo el número de estimaciones biovolumétricas (N), su valor medio (X) y el coeficiente de variación relativo estimado (CV) para cada una de ellas y en cada una de las bases de datos utilizadas en el análisis comparativo.

CD	TAXON	clase	N <sub>HPV1</sub>	N <sub>HPV2-3</sub>	N <sub>HPVT</sub>	N <sup>o</sup> <sub>TAX</sub>	X <sub>HPV1</sub>	X <sub>HPV2-3</sub>	X <sub>HPVT</sub>	X <sub>BDb</sub>	X <sub>TAX</sub>	CV <sub>HPV1</sub>	CV <sub>HPV2-3</sub>	CV <sub>HPVT</sub>	CV <sub>TAXAGUA</sub>
3	<i>Achnanthes daonensis</i>	1	10		85				358	283				27	
1	<i>Achnanthes minutissima</i> *	1	217	190	407	12	64	61	63	43	244	29	29	29	31
1	<i>Amphora ovalis</i>	1	38	49	87		4766	4761	4763	1969		23	14	19	
2	<i>Ankistrodesmus fusiformis</i>	3	37	0	37		45		45	46		41		41	
3	<i>Ankyra lanceolata</i> *	3	7		38				134					23	
3	<i>Asterionella formosa</i>	1	11		25	25			471	738	540			16	29
3	<i>Aulacoseira granulata</i>	8	3		27				284	312				30	
3	<i>Chlamydomonas ehrenbergii</i>	3	18		21				1067	1542				30	
3	<i>Chlamydomonas lismorensis</i>	3	0		21				80					25	
2	<i>Chlorogonium fusiforme</i> *	3	25	25	25	37	61		61	59	138	39		39	41
3	<i>Chromulina ettlia</i> +	5	5		26				190					16	
3	<i>Chromulina vestita</i>	5	8		44				191	197				10	
1	<i>Chrysochromulina parva</i>	6	98	94	192	14	22	22	22	20	22	29	24	27	30
3	<i>Chrysolykos planctonicus</i>	5	11		23				52					25	
3	<i>Closterium aciculare</i>	7	7		22				3121	1362				30	
2	<i>Cocconeis placentula</i>	1	41	41	41		1198		1198	2177		64		64	
1	<i>Codosiga furcata</i>	4	29	44	73		45	41	43	34		31	30	31	
3	<i>Coelastrum astroideum</i>	3	18		28				66	129				71	
2	<i>Coelastrum microporum</i>	3	22	19	41		54		57	45		46		39	
3	<i>Coelastrum reticulatum</i> *	3	16		34				248	34				9	
3	<i>Cosmarium bioculatum</i>	7	19		20				562	829				38	
3	<i>Cosmarium depressum</i> *	7	14		29				13370	1057				68	
2	<i>Cosmarium laeve</i>	7	29	17	46		1901		1844	2420		28		26	
1	<i>Crucigenia tetrapedia</i>	19	77	93	170	8	121	116	118	87	43	64	63	63	83
1	<i>Cryptomonas erosa</i>	9	270	185	455		1696	1684	1691	4505		48	38	44	
2	<i>Cryptomonas erosa var reflexa</i> *	9	55	12	67		1647		1728	1466		27		28	
1	<i>Cryptomonas marssonii</i>	9	100	63	163	200	545	581	559	590	546	24	17	21	38
1	<i>Cryptomonas ovata</i>	9	81	61	142		1176	1243	1205	2347		20	16	19	
2	<i>Cryptomonas phaseolus</i>	9	30	10	40	18	356		365	456	516	21		19	14
1	<i>Cryptomonas reflexa</i>	9	96	163	259		1249	1303	1283	1700		18	14	16	
1	<i>Cryptomonas tenuis</i>	9	76	48	124		237	211	227			25	24	25	
1	<i>Cyclotella distinguenda</i>	8	90	81	171		1241	1638	1429	235		54	33	45	

