

**Resumen**

Para la implementación de la Directiva Marco del Agua (DMA, Directiva 2000/60/CE) es necesario establecer un protocolo estandarizado de muestreo y análisis que sirve para la evaluación de la calidad biológica mediante la fauna bentónica. En este trabajo se ha llevado a cabo un estudio comparativo de diversos protocolos de macroinvertebrados que se utilizan en España y en Europa (AQEM, EPA y Guadalmed). Valorando los tres protocolos con una lista de 12 criterios, el protocolo Guadalmed se adecua mejor a la mayoría de ellos, por lo que aparece como una herramienta eficaz en la determinación del estado ecológico.

**Palabras clave:**

Directiva Marco del Agua, ríos, protocolos de muestreo, bioindicador, macroinvertebrados, AQEM, Guadalmed, EPA.

**Abstract**

*Comparative of three sampling protocols for water quality assessment using macroinvertebrates*

The implementation of the Water Framework Directive (WFD, Directive 2000/60/CE) requires the establishment of standardized sampling protocols for the assessment of benthic fauna. In this paper, a comparative study of several sampling protocols that are used currently in Spain and Europe (AQEM, EPA and Guadalmed) has been carried out. Evaluating the three protocols with a list of 12 criteria, Guadalmed fits better to the most of them. Therefore it appears as an efficient tool in the determination of Ecological Status.

**Keywords:**

Water Framework Directive, rivers, sampling protocols, bioindicator, macroinvertebrates, AQEM, Guadalmed, EPA.

# Comparación de tres protocolos de muestreo de macroinvertebrados para determinar la calidad del agua

Por: **Laura Puértolas i Domènech**, becaria de investigación; **Maria Rieradevall i Sant**, profesora titular de Ecología; **Narcís Prat i Fornells**, catedrático de Ecología

Universidad de Barcelona

Departamento de Ecología

Avda. Diagonal, 645

08028 Barcelona

Tel.: 934 037 147

E-mail: puertolas@ub.edu - mrieradevall@ub.edu

**1. Introducción**

Los métodos de valoración del estado de conservación de los sistemas naturales se han convertido en un elemento fundamental de apoyo en los mecanismos de toma de decisiones de la gestión del medio ambiente. Por ello, para implementar las disposiciones a las cuales hace referencia la Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60/CE, en adelante DMA), es fundamental el conocimiento de su estado ecológico (Artículo 8, apartado 1).

Uno de los elementos de calidad a evaluar requeridos por la DMA son los invertebrados bentónicos. Estos organismos han sido muy utilizados para evaluar el estado de los ecosistemas fluviales debido a las ventajas que presentan (Rosenberg y Resh, 1993; Bonada *et al.*, 2006), lo que ha motivado la proliferación de métodos basados en el estudio de los macroinvertebrados desde diversas aproximaciones. La decisión relativa a la elección de un protocolo de muestreo puede influir

enormemente en las conclusiones y las consiguientes decisiones de gestión (Carter y Resh, 2001). Varios autores han estudiado el efecto de la técnica de muestreo y las métricas utilizadas para evaluar la calidad del agua, encontrando diferencias entre ellas (Barton y Metcalfe-Smith, 1992; Kerans *et al.*, 1992). Debido a la elevada variabilidad existente entre las técnicas de muestreo (Carter y Resh, 2001), los métodos pueden tener sesgo, y por tanto las comparaciones entre índices bióticos de distinta procedencia pueden ser difíciles (Erman, 1981; Kerans *et al.*, 1992; Diamond *et al.*, 1996).

En España se han usado diferentes métodos, aunque el más difundido es la evaluación mediante el índice IBMWP (conocido hasta hace poco como BMWP) (Alba-Tercedor *et al.*, 2002) y cuyo protocolo (protocolo Guadalmed) se encuentra descrito en (Jáimez *et al.*, 2002). Este método no precisa de una evaluación cuantitativa de la fauna presente.

