

PROTOCOLO DE MUESTREO, ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DE FAUNA BENTÓNICA MACROINVERTEBRADA EN RÍOS VADEABLES

Enero de 2021

Agencia Vasca del Agua / Uraren Euskal Agentzia

Código: RW_MACROINVERTEBRADOS_URA_V_3.1





1. OBJETO

En el ámbito de aplicación de la Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo, y del Consejo de 23 de octubre de 2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas (en adelante DMA o Directiva Marco del Agua), el elemento biológico fauna bentónica de invertebrados es utilizado para la clasificación del estado ecológico de las aguas superficiales de la categoría ríos.

Los macroinvertebrados bentónicos constituyen comunidades que durante casi todo su ciclo vital habitan el lecho fluvial. Son comunidades diversas y abundantes en todo tipo de ríos, compuestas por taxones con amplio espectro ecológico, es decir, asociados a diferentes niveles tróficos, con ciclos de vida heterogéneos y una tolerancia variable a distintas presiones.

Se consideran indicadores de condiciones locales por su escasa movilidad y proporcionan información integrada en el tiempo, ya que responden a presiones tanto permanentes como ocasionales. Por todo esto, son útiles para la detección y seguimiento de alteraciones a medio y largo plazo, en particular como indicadores de la contaminación general.

Se trata de invertebrados de un tamaño relativamente grande (visibles al ojo humano), no inferiores a 0,5 mm. Comprenden principalmente artrópodos (insectos, arácnidos y crustáceos) junto a oligoquetos, hirudíneos y moluscos y, con menor frecuencia, celentéreos, briozoos o platelmintos.

La DMA en el epígrafe 1.3.6 de su anexo V indica que los métodos empleados para controlar los parámetros de cada tipo serán conformes a determinadas normas internacionales que enumera o a cualesquiera otras normas nacionales o internacionales que garanticen el suministro de información de calidad y comparabilidad científica equivalentes.

La Agencia Vasca del Agua, mediante este documento, pretende definir un protocolo de muestreo, análisis y evaluación que, garantizando el cumplimiento de los requisitos mencionados anteriormente, establezca sistemas de evaluación de estado/potencial ecológico basados en el elemento fauna bentónica de invertebrados en ríos vadeables de tipologías presentes en la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV).

2. ALCANCE

Este documento tiene como objeto establecer un procedimiento para la toma de muestras (apartado 5) y la identificación en laboratorio (apartado 6) de la fauna bentónica de macroinvertebrados de las masas de agua de la categoría ríos que sean vadeables, tanto naturales como muy modificadas asimilables a ríos, que en su conjunto permite la obtención de datos de composición y abundancia de macroinvertebrados bentónicos.

Asimismo, este documento tiene como objeto establecer sistemas de evaluación del elemento de calidad '*Fauna bentónica de invertebrados*' para masas de agua de la categoría ríos con las tipologías: R-T22 (Ríos cántabro-atlánticos calcáreos), R-T23 (Ríos vasco-pirenaicos), R-T29 (Ejes fluviales principales cántabro-atlánticos calcáreos), R-T30 (Ríos costeros cántabro-atlánticos), R-T32 (Pequeños ejes cántabro-atlánticos calcáreos), R-T12 (Ríos de montaña mediterránea calcárea), R-T26: (Ríos de montaña húmeda calcárea) y R-T15 (Ejes mediterráneo-continentales poco mineralizados).



3. ACTUALIZACIÓN DEL PROTOCOLO

Esta versión del protocolo supone modificaciones menores respecto a versiones anteriores en el protocolo de muestreo, puesto que se ha ajustado el área de muestreo (epígrafe 5.4) y en el procesamiento de los datos, ya que se ha desestimado anular familias que se encuentran en una densidad muy baja, cuando habitualmente suelen presentar densidades muy altas (epígrafe 6.4).

Por otro lado, también se presentan modificaciones de mayor trascendencia en cuanto a los sistemas de evaluación ya que se han revisado las condiciones de referencia y los límites de cambio de clase de los índices propuestos (apartado 7) que suponen modificaciones de lo indicado actualmente en el Real Decreto 817/2015.

Esta revisión se basa en datos recogidos según los apartados 5y 6 de este protocolo durante el período 2008-2019 en estaciones de referencia presentes en la CAPV que fueron seleccionadas según criterios REFCOND¹. La revisión de condiciones de referencia y límites de cambio de clase para los índices MBI y MBf y sus métricas se deriva