

Anexo 7. Mejores métodos para evaluación científico – técnica por especie

ÍNDICE

1. <i>Posidonia oceanica</i>	2
2. <i>Cymodocea nodosa</i>	4
3. <i>Zostera</i> spp.....	7

A continuación, se relacionan los mejores métodos de evaluación científica para algunas de las especies de fanerógamas marinas: *P. oceanica*, *C. nodosa* y *Zostera* spp (*Z. noltei* y *Z. marina*). En el caso de *Ruppia* spp., dado que los seguimientos son muy escasos, no se dispone de una clara metodología para su aplicación.

1. Posidonia oceanica

Díaz-Almela *et al.* (2005) efectúan una completa revisión de las técnicas y métodos de trabajo para esta especie. A continuación, se relacionan los más habituales en las labores de seguimiento y monitorización, los cuales pueden ser bastante variados dependiendo del equipo de investigación, la escala, y el tipo de monitorización a realizar (Pergent *et al.*, 1995; Pergent-Martini *et al.*, 1995; Renom & Romero, 1998; Luque & Templado, 2004; Boudouresque *et al.*, 2006; Díaz-Almela & Marbà, 2009; López & Royo *et al.*, 2010, 2011; Ruiz *et al.*, 2010).

a. Densidad.

La densidad de haces es uno de los parámetros descriptores clásicos, que se obtiene mediante el conteo de haces en una superficie determinada; la más común es de 1.600 cm², en un cuadrado de 40 cm de lado, que se dispone al azar dentro de las zonas de pradera, con un número total de sitios y réplicas variable en función del diseño muestral que se trate, pero el cual nunca es recomendable que sea inferior a 6 réplicas. Este recuento también se puede efectuar sobre parcelas fijas.

b. Cobertura.

Respecto a la cobertura, se mide a lo largo de transectos lineales de una longitud de entre 25 y 50 m, dispuestos al azar. La cuantificación se puede efectuar bien siguiendo las técnicas de estimación visual de Braun-Blanquet a lo largo de la cinta métrica del transecto (Romero, 1995; Sánchez Lizaso *et al.*, 1990), o bien estimando la cobertura de pradera dentro de cuadrados de 40x40 cm (Ruiz *et al.*, 2012), que se disponen a distancias fijas a lo largo del transecto. Ambos métodos se encuentran sujetos a factores subjetivos y son, por tanto, semi-cuantitativos; mientras los primeros representan una macroescala o escala de paisaje, los segundos miden el recubrimiento de las manchas a una mesoescala. En ambos casos, se anota la proporción de pradera viva sobre el transecto o cuadrado, pero también se puede anotar la naturaleza del sustrato no ocupado por pradera viva (arena, roca, o mata muerta). Conociendo la proporción de mata muerta es posible calcular el Índice de Alteración (Sánchez Poveda *et al.*, 1996) o su inverso, conocido como el Índice de Conservación (Moreno *et al.*, 2001), índice cuyo empleo se ha extendido últimamente, pero que hay que utilizar con extrema precaución si no está bien determinado el origen de esa mata muerta (Boudouresque *et al.*, 2006). Es conveniente que estas mediciones temporales estén referidas a una superficie o punto fijo de la pradera, ya que la elevada heterogeneidad espacial a pequeña escala intrínseca de las praderas de *P. oceanica* puede enmascarar fácilmente el tipo de variación espacio-temporal objeto de análisis.

c. Densidad Global.

Una combinación del índice de densidad con el de cobertura es el denominado índice de densidad global (Romero, 1989), que resulta de multiplicar el valor medio de densidad para una determinada

estación con el porcentaje de cobertura de *P. oceanica* registrado en esa misma estación.

d. Marcaje de haces.

Otros métodos del seguimiento en el tiempo menos frecuentes contemplan el marcaje de cada haz individual dentro de la parcela permanente para estimar descriptores de tipo poblacional, como las tasas de división/reclutamiento, y de mortalidad de haces (Luque & Templado, 2004; Díaz-Almela & Marbà, 2009; Marbà & Duarte, 2010). A pesar de que estos descriptores pueden aportar información relevante, su aplicación ha sido más limitada debido al elevado tiempo de buceo que se requiere, lo que los hace poco prácticos en programas de seguimiento más rutinarios y con un elevado número de estaciones de muestreo.

e. Medida del enterramiento.