El objetivo de este estudio es llevar a cabo un análisis comparativo de tres protocolos de muestreo utilizados en Europa y España, y aportar datos que puedan ser utilizados como criterio de selección de método. Se compara el método Guadalmed con otros dos protocolos ampliamente utilizados (AQEM en Europa y uno de la americana Environmental Protection Agency o EPA) que utilizan datos cuantitativos para conocer mejor las posibles ventajas y desventajas de cada uno de ellos.

## 2. Metodología

Las características de los protocolos utilizados en este trabajo se indican en la **Tabla 1**. El protocolo AQEM es de origen europeo (AQEM Consortium, 2002; Hering *et al.*, 2004) y es un método cuantitativo en el que el muestreo se realiza mediante una red cuadrangular (red Surber). Se toman 20 de estas muestras distribuidas de forma proporcional según la abundancia de los hábitats dominantes presentes (que supongan más del 5% del área de muestreo). Por otra parte, el método propuesto por la EPA ha sido desarrollado en Estados Unidos (Barbour *et al.*, 1999) y se puede considerar cuantitativo (los datos se pueden expresar en individuos/m<sup>2</sup>) y multihábitat. Finalmente, el método Guadalmed (Jáimez-Cuéllar *et al.*, 2002), diseñado en la España mediterránea, realiza un muestreo multihábitat de tipo integrado, buscando capturar la máxima biodiversidad. Respecto a la obtención de muestras, en los protocolos EPA y Guadalmed se usa una red circular o en forma de D. En nuestro caso, aunque los protocolos originales usan redes de malla de 300 o 500  $\mu$ m, se han usado en todos los casos redes de 500  $\mu$ m para que los datos sean comparables.

La identificación taxonómica de los macroinvertebrados bentónicos se ha llevado a cabo según la guía de Tachet *et al.* (2000) a nivel taxonómico de familia. En el laboratorio

Tabla 1			
Categoría de evaluación	AQEM	EPA	Guadalmed
Sustratos	Mapa detallado de los microhábitats	Mapa del lugar y identificación del microhábitat de cada punto donde se recogen submuestras	Identificación de 5 microhábitats principales
Flujo		4 posibles regimenes de circulación del agua por cada punto	
Zona de muestreo	Longitud igual a 20 veces la anchura del río (50-300 m)	100 m	Longitud igual a 20 veces la anchura del río (50-300 m)
Dispositivo de muestreo	Red Surber	Red D-frame	Red D-frame
Uso del dispositivo	Localizado (kick en 25 x 25 cm)	Localizado (kick en 1 pie <sup>2</sup> = 30 cm <sup>2</sup> )	Continuo (kick + agitación red)
Medida de poro de la red	500 $\mu$ m	500 $\mu$ m	500 $\mu$ m
Procedimiento	Esquivos + 20 réplicas repartidas según abundancia de cada microhábitat ( $\geq 5\%$ ) con un kick en cada una	Esquivos + Muestreo en zig-zag de 11 submuestras, con un esfuerzo de 30 segundos en cada una	Esquivos + Muestreo de los microhábitats hasta que no aparecen organismos nuevos ( $> 1$ pasada)
Recolección de fracciones diferentes en el campo	Cedazo 1 mm y separación fracción fina y fracción gruesa.	Un mismo bote	Un mismo bote
Recuento de individuos	500 ind. ( $\pm 20\%$ )	200 ind.	200 ind.
Nivel taxonómico mínimo requerido	Familia	El más detallado posible (familia)	Familia
Expresión de los resultados	N <sup>o</sup> Ind./m <sup>2</sup>	N <sup>o</sup> ind./m <sup>2</sup>	N <sup>o</sup> ind fam./Total o Rangos de abundancia

Tabla 1. Rasgos definitorios de los protocolos AQEM, EPA y Guadalmed (ind.=individuos).

se han contado todos los individuos (si era necesario se hacían submuestras), así como un recuento en paralelo del tiempo necesario para seguir todos los pasos del protocolo. A partir de esta información se han calculado diversas métricas e índices, en la mayoría de los casos con

el software del proyecto AQEM. En primer lugar, el número de familias de macroinvertebrados hallados en la muestra, o sea la riqueza (S). Los índices IBMWP (Alba-Tercedor *et al.*, 2002) y BMWPC (Benito y Puig, 1999) corresponden a adaptaciones realizadas para la península