CD	TAXON	clase	N <sub>HPV1</sub>	N <sub>HPV2-3</sub>	N <sub>HPVT</sub>	N <sup>o</sup> <sub>TAX</sub>	X <sub>HPV1</sub>	X <sub>HPV2-3</sub>	X <sub>HPVT</sub>	X <sub>BDb</sub>	X <sub>TAX</sub>	CV <sub>HPV1</sub>	CV <sub>HPV2-3</sub>	CV <sub>HPVT</sub>	CV <sub>TAXAGUA</sub>
1	<i>Cyclotella radiosa</i>	8	21	53	74		466	636	588	247		46	31	37	
1	<i>Cymbella amphicephala</i> *	1	20	34	54		449	464	459	263		24	18	20	
1	<i>Diatoma mesodon</i>	14	26	84	110		297	340	330	332		23	20	21	
2	<i>Diatoma tenuis</i>	14	22	1	23		800		804	1486		53		52	
3	<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> *	19	12		27	141			70	72	75			38	58
3	<i>Dinobryon bavaricum</i>	5	13		56				276	1068				23	
1	<i>Dinobryon divergens</i>	5	79	63	142	32	170	184	176	166	155	31	26	28	28
3	<i>Dinobryon petiolatum</i> *	5	8		20				166	135				36	
2	<i>Dinobryon sertularia</i>	5	25	12	37		217		225	189		16		17	
2	<i>Dunaliella salina</i>	3	28	0	28		91		91	61		32		32	
2	<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	15	64	0	64	90	44		44	28	80	28		28	75
2	<i>Euglena acus</i> *	13	34	19	72		4287		4647	4582		83		74	
3	<i>Fragilaria capitata</i>	14	11		69				2278					19	
1	<i>Fragilaria capucina</i>	14	155	67	222		173	160	169	187		47	38	45	
1	<i>Fragilaria construens</i>	14	27	45	72		103	116	111	203		40	33	36	
3	<i>Fragilaria crotonensis</i>	14	5		48	113			193	395	467			16	33
1	<i>Fragilaria nanana</i>	14	72	129	201		122	115	118	106		31	33	32	
1	<i>Fragilaria tenera</i>	14	99	72	171	8	209	234	220	250	241	45	50	48	19
2	<i>Fragilaria ulna</i> *	14	57	0	57	39	2125		2125	946	2562	67		67	36
3	<i>Francia amphitricha</i>	19	11		21				121	598				13	
1	<i>Gomphonema angustum</i> *	1	44	98	142		803	550	628	160		71	90	85	
2	<i>Gomphonema parvulum</i>	1	31	14	45		527		544	152		25		24	
1	<i>Gymnodinium varians</i>	12	66	51	117		460	453	457	783		36	26	32	
1	<i>Gymnodinium wawriake</i>	12	88	105	193		2356	2491	2429	12007		24	20	22	
3	<i>Gyrosigma acuminatum</i>	1	4		20				9253	4631				14	
1	<i>Kirchneriella lunaris</i>	3	46	47	93		18	19	18	64		47	50	48	
3	<i>Kirchneriella obesa</i>	3	7		26	10			55	122	229			38	64
2	<i>Mallomonas akrokomos</i>	18	36	0	36		307		307	482		31		31	
3	<i>Merismopedia punctata</i>	10	18		43				9	9				38	
3	<i>Micractinium pusillum</i>	19	13		27				58	29				39	
1	<i>Monoraphidium arcuatum</i>	3	22	24	46	23	27	34	31	12	123	50	36	43	58
1	<i>Monoraphidium circinale</i>	3	33	26	59	6	32	25	29	19	14	51	36	48	35
1	<i>Monoraphidium contortum</i>	3	130	109	239	80	16	17	16	23	20	49	37	44	63
1	<i>Monoraphidium komarkovae</i>	3	86	75	161	170	24	28	26	11	30	42	34	38	60
1	<i>Monoraphidium minutum</i>	3	41	42	83		27	19	23	33		54	56	58	
1	<i>Myochloris collarhynchus</i>	16	35	21	56		93	98	95	79		23	18	21	