El enterramiento es un parámetro que en determinadas situaciones puede suministrar información sobre el estado de las poblaciones.

Para su cálculo se miden la altura de 30 a 50 hojas, tomadas al azar, desde la superficie del sedimento hasta su extremo. Se deben tomar las mismas precauciones que en el caso de la toma de medidas para el cálculo de la altura de las plantas. Además, hay que tener cuidado de no enterrar el instrumento de medida en el sedimento y cometer así errores en el cálculo de la altura sobre el substrato. Esto podría evitarse colocando una base plana en uno de los extremos de la regla metálica de medida que impida su enterramiento en el sedimento. Si a la altura media de las hojas (calculada previamente) se le resta la altura media sobre el sedimento, se obtendrá el nivel medio de enterramiento en una estación concreta de muestreo.

$$E = H_t - H_s$$

Donde:

E = Nivel medio de enterramiento (cm)

H_t = altura media total de las hojas (cm)

H_s = altura media de las hojas sobre la superficie del sedimento (cm).

f. Lepidocronología.

La lepidocronología y el intervalo plastocrono son técnicas de retrodatación de rizomas que permiten analizar de forma indirecta cambios en la dinámica de las praderas y su relación con cambios ambientales (Duarte *et al.*, 1994; Delgado *et al.*, 1999; Mayot *et al.*, 2005; Marbà *et al.*, 2006; González-Correa *et al.*, 2008), pero estas técnicas son menos fiables para estimar tendencias que los métodos directos anteriores (González-Correa *et al.*, 2007).

g. Índices multivariantes.

Son índices multimétricos, como POMI (*Posidonia Oceanica Multimetric Index*; Romero *et al.*, 2007), diseñado para la implementación de la Directiva Marco del Agua (DMA), y que emplea 14 indicadores a nivel de comunidad (N epífitos), estructura de la población (densidad de haces y porcentaje de

cobertura), estructura individual (superficie foliar del haz y superficie foliar necrosada), estado fisiológico (N, $\delta^{15}\text{N}$, P, $\delta^{34}\text{S}$, y carbohidratos en rizomas), y contaminación (contenido de Cu, Pb y Zn en rizomas). El índice se obtiene a partir del eje del análisis de componentes principales que explica mayor cantidad de varianza normalizado entre 0 (peor condición) y 1 (condición de referencia) para obtener las cinco clases de estado ecológico que establece la DMA (*Ecological Quality Ratio*, EQR = Alto, Bueno, Moderado, Pobre y Malo). El índice está correlacionado con gradientes de presión antrópica evaluados mediante métodos estandarizados y homogéneos basados en el análisis de imágenes de satélite y datos públicos (López & Royo *et al.*, 2009). Debe tenerse en cuenta que el empleo de este tipo de índices para caracterizar masas de agua en la DMA puede conllevar a errores, ya que la estación puede estar asociada a un impacto local, pero el EQR resultante se extrapola a la masa de agua entera, lo cual no es correcto (sobre todo si no hay más estaciones) y puede dar lugar a una visión distorsionada del estado de las praderas. Este índice se emplea en Cataluña, mientras que en Baleares, Comunidad Valenciana y Región de Murcia, se emplean variantes simplificadas de éste.

h. Otros índices.

Otros indicadores relacionados que deben ser considerados en futuras evaluaciones de este hábitat son:

- Índices de floración.
- Índices de la estructura genética de las poblaciones (Procaccini *et al.*, 2007).

Cuando el límite inferior es perceptible, se puede emplear la evolución de éste para valorar impactos en la parte más profunda. Para ello, es preciso clavar hitos en el borde, y comprobar periódicamente la variación experimentada.

2. Cymodocea nodosa

Los parámetros habituales son en parte similares a los de *P. oceanica*. A continuación, se describen las técnicas de toma de muestras por métodos no destructivos más comunes siguiendo a Espino (2003):

a. Densidad.

La densidad es un parámetro básico a evaluar en todos los estudios cuantitativos de praderas marinas. Se expresa como el número de haces por unidad de superficie, y cuyo calculo permite estimar (al estar correlacionado) otros parámetros de las plantas, tales como la productividad por unidad de área, etc. La densidad de haces o pies ha sido relacionada con el tamaño del haz, concentración de nutrientes en el sedimento y tipo de sedimento (Dennison, 1990). Se trata de un parámetro que responde rápidamente a las perturbaciones del medio, tales como la disminución de la luz.