Tabla 2

Taxones encontrados	AQEM		EPA		Guadalmed
	(ind/m <sup>2</sup> )	(%)	(ind/m <sup>2</sup> )	(%)	(%)
Beetidae	3375	50,1	1.711	37,5	50,8
Ceratopogonidae	45	0,7	166	3,6	0,4
Chironomidae	1.245	18,5	1.378	30,2	14,8
Dryopidae	30	0,4	24	0,5	
Dytiscidae					0,4
Elmidae	660	9,8	95	2,1	11,8
Empididae	90	1,3	48	1,1	1,2
Erebodellidae	30	0,4			0,4
Glossiphoniidae	15	0,2			
Gyrinidae					0,4
Haliplidae			24	0,5	
Hydrachnidae	45	0,7	24	0,5	1,6
Hydrobiidae					0,4
Hydrophilidae					0,8
Hygrobiidae			24	0,5	
Leuctridae					1,2
Lumbricidae			71	1,6	
Lumbriculidae	285	4,2	333	7,3	5,3
Lymnaeidae	45	0,7	71	1,6	0,4
Naididae	585	8,7	119	2,6	
Nemouridae	15	0,2	24	0,5	0,4
Netidae			48	1,1	
Odontoceridae					0,4
Perlidae			24	0,5	0,4
Perlodidae					0,4
Polycentropodidae	30	0,4			
Psychodidae	15	0,2	24	0,5	
Rhyacophilidae	105	1,6			0,4
Scirtidae			24	0,5	0,4
Sericostomatidae	15	0,2	166	3,6	0,8
Sialidae	15	0,2	24	0,5	0,4
Simuliidae	90	1,3	119	2,6	2,4
Stratiomyiidae			24	0,5	
Tubificidae					4,1
<b>TOTAL</b>	<b>6.735</b>	<b>100</b>	<b>4.565</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Tabla 2. Resultados totales de los porcentajes relativos [para los tres protocolos] y número de individuos/m<sup>2</sup> [para los protocolos AQEM y EPA] para cada uno de los taxones encontrados. En la parte inferior se indica el total para cada muestra.

ibérica y para Cataluña, del índice BMWP (Biological Monitoring Working Party) respectivamente. El IASPT (Iberian Average Score Per Taxon) (National Water Council, 1981; Armitage *et al.*, 1983) es un índice de tolerancia que resulta de la división del valor IBMWP entre el número de familias. El FBILL (Prat *et al.*, 1999) evalúa la calidad del agua solo a partir del análisis de la fauna asociada a las zonas rápidas. La diversidad ( $H'$ ) se ha calculado con el índice de Shannon-Weaver (1963). Los valores de EPT (%) y EPT (%a) corresponden al porcentaje de efemerópteros, plecópteros y tricópteros respecto al total de taxones, expresado como número de familias en el primer caso, y a la abundancia, en el segundo. Los resultados obtenidos con el protocolo Guadalmed se expresan en términos de abundancia relativa de familias.

Finalmente, se ha cuantificado el tiempo empleado en las distintas fases de los trabajos de campo y laboratorio para cada una de las metodologías utilizadas.

El análisis de los datos se ha llevado a cabo interpretando los resultados de manera directa (por ejemplo el valor del índice IBMWP). Por otro lado, ya que la evolución de la calidad biológica del agua en la cuenca del Llobregat ha sido monitorizada durante los últimos 25 años (Prat y Rieradevall, 2006), se ha realizado una comparación de los resultados con los registros para los últimos diez años de dicha base de datos (propiedad del grupo FEM). Éste utiliza para sus estudios un protocolo próximo al Guadalmed separando zonas reófilas y leníticas.

### 3. Resultados

El método Guadalmed, que intenta obtener máxima diversidad, es el que efectivamente consigue capturar un mayor número de familias mientras que el método de la EPA consigue un resultado intermedio y el AQEM es el que acumula un menor número total (Tablas 2 y 3).

Tabla 3

Parámetro	ECOBILL 1997-2006 (min-max)	ECOBILL 2006	AQEM 2006	EPA 2006	Guadalmed 2006
S	21-41	26	19	22	24
IBMWP	98-187	119	83	94	122
BMWPC	110-237	125	92	95	122
ASPT'	4,60-6,10	4,6	4,4	4,3	5,1
FBILL	9-10	10	9	10	10
H'	-	-	1,64	1,93	1,8
EPT%Tax	-	-	51,6	42,1	55,1
EPT(%ab)	-	-	24	20	40

Tabla 3. Valores de métricas derivadas de las variables biológicas (Marzo de 2006) para los tres protocolos, comparadas con el rango de valores de los últimos diez años para el mismo punto de la base de datos del proyecto Ecobill y con los valores de dicha base de datos para abril de 2006.

En total, considerando conjuntamente las capturas de los tres protocolos, se han identificado 35 familias distintas de macroinvertebrados. De estas, 25 han sido colectadas mediante el protocolo Guadalmed, 22 por el EPA y 19 por el AQEM (Tabla 2). Los taxones comunes recogidos por los tres protocolos son 12. El protocolo Guadalmed es el que recoge una mayor biodiversidad de fauna, siendo también el que captura los taxones sensibles presentes en zonas marginales, como los odontoceridae, perlidae, perlodidae y leuctridae, que no han sido detectados con los protocolos AQEM y EPA. Sin embargo, este último recoge más taxones de dípteros. En relación al número total de individuos capturados, AQEM reúne más que EPA. Se observa que los taxones con mayor proporción de individuos en el protocolo Guadalmed, no corresponden en todos los casos con los otros dos protocolos, habiendo capturado el protocolo EPA menos baetidae y más chironomidae y sericostomatidae que los otros dos.

En el caso de las métricas derivadas de las variables biológicas, se han seleccionado las que se consideran más representativas y se han comparado con los datos históricos (Tabla 3). Exceptuando la diversidad ( $H'$ ), el protocolo Guadalmed

obtiene el valor más alto en todos los otros parámetros, mientras que el AQEM queda siempre por debajo. Las diferencias son notorias para el índice IBMWP, que con el protocolo Guadalmed obtiene el mayor rango de calidad. Pese a que el protocolo EPA obtiene un mayor valor del índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ), vemos que el porcentaje y los valores absolutos de EPT son menores, hecho que quizás pueda explicarse por que con este método no se muestrean de forma adecuada los habitats marginales. En comparación con los datos del proyecto Ecobill 2006, el protocolo Guadal-

*Entre las capturas de los tres protocolos se han identificado 35 familias distintas de macroinvertebrados*

med es el que obtiene un resultado más ajustado, excepto para ASPT', que obtiene un valor más alto en los datos del presente estudio.

Al valorar los datos obtenidos con el rango de resultados de la base de datos histórica, vemos que los valores de IBMWP, BMWPC y ASPT' están por debajo del rango de los muestreos históricos para los protocolos AQEM y EPA. Igualmente, el primero ha capturado un número de familias inferior a dicho rango.

Con respecto al tiempo necesario para completar cada uno de los protocolos, se han analizado en primer lugar los valores absolutos (Figura 1) expresados en minutos para cada una de las tareas que se deben realizar en la aplicación de los protocolos. Guadalmed es el protocolo más

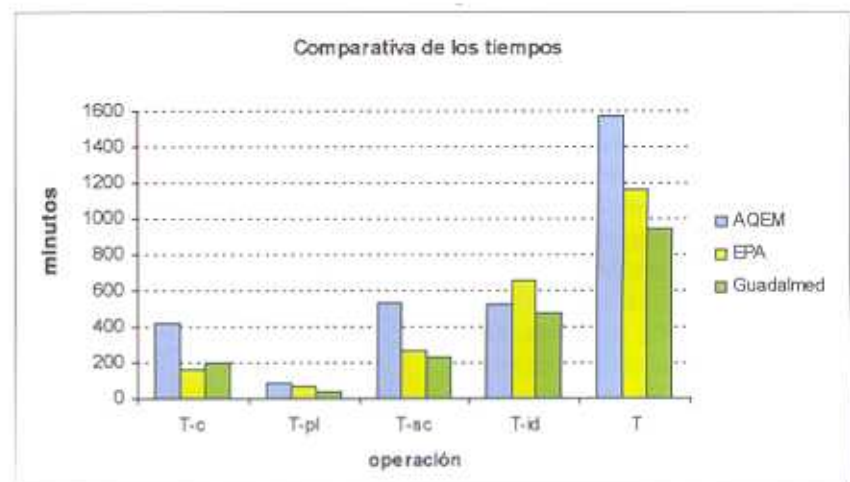


Figura 1. Gráfica comparativa de los tiempos de ejecución de los protocolos donde los tiempos son: T-c: Trabajo de campo; T-pl: Preparación de la muestra en el laboratorio; T-sc: Separación y recuento; T-Id: Identificación y T: total.

rápido en todas las etapas, excepto en el campo donde el de EPA necesita menos tiempo. En todos los apartados, excepto en la identificación taxonómica, AQEM supera a las otras, con un tiempo total de 26 horas frente a las 19 de EPA o las 15 de Guadalmed.

#### 4. Discusión

Los resultados muestran que el protocolo Guadalmed resulta más fácil de aplicar (expresado como tiempo necesario para todo el proceso) y de resultados con valores más altos en casi todas las métricas analizadas. Evidentemente, la desventaja está en que no se pueden calcular métricas cuantitativas con este método. Valorar si la información que se pierde al no ser la métrica cuantitativa respecto a su mejor eficiencia en tiempo y en el resultado de las métricas es un elemento a tener en cuenta por los gestores.

En los Estados Unidos se han llevado a término estudios comparativos del uso de varios métodos en los programas de seguimiento (Carter y Resh, 2001). Los dispositivos tipo Kick (como los utilizados en los métodos Guadalmed y EPA) se utilizaban aproximadamente en el 65% de los casos. Se ha observado que éstos son más habituales en las aproximaciones que utilizan los PRECE (Protocolos Rápidos de Evaluación de Calidad Ecológica) en inglés Rapid Bioassessment Protocols (RBP) (Resh y Jackson, 1993), con bajo coste, fácil transporte y capacidad de muestrear más fácilmente una mayor diversidad de hábitats. En los RBP el esfuerzo de muestreo se mantiene al mínimo nivel posible y se propone como óptimo tomar una sola muestra de los hábitats más productivos (Plafkin *et al.*, 1989). El 8,5% de los aparatos tipos Hess o Surber (el usado en el método AQEM) son preferidos en los estudios más específicos de seguimiento de la contaminación (Winterbourn, 1985; Voshell *et al.*, 1989; Resh y McElravy, 1993) con la ventaja de poder referenciar la

*El protocolo  
Guadalmed resulta  
más fácil  
de aplicar, pero  
no puede calcular  
métricas  
cuantitativas*

información por unidad de superficie.

Siguiendo un esquema similar a la revisión de Bonada *et al.* (2006), aunque con un enfoque algo distinto, se han definido doce criterios o requerimientos que debería reunir un buen protocolo de muestreo y se han valorado los 3 protocolos con los resultados obtenidos en este estudio (Tabla 4).

Estos criterios hacen referencia al método de muestreo o a la interpretación de resultados. En primer lugar, se valora la representatividad de la información recabada mediante el

protocolo, tanto en base a las familias capturadas como a los hábitats muestreados. Si bien este trabajo se basa en los datos de una sola estación, los resultados obtenidos concuerdan con una valoración realizada para distintos tipos fluviales, que puede hallarse en Jáimez-Cuéllar *et al.* 2006, al recogerse un mayor número de familias con el protocolo Guadalmed (IBMWP Protocolo I frente al método de los 20 Kicks en aquel trabajo). Así mismo, comparando los taxones capturados por todas las metodologías con el total de taxones encontrados y los taxones intolerantes a la contaminación, el protocolo Guadalmed consigue también mejores resultados.

En referencia a la aplicación de los protocolos, se han valorado cuestiones relacionadas con la facilidad de aplicación (puntos 3 y 4) y con los tiempos de aplicación (puntos 6, 7 y 8). Las diferencias debidas al observador (punto 5) no han sido valoradas porque no se disponía de suficiente información al respecto, si bien se tiene conocimiento del

Tabla 4

Características	Valoración del cumplimiento
<b>Método</b>	
1. Potencial de evaluar la estructura y composición de la comunidad	G>A>E
2. Consideración de todos los hábitats fluviales	G>A>E
3. Sencillez de aplicación	G>E>A
4. Nivel taxonómico requerido es el mínimo imprescindible	A=E=G
5. Bajo error entre diferentes observadores (máxima objetividad)	-
6. Mínimo tiempo de muestreo	G>E>A
7. Bajo tiempo de procesado de las muestras	G>E>A
8. Bajo tiempo de identificación	G>A>E
<b>Interpretación de los resultados</b>	
9. Máxima eficiencia (esfuerzo vs resultado)	G>E>A
10. Tradición en su aplicación y/o resultados comparables con series históricas	G>E=A
11. Máxima información derivable	A>E=G
12. Aplicable a gran escala	A=E=G

Tabla 4. Análisis de los protocolos estudiados de acuerdo con los 12 criterios seleccionados. Los protocolos se representan con sus iniciales AQEM (A), EPA (E) y Guadalmed (G), ordenados de mayor a menor cumplimiento para cada una de las características.

ejercicio de intercalibración llevado a cabo para el protocolo Guadalmed (Bonada *et al.*, 2002), donde no se observaron diferencias significativas entre muestreadores para ninguno de los aspectos valorados.

Por lo que respecta a la interpretación de resultados, se valora la eficiencia en cuanto al esfuerzo necesario para aportar la información que requiere el gestor (punto 9), mientras que luego se valora la aportación de información complementaria a la anterior (punto 11). Finalmente, se considera la tradición en la utilización del protocolo y comparabilidad con series históricas (punto 10) y su aplicabilidad a gran escala (punto 12).

Según nuestros datos, el protocolo Guadalmed queda por delante en 8 de los 11 criterios valorados y empatía con los demás en dos de los tres restantes, quedando por debajo sólo en el punto 11.

Es necesario considerar diversos aspectos que pueden haber condicionado los resultados de este estudio. En primer lugar, se ha considerado un solo punto de muestreo, pese a que se han valorado los resultados también desde una perspectiva histórica. En relación a los tiempos empleados en las distintas fases, las muestras recogidas durante la salida al campo presentaban una gran densidad de macrófitos del género *Cladophora*, que dificultó la separación de las mismas, por lo que los tiempos absolutos pueden ser inferiores en muestras de menor complejidad. Este factor no puede menospreciarse puesto que impide el establecimiento de algunas especies de macroinvertebrados (por ejemplo gasterópodos como los de la familia Ancyliidae) que no pueden desarrollar su rol trófico en estas condiciones. Por otro lado, la aplicación de los protocolos y la identificación de las familias de macroinvertebrados ha sido llevada a cabo por estudiantes de doctorado que, pese a estar familiarizados con la materia, no disponían de la certificación específica con la que contará el perso-

nal que llevé a cabo estas prácticas para la administración, lo que puede afectar (por sobreestimación) los tiempos absolutos de la **Figura 1**, aunque no los tiempos relativos ni tampoco la identificación de las familias, que fue supervisada por los profesores del curso.

*El protocolo  
Guadalmed queda  
por delante en 8  
de los 11 criterios  
valorados*

### 5. Agradecimientos

A los estudiantes del curso de doctorado de la Universidad de Barcelona 'Indicadores del estado ecológico de la aguas continentales': Marta Álvarez, Rosa Andreu, Paula Fonollà, José Luis Alonso y Julio César López. También agradecer a Pau Fortuño, del grupo FEM (Freshwater Ecology and Management), y a Antoni Munné y Carolina Solà, de la Agencia Catalana del Agua, su colaboración en el muestreo. La base de datos de calidad del agua del río Llobregat, usada para la comparación de resultados es propiedad del grupo de investigación FEM, reconocido por la Generalitat de Catalunya.

### 6. Bibliografía

[1] Alba-Tercedor, J.; Jáimez-Cuéllar, P.; Álvarez, M.; Avilés, J.; Bonada, N.; Casas, J.; Mellado, A.M.; Ortega, M.; Pardo, I.; Prat, N.; Rieradevall, M.; Robles, S.; Sáinz-Cantero, C.E.; Sánchez-Ortega, A.; Suárez, M.L.; Toro, M.; Vidal-Abarca, M.R.; Vivas, S.; Zamora-Muñoz, C. (2002).

Caracterización del estado ecológico de los ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWP'). *Limnetica*, 21 (3-4), (2002): 175-185.

- [2] AQEM Consortium (2002). Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European streams using benthic macroinvertebrates, developed for purpose of the Water Framework Directive. Versión 1.0, February 2002.
- [3] Armitage, P.D.; Moss, D.; Wright, J.F.; Furse, M.T. (1983). The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Resources*, 17(3): 333-347.
- [4] Barbour, M.T.; Gerritsen, J.; Snyder, B.D.; Strinbling, J.B. (1999). Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish. EPA 841-B-99-022. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington D.C.
- [5] Barton, D.R.; Metcalfe-Smith, J.L. (1992). A comparison of sampling techniques and summary indices for assessment of water quality in the Yamasaka river, Québec, based on benthic macroinvertebrates. *Environmental monitoring and Assessment*, 21: 225-244.
- [6] Benito, G.; Puig, M.A. (1999). BMWPC un índice biológico para la calidad de las aguas adaptado a las características de los ríos catalanes. *Tecnología del Agua*, 191: 43-56.
- [7] Bonada, N.; Prat, N.; Munné, A.; Plans, M.; Solà, C.; Álvarez, M.; Pardo, I.; Moyà, G.; Ramon, G.; Toro, M.; Robles, S.; Avilés, J.; Suárez, M.L.; Vidal-Abarca, M.R.; Mellado, A.; Moreno, J.L.; Guerrero, C.; Vivas, S.; Ortega, M.; Casas, J.;

- Sánchez-Ortega, A.; Jáimez-Cuéllar, P.; Alba-Tercedor, J. (2002). Intercalibración de la metodología Guadalmed. Selección de un protocolo de muestreo para la determinación del estado ecológico de los ríos mediterráneos. *Limnetica* 21(3-4): 13-33.
- [8] Bonada, N.; Prat, N.; Resh, V.; Statzner, B. (2006). Development in aquatic insect biomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Annual review of entomology*, 51: 495-523.
- [9] Carter, J.L.; Resh, V.H. (2001). After site selection and before data analysis sampling, sorting, and laboratory procedures used in stream benthic macroinvertebrate monitoring programs by USA state agencies. *Journal of North American Benthological Society*, 20(4): 658-682.
- [10] Diamond, J.M.; Barbour, M.T.; Stribling, J.B. (1996). Characterizing and comparing Bioassessment methods and their results: a perspective. *Journal of North American Benthological Society*, 15(4): 713-727.
- [11] EC (2000) Directiva 2000/60/CE el Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de octubre de 2000 por la cual se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas (DOL 327 de 22.12.2000, p.1).
- [12] Erman, D.C. (1981). Stream macroinvertebrate baseline surveys: A comparative analysis from the oilshale regions of Colorado, USA. *Environment Management*, 5: 531-536.
- [13] Hering, D.; Moog, O.; Sandin, L.; Verdonshot, P.F. (2004). Overview and application of the AQEM assessment system. *Hydrobiologia* 516: 1-20.
- [14] Jáimez-Cuéllar, P.; Vivas, S.; Bonada, N.; Robles, S.; Mellado, A.; Álvarez, M.; Avilés, J.; Casas, J.; Ortega, M.; Pardo, I.; Prat, N.; Rieradevall, M.; Sáinz-Cantero, C.B.; Sánchez-Ortega, A.; Suárez, M.L.; Toro, M.; Vidal-Abarca, M.R.; Zamora-Muñoz, C.; Alba-Tercedor, J. (2002). Protocolo Guadalmed (PRECE). *Limnetica*, 21(3-4): 187-204.
- [15] Jáimez-Cuéllar, P.; Palomino, J.A.; Luzón, J.; Alba-Tercedor, J. (2006). Comparación de metodologías empleadas para la evaluación del estado ecológico de los cursos de agua. *Tecnología del Agua*, 278: 42-57.
- [16] Kerans, B.L.; Karr, J.R.; Ahlstedt, S.A. (1992). Aquatic invertebrate assemblages: Spatial and temporal differences among sampling protocols. *Journal of North American Benthological Society*, 11(4): 377-390.
- [17] National Water Council (1981) *River Quality: The 1980 survey and future outlook*. London.
- [18] Plafkin, J.L.; Barbour, M.T.; Porter, K.D.; Gross, S.K.; Hughes, R.M. (1989). Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: Benthic macroinvertebrates and fish. EPA/444/4-89-001. United States Environmental Protection Agency, Washington D.C.
- [19] Prat, N.; Munné, A.; Solà, C.; Rieradevall, M.; Bonada, N.; Chacón, G. (1999). La qualitat ecològica del Llobregat, el Besòs i el Foix. Informe 1996. *Estudis de la Qualitat ecològica dels Rius*, 6. Diputació de Barcelona. Àrea de Medi Ambient.
- [20] Prat, N.; Rieradevall, M. (2006). 25-Years of biomonitoring in two Mediterranean streams (Llobregat and Besòs basins, NE Spain). *Limnetica* 25 (1-2): 541-550.
- [21] Resh, V.H.; Jackson, J.K. (1993). Rapid assessment approaches to biomonitoring using benthic macroinvertebrates. Pages 195-233 in Rosenbergh, D.M.; Resh, V.H. (editors). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman and Hall, New York.
- [22] Resh, V.H.; McElravy, E.P. (1993). Contemporary quantitative approaches to biomonitoring using benthic macroinvertebrates. Pages 159-194 in Rosenberg, D.M.; Resh, V.H. (editors). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman and Hall, New York.
- [23] Rosenberg, D.M.; Resh, V.H. eds. (1993). *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. New York: Chapman & Hall. 488 pp.
- [24] Shannon, C.E.; Weaver, W. (1963). *The Mathematical Theory of Communication*. Chicago: University of Illinois Press. 116 pp.
- [25] Tachet, H.; Rochoux, P.; Bournaud, N.; Usseglio-Polatera, P. (2000). *Invertébrés d'eau douce. Systématique, biologie, écologie*. CNRS Editions. Paris.
- [26] Voshell, J.R.; Layton, R.J.; Hiner, S.W. (1989). Field techniques for determining the effects of toxic substances on benthic macroinvertebrates in rocky-bottom streams. Pages 134-155 in Cowgill, U.M.; Williams, L.R. (editors). *Aquatic toxicology and hazard assessment*. Volume 12. American Society for Testing and Materials (ASTM) Special Technical Publication 1027, Pennsylvania.
- [27] Winterbourn, M. J. (1985). Sampling stream invertebrates. Pages 241-258 in Pridmore, R.D.; Cooper, A.B. (editors). *Biological monitoring in freshwaters: proceedings of a seminar*, Hamilton, November 21-23, 1984, Part 2. Water and Soil Miscellaneous Publication No. 83. National Water and Soil Conservation Authority, Wellington, New Zealand.