CD	TAXON	clase	N <sub>HPV1</sub>	N <sub>HPV2-3</sub>	N <sub>HPVT</sub>	N <sup>o</sup> <sub>TAX</sub>	X <sub>HPV1</sub>	X <sub>HPV2-3</sub>	X <sub>HPVT</sub>	X <sub>BDb</sub>	X <sub>TAX</sub>	CV <sub>HPV1</sub>	CV <sub>HPV2-3</sub>	CV <sub>HPVT</sub>	CV <sub>TAXAGUA</sub>
1	<i>Navicula cocconeiformis</i> *	1	20	99	119		803	832	827	113		31	24	25	
2	<i>Navicula cryptocephala</i>	1	56	0	56		459		459	297		35		35	
2	<i>Navicula phyllepta</i>	1	30	16	46		430		448	1334		42		41	
3	<i>Navicula praeterita</i>	1	1		38				460					10	
1	<i>Navicula pupula</i> *	1	41	56	97		823	851	839	705		64	67	66	
2	<i>Navicula radiosa</i>	1	44	0	44		2835		2835	1118		29		29	
3	<i>Navicula rhynchocephala</i>	1	14		64				2735	1372				14	
3	<i>Navicula rostellata</i> *	1	1		44				1109					10	
2	<i>Navicula tripunctata</i>	1	20	0	20		2303		2303	829		33		33	
2	<i>Navicula trivialis</i>	1	34	0	34		2039		2039	707		20		20	
2	<i>Navicula veneta</i>	1	77	0	77		378		378	200		31		31	
1	<i>Nitzschia acicularis</i>	1	125	119	244		140	146	143	177		36	27	32	
2	<i>Nitzschia constricta</i>	1	25	3	28		982		920	246		44		48	
1	<i>Nitzschia palea</i>	1	49	92	141		167	168	167	388		55	54	54	
3	<i>Ochromonas sphaerella</i> +	5	14		58				30	34				28	
3	<i>Oocystis bispora</i> +	19	10		21				21	5				40	
1	<i>Oocystis lacustris</i>	19	92	85	177	125	93	87	90	175	284	48	41	45	50
3	<i>Oocystis nephrocystioides</i> *	19	11		34				293	237				34	
2	<i>Oocystis parva</i>	19	32	0	32	12	33		33	128	147	55		55	52
3	<i>Oscillatoria limnetica</i> *	10	11		22				13	7				32	
3	<i>Oscillatoria subtilissima</i> *	10	0		19				65					49	
2	<i>Pandorina morum</i>	3	21	4	25	134	335		336	205	547	40		36	70
2	<i>Pediastrum boryanum</i> *	3	26	9	35	236	350		338	312	724	80		78	61
3	<i>Pediastrum duplex</i>	3	12		27	42			301	390	1032			52	61
3	<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>Echinulatum</i> *	3	9		25				297	644				24	
3	<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>simplex</i>	3	10		22	9			348	701	515			28	35
3	<i>Pediastrum tetras</i> *	3	18		31	22			146	157	374			34	88
1	<i>Pedinella hexacostata</i>	11	26	21	47		179	128	156	106		45	21	43	
2	<i>Peridiniopsis elpatiewskyi</i>	12	23	18	41		8079		8189	8156		22		24	
1	<i>Peridinium cinctum</i>	12	66	68	134		41494	38866	40160	22527		19	12	17	
2	<i>Peridinium umbonatum</i> var. <i>umbonatum</i>	12	52	0	52		2081		2081	4537		36		36	
2	<i>Peridinium willei</i>	12	21	11	32	16	30331		30206	22328	66328	12		11	36
3	<i>Phacus curvicauda</i>	13	18		25				6363					40	
1	<i>Plagioselmis nannoplanctica</i>	9	79	163	242	236	26	25	25	69	115	27	27	27	40

CD	TAXON	clase	N <sub>HPV1</sub>	N <sub>HPV2-3</sub>	N <sub>HPVT</sub>	N <sup>o</sup> <sub>TAX</sub>	X <sub>HPV1</sub>	X <sub>HPV2-3</sub>	X <sub>HPVT</sub>	X <sub>BDb</sub>	X <sub>TAX</sub>	CV <sub>HPV1</sub>	CV <sub>HPV2-3</sub>	CV <sub>HPVT</sub>	CV <sub>TAXAGUA</sub>
2	<i>Planctonema lauterbornii</i> *	19	22	0	22	10	40		40	35	46	29		29	
3	<i>Pseudanabaena articulata</i>	10	2		25	10			14	28	4			33	32
3	<i>Pseudanabaena galeata</i>	10	6		32				25	12				63	
2	<i>Pseudopedinella ambigua</i>	5	33	0	33		149		149	339		23		23	
2	<i>Pseudopedinella pyriformis</i>	11	57	0	57		86		86	62		46		46	
1	<i>Rhodomonas lacustris</i>	9	207	50	257		47	56	48	65		38	22	36	
3	<i>Scenedesmus acuminatus</i> var. <i>Acuminatus</i> +	3	4		35				57					45	
1	<i>Scenedesmus acunae</i> +	3	24	105	129		135	141	140	71		13	16	15	
2	<i>Scenedesmus caliptratus</i> +	3	49	0	49		44		44	75		39		39	
2	<i>Scenedesmus dimorphus</i> *	3	20	0	20		45		45	264		47		47	
2	<i>Scenedesmus disciformis</i> *	3	21	2	23		44		45	42		54		51	
2	<i>Scenedesmus ecornis</i>	3	64	3	67		24		24	12		63		62	
1	<i>Scenedesmus intermedius</i> *	3	23	23	46		18	19	19	38		45	46	45	
2	<i>Scenedesmus linearis</i> *	3	21	19	40	204	73		82	95	116	31		27	62
3	<i>Scenedesmus obtusus</i>	3	13		23				54	140				34	
1	<i>Scenedesmus opoliensis</i> *	3	35	88	123		90	83	85	177		52	37	42	
1	<i>Scenedesmus quadricauda</i> *	3	98	48	146	283	74	92	80	90	222	41	35	40	47
2	<i>Scenedesmus semipulcher</i>	3	20	4	24		39		42			38		39	
2	<i>Scenedesmus sempervirens</i>	3	41	1	42		18		19			54		59	
2	<i>Scourfieldia complanata</i>	17	55	2	57		46		46	85		27		26	
3	<i>Scourfieldia cordiformis</i>	17	8		39				31	34				8	
1	<i>Spermatozopsis exultans</i>	3	37	24	61		26	29	27	42		22	18	21	
2	<i>Sphaerocystis planctonica</i>	3	45	0	45		79		79	113		48		48	
1	<i>Tetraedron caudatum</i>	2	36	27	63		119	124	121	188		32	22	28	
1	<i>Tetraedron minimum</i>	3	131	94	225		125	115	121	123		48	55	51	
3	<i>Tetraedron trigonum</i>	3	14		25				118	250				42	
2	<i>Tetraselmis cordiformis</i>	2	22	0	22	13	1910		1910	1183	1187	21		21	41
2	<i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i>	3	27	0	27		14		14	11		83		83	
3	<i>Tetrastrum triacanthum</i>	3	6		28				7	34				17	
2	<i>Tetrastrum triangulare</i>	3	44	5	49		10		9	23		122		126	
2	<i>Trachelomonas hispida</i>	13	25	4	29		3638		3751	3632		34		34	
2	<i>Trachelomonas volvocina</i>	13	42	0	42		1165		1165	905		49		49	

## Notas de la Tabla 12

CD: Taxones que aparecen  $N > 20$  en BD; (1) taxones que tienen medidas con código 1  $> 20$  y código 2-3  $> 20$ , (2) taxones que tienen medidas con código 1  $> 20$  y código 2-3  $< 20$ , (3) taxones que tienen medidas con código 1  $< 20$

TAXÓN: Taxones que aparecen dentro de la base de datos a nivel de especie, con un número de medidas de biovolumen  $> 20$ , incluyendo información sobre su estatus taxonómico actual; (\*) taxón sinonimizado, (+) taxón cuya posición o nominación es incierta

Clase: Clase taxonómica a la que pertenece cada taxón (ver tabla adjunta)

$N_{HPV1}$ : número de medidas de biovolumen que incluyen código 1 dentro de DBHPV

$N_{HPV2-3}$ : número de medidas de biovolumen que incluyen código 2 ó 3 dentro de DBHPV

$N_{HPVT}$ : número total de muestras de DBHPV

$N_{TAX}$ : número total de muestras de DBTAXAGUA

$X_{HPV1}$ : media aritmética del biovolumen estimado con código 1 para las muestras de DBHPV

$X_{HPV2-3}$ : media aritmética del biovolumen estimado con código 2 ó 3 para las muestras de DBHPV

$X_{HPVT}$ : media aritmética del biovolumen estimado para las muestras de DBHPV

$X_{BDb}$ : media aritmética del biovolumen estimado para BDb

$X_{TAX}$ : media aritmética del biovolumen estimado en DBTAXAGUA

$CV_{HPV1}$ : coeficiente de variación porcentual del biovolumen estimado para las muestras de DBHPV1

$CV_{HPV2-3}$ : coeficiente de variación porcentual del biovolumen estimado para las muestras de DBHPV2-3

$CV_{HPVT}$ : coeficiente de variación porcentual del biovolumen estimado para las muestras de DBHPVT

$CV_{TAXAGUA}$ : coeficiente de variación porcentual del biovolumen estimado para las muestras de DBTAXAGUA



Tabla 13 Valores obtenidos en el análisis comparativo de las diferencias relativas de las medias biovolumétricas (%MD) de las unidades algales de cada una de las especies fitoplanctónicas utilizadas en el estudio.

TAXON	%XHPV 2-3&1	%XHPV T&1	%XHPV T&2-3	%XHPV1& BDb	%XHPV2-3& BDb	%XHPVT& BDb	%XHPV1&TAX	%XHPV2-3&TAX	%XHPVT&TAX	%X BDb &TAX
<i>Achnanthes daonensis</i>						21				
<i>Achnanthes minutissima</i> *	5	2	3	33	30	32	279	298	287	82
<i>Amphora ovalis</i>	0	0	0	59	59	59				
<i>Ankistrodesmus fusiformis</i>				2		2				
<i>Ankistrodesmus lanceolatus</i> *						100				
<i>Asterionella formosa</i>						57			15	36
<i>Aulacoseira granulata</i>						10				
<i>Chlamydomonas ehrenbergii</i>						44				
<i>Chlamydomonas lismorensis</i>						100				
<i>Chlorogonium fusiforme</i> *				2		2	128		128	57
<i>Chromulina ettlia</i> +						100				
<i>Chromulina vestita</i>						3				
<i>Chrysochromulina parva</i>	0	0	0	8	8	8	1	1	1	9
<i>Chrysolykos planctonicus</i>						100				
<i>Closterium aciculare</i>						56				
<i>Cocconeis placentula</i>				82		82				
<i>Codosiga furcata</i>	8	5	4	25	18	21				
<i>Coelastrum astroideum</i>						96				
<i>Coelastrum microporum</i>				18		22				
<i>Coelastrum reticulatum</i> *						86				
<i>Cosmarium bioculatum</i>						47				
<i>Cosmarium depressum</i> *						92				
<i>Cosmarium laeve</i>		3		27		31				
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	5	3	2	28	25	26	64	63	63	101
<i>Cryptomonas erosa</i>	1	0	0	166	168	166				
<i>Cryptomonas erosa var reflexa</i> *		5		11		15				
<i>Cryptomonas marssonii</i>	7	3	4	8	1	6	0	6	2	8
<i>Cryptomonas ovata</i>	6	2	3	100	89	95				
<i>Cryptomonas phaseolus</i>		3		28		25	45		41	12
<i>Cryptomonas reflexa</i>	4	3	2	36	30	33				
<i>Cryptomonas tenuis</i>	11	4	8		100	100				
<i>Cyclotella distinguenda</i>	32	15	13	81	86	84				
<i>Cyclotella radiosa</i>	36	26	8	47	61	58				

TAXON	%X <sub>HPV</sub> 2-3&1	%X <sub>HPV</sub> T&1	%X <sub>HPV</sub> T&2-3	%X <sub>HPV1&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPV2-3&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPVT&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPV1&amp;TAX</sub>	%X <sub>HPV2-3&amp;TAX</sub>	%X <sub>HPVT&amp;TAX</sub>	%X <sub>BDb &amp;TAX</sub>
<i>Cymbella amphicephala</i> *	3	2	1	42	43	43				
<i>Diatoma mesodon</i>	14	11	3	12	2	1				
<i>Diatoma tenuis</i>				86		85				
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> *						3			8	4
<i>Dinobryon bavaricum</i>						287				
<i>Dinobryon divergens</i>	9	4	4	2	10	6	9	16	12	8
<i>Dinobryon petiolatum</i> *						19				
<i>Dinobryon sertularia</i>		4		13		16				
<i>Dunaliella salina</i>				33		33				
<i>Elakatothrix gelatinosa</i>				35		35	84		84	65
<i>Euglena acus</i> *		8		7		1				
<i>Fragilaria capitata</i>						100				
<i>Fragilaria capucina</i>	8	2	6	8	17	11				
<i>Fragilaria construens</i>	12	8	4	97	76	83				
<i>Fragilaria crotonensis</i>						105			142	15
<i>Fragilaria nanana</i>	6	4	2	13	8	10				
<i>Fragilaria tenera</i>	12	5	6	19	7	14	15	3	10	4
<i>Fragilaria ulna</i> *				55		55	21		21	63
<i>Franceia amphitricha</i>						393				
<i>Gomphonema angustum</i> *	32	22	14	80	71	75				
<i>Gomphonema parvulum</i>		3		71		72				
<i>Gymnodinium varians</i>	2	1	1	70	73	71				
<i>Gymnodinium wawriksae</i>	6	3	2	410	382	394				
<i>Gyrosigma acuminatum</i>						50				
<i>Kirchneriella lunaris</i>	8	4	4	264	238	250				
<i>Kirchneriella obesa</i>						120			313	47
<i>Mallomonas akrokomos</i>				57		57				
<i>Merismopedia punctata</i>						5				
<i>Micractinium pusillum</i>						50				
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	28	15	10	56	66	62	358	258	300	91
<i>Monoraphidium circinale</i>	20	9	14	40	26	35	55	44	51	33
<i>Monoraphidium contortum</i>	6	3	3	43	35	39	26	19	23	13
<i>Monoraphidium komarkovae</i>	17	8	8	54	61	58	26	8	17	64
<i>Monoraphidium minutum</i>	30	15	21	21	73	42				
<i>Myochloris collarhynchus</i>	5	2	3	15	20	17				
<i>Navicula cocconeiformis</i> *	4	3	1	86	86	86				

TAXON	%X <sub>HPV</sub> 2-3&1	%X <sub>HPV</sub> T&1	%X <sub>HPV</sub> T&2-3	%X <sub>HPV1&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPV2-3&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPVT&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPV1&amp;TAX</sub>	%X <sub>HPV2-3&amp;TAX</sub>	%X <sub>HPVT&amp;TAX</sub>	%X <sub>BDb &amp;TAX</sub>
<i>Navicula cryptocephala</i>				35		35				
<i>Navicula phyllepta</i>		4		211		198				
<i>Navicula praeterita</i>						100				
<i>Navicula pupula</i> *	3	2	1	14	17	16				
<i>Navicula radiosa</i>				61		61				
<i>Navicula rhynchocephala</i>						50				
<i>Navicula rostellata</i> *						100				
<i>Navicula tripunctata</i>				64		64				
<i>Navicula trivialis</i>				65		65				
<i>Navicula veneta</i>				47		47				
<i>Nitzschia acicularis</i>	4	2	2	26	21	24				
<i>Nitzschia constricta</i>				75		73				
<i>Nitzschia palea</i>	1	0	0	132	131	132				
<i>Ochromonas sphaerella</i> +						13				
<i>Oocystis bisporea</i> +						74				
<i>Oocystis lacustris</i>	7	3	4	87	101	94	204	227	214	38
<i>Oocystis nephrocystioides</i> *						19				
<i>Oocystis parva</i>				285		285	341		341	13
<i>Oscillatoria limnetica</i> *						45				
<i>Oscillatoria subtilissima</i> *						100				
<i>Pandorina morum</i>				39		39	63		63	63
<i>Pediastrum boryanum</i> *				11		8	107		114	57
<i>Pediastrum duplex</i>						30			243	62
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>Echinulatum</i> *						117				
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>simplex</i>						101			48	36
<i>Pediastrum tetras</i> *						8			157	58
<i>Pedinella hexacostata</i>	28	13	22	41	17	32				
<i>Peridiniopsis elpatiewskyi</i>		1		1		0				
<i>Peridinium cinctum</i>	6	3	3	46	42	44				
<i>Peridinium umbonatum</i> var. <i>umbonatum</i>				118		118				
<i>Peridinium willei</i>		0		26		26	119		120	66
<i>Phacus curvicauda</i>						100				
<i>Plagioselmis nannoplantica</i>	4	2	1	168	178	175	349	366	360	40
<i>Planctonema lauterbornii</i> *				12		12	16		16	24
<i>Pseudanabaena articulata</i>						93			74	648
<i>Pseudanabaena galeata</i>						51				

TAXON	%X <sub>HPV</sub> 2-3&1	%X <sub>HPV</sub> T&1	%X <sub>HPV</sub> T&2-3	%X <sub>HPV1&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPV2-3&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPVT&amp;</sub> BDb	%X <sub>HPV1&amp;TAX</sub>	%X <sub>HPV2-3&amp;TAX</sub>	%X <sub>HPVT&amp;TAX</sub>	%X <sub>BDb &amp;TAX</sub>
<i>Pseudopedinella ambigua</i>				127		127				
<i>Pseudopedinella pyriformis</i>				28		28				
<i>Rhodomonas lacustris</i>	20	4	14	41	17	35				
<i>Scenedesmus acuminatus</i> var. <i>Acuminatus</i> +						100				
<i>Scenedesmus acunae</i> +	5	4	1	47	50	49				
<i>Scenedesmus caliptratus</i> +				70		70				
<i>Scenedesmus dimorphus</i> *				486		486				
<i>Scenedesmus disciformis</i> *				4		6				
<i>Scenedesmus ecoris</i>				50		49				
<i>Scenedesmus intermedius</i> *	2	1	1	108	104	106				
<i>Scenedesmus linearis</i> *		12		30		16	58		41	18
<i>Scenedesmus obtusus</i>						160				
<i>Scenedesmus opoliensis</i> *	7	5	2	97	112	108				
<i>Scenedesmus quadricauda</i> *	24	8	13	21	2	12	199	142	178	60
<i>Scenedesmus semipulcher</i>						100				
<i>Scenedesmus sempervirens</i>						100				
<i>Scourfieldia complanata</i>				86		85				
<i>Scourfieldia cordiformis</i>						10				
<i>Spermatozopsis exultans</i>	11	4	6	62	46	55				
<i>Sphaerocystis planctonica</i>				43		43				
<i>Tetraedron caudatum</i>	5	2	3	58	51	55				
<i>Tetraedron minimum</i>	8	3	5	1	7	2				
<i>Tetraedron trigonum</i>						112				
<i>Tetraselmis cordiformis</i>				38		38	38		38	0
<i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i>				22		22				
<i>Tetrastrum triacanthum</i>						373				
<i>Tetrastrum triangulare</i>				127		143				
<i>Trachelomonas hispida</i>				0		3				
<i>Trachelomonas volvocina</i>				22		22				

### Notas de la Tabla 13

**TAXÓN:** Taxones que aparecen dentro de la base de datos a nivel de especie, con un número de medidas de biovolumen > 20, incluyendo información sobre su estatus taxonómico actual; (\*) taxón sinonimizado, (+) taxón cuya posición o nominación es incierta

$\%X_{HPV\ 2-3\&1}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPV2-3 en relación con las de DBHPV1

$\%X_{HPV\ T\&1}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPVT en relación con las de DBHPV1

$\%X_{HPV\ T\&2-3}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPVT en relación con las de DBHPV2-3

$\%X_{HPV1\&\ BDb}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPV1 en relación con las de BDb

$\%X_{HPV2-3\&\ BDb}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPV2-3 en relación con las de BDb

$\%X_{HPVT\&\ BDb}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPVT en relación con las de BDb

$\%X_{HPV1\&TAX}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPV1 en relación con las de DBTAXAGUA

$\%X_{HPV2-3\&TAX}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPV2-3 en relación con las de DBTAXAGUA

$\%X_{HPVT\&TAX}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de DBHPVT en relación con las de DBTAXAGUA

$\%X_{BDb\ \&TAX}$ : Diferencia relativa de las medias biovolumétricas estimadas para las muestras de BDb en relación con las de DBTAXAGUA