En este caso, la densidad se calcula mediante un recuento de los haces en el interior de un cuadrado de superficie conocida. Este método ha sido utilizado y recomendado por varios autores (Kirkman, 1990; Reyes *et al.*, 1995; Pavón-Salas *et al.*, 1998; Haroun, 2000; Marcos-Diego *et al.*, 2000). Según

Green (2000), este método puede ser preciso, pero puede conllevar bastante tiempo realizarlo. La densidad de haces se calcula utilizando un cuadrado de lado variable, entre 20 y 30 cm de lado interior, aunque puede llegar a medir hasta 1m de lado, dependiendo de la densidad de la pradera. Dennison (1990) considera que la medida del cuadrado es función de la distribución de las fanerógamas. El número de réplicas depende de varios factores, como son la forma de crecimiento, el tiempo necesario para realizar la maniobra, la profundidad a la que se realiza, y el tamaño del área que se debe estudiar. Previamente, se puede realizar un ensayo consistente en obtener un número de réplicas suficientes para estabilizar la media y disminuir la varianza de la muestra. En Canarias, para cuadrados de 25x25 cm, el número de réplicas más habitual es de 10 (Delgado *et al.*, 1997; Espino, 2003).

b. Cobertura.

Al igual que en el caso de *P. oceanica*, se trata de una estimación semicuantitativa, y pueden emplearse métodos similares. En Canarias se emplean transectos de 50 m de longitud. En cuanto al número de transectos, algunos autores estiman que es preferible emplear transectos permanentes (Kirkman, 1990), dependiendo su número del tamaño de la pradera. También pueden tomarse fotografías para registrar cuadrados permanentes a lo largo de transectos perpendiculares a la costa.

c. Densidad global.

Se emplea el mismo índice que para *P. oceanica*, se utiliza el índice global (Romero, 1989).

d. Medidas de altura y número de hojas.

Delgado *et al.* (1997) utilizan la altura de las hojas como parámetro para el seguimiento de un impacto sobre praderas marinas en Menorca (Islas Baleares). Según estos autores, el proceso de degradación comienza con un progresivo acortamiento de las hojas, tanto en *C. nodosa* como en *P. oceanica*. Tuya *et al.* (2002) estiman la altura media de las hojas como parámetro para determinar el impacto de la construcción de un puerto deportivo, tomando 30 hojas al azar de cada cuadrado de muestreo de hojas completas, esto es, que no hayan sido mordidas o consumidas por animales, o bien que los extremos no estén quebrados. Posteriormente, en laboratorio, se mide la altura de cada hoja y se cuenta el número de hojas por haz. Para la medida de la altura se utiliza una regla de metal con aproximación de milímetros. La medida se toma desde el nacimiento del haz (último nudo) hasta el extremo de la hoja. Generalmente, se refiere la altura media de la hoja más vieja.

El número de hojas por haz es un parámetro que da idea de la vitalidad de la pradera, y normalmente puede variar entre 2,4 - 3,4 hojas/pie (Reyes *et al.*, 1995). Lo mismo sucede con la altura, cuyos valores oscilan entre 14,7 y 31 cm, pudiendo en Canarias alcanzar hasta los 70 cm para *Cymodocea nodosa*, superando en muchos casos los 40 cm.

e. Fragmentación.

Se trata de otro parámetro que puede suministrar información de las praderas de fanerógamas marinas, y que se puede aplicar tanto para *P. oceanica* como para *C. nodosa* o *Zostera* spp. (Marcos-

Diego *et al.*, 2000; Espino, 2003). Cuando una pradera sufre algún tipo de alteración, sus bordes se fragmentan. Dependiendo de la intensidad de la alteración, inicialmente, los bordes de la pradera forman ondulaciones. En un estado más avanzado, las ondulaciones se transforman en invaginaciones de los límites, y finalmente se produce la fragmentación de la pradera en parches o manchones. Según los mismos autores, la fragmentación puede ser medida mediante transectos de 10 metros de longitud localizados al azar en cada punto de muestreo. A lo largo de estos transectos se mide la parte viva de pradera que cruza el transecto, que ha sido previamente marcado y graduado. Este método sigue un proceso similar al de la estima de la cobertura.

f. Medida del enterramiento.

El enterramiento es un parámetro que en determinadas situaciones puede suministrar información sobre el estado de las poblaciones.

De manera equivalente a su empleo en *P. oceanica* para su cálculo se miden la altura de 30 a 50 hojas, tomadas al azar, desde la superficie del sedimento hasta su extremo. Se deben tomar las mismas precauciones que en el caso de la toma de medidas para el cálculo de la altura de las plantas. Además, hay que tener cuidado de no enterrar el instrumento de medida en el sedimento y cometer así errores en el cálculo de la altura sobre el sustrato. Esto podría evitarse colocando una base plana en uno de los extremos de la regla metálica de medida que impida su enterramiento en el sedimento. Si a la altura media de las hojas (calculada previamente) se le resta la altura media sobre el sedimento, se obtendrá el nivel medio de enterramiento en una estación concreta de muestreo.

$$E = H_t - H_s$$

Donde:

E = Nivel medio de enterramiento (cm)

H_t = altura media total de las hojas (cm)

H_s = altura media de las hojas sobre la superficie del sedimento (cm).

g. Medida de la biomasa sobre la superficie del sedimento.

El "standing crop" o la biomasa sobre la superficie del sedimento es uno de los parámetros que más rápidamente responden ante cualquier tipo de impacto sobre las praderas de fanerógamas marinas (Kirkman, 1996). Además, se trata de un parámetro que, junto a la densidad de haces, es de especial relevancia cuando se usan técnicas de teledetección para la evaluación de praderas marinas (Green, 2000). Este parámetro se expresa como peso seco de fanerógamas por unidad de área (g/m²) y está correlacionado con la densidad de pies y el índice de área foliar. Se trata de un parámetro que requiere de una cierta complicación para su estima.

El método no destructivo está basado en una técnica establecida por Mellors (1991), que consiste en un método de evaluación visual *in situ*. La técnica se basa en la utilización de una escala lineal de categorías de biomasa las cuales han sido asignadas a muestras de praderas en 0,25 m². Se utiliza una escala de 5 categorías de biomasa que previamente han de ser establecidas y calibradas mediante las técnicas destructivas explicadas anteriormente. Este método de evaluación visual tiene sus ventajas (es más preciso y eficiente en el tiempo, y es menos destructivo que algunos métodos tradicionales de recolección) e inconvenientes (requiere un trabajo previo de calibración para cada zona de

trabajo).

h. Índices multivariantes.

Al igual que en *P. oceanica*, en *C. nodosa* se emplea un índice multimétrico, CYMOX (Oliva *et al.*, 2012), que emplea 10 parámetros que abarcan desde el contenido fisiológico ($\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{34}\text{S}$, % N, % P de los rizomas), pasando por el individuo (tamaño del brote) y la población (proporción de peso de la raíz), hasta la comunidad (biomasa de epífitos), niveles de organización, y algunos descriptores de contaminación metálica (contenido de Cd, Cu y Zn de los rizomas), utilizando las puntuaciones de los sitios en el primer eje de un análisis de componentes principales. Los resultados se ajustan a una escala de 0-1 (Relación de calidad ecológica) al referir los valores a las condiciones óptimas (de referencia) y peores (más degradadas). El estado ecológico de los sitios obtenidos aplicando CYMOX se correlacionó significativamente con el gradiente ambiental, validando su adecuación para reflejar el estado de la pradera.

3. Zostera spp.

Se emplean los mismos índices que los expresados para *C. nodosa*. En el estudio de la cobertura se pueden efectuar estimas semicuantitativas, utilizando valores de 1 a 5 (1=1-20%, 2=21-40%, 3=41-60%, 4=61-80%, 5=81-100%) (Dawes, 1998).

Los estudios de elongación de las hojas se realizan durante la primavera, midiéndose la longitud de la hoja interna del haz terminal, y eligiéndose la hoja de menor tamaño, por permitir su fácil identificación dentro del haz sin necesidad de utilizar ningún método de marcaje destructivo. Para identificar las plantas en el siguiente muestreo se utiliza el método de marcaje del rizoma horizontal propuesto por Terrados & Ros (1992) y empleado por Reyes *et al.* (1995). Cuando se efectúa una segunda toma de datos se debe tener en cuenta el intervalo de plastocrono, estimado entre 4 y 14 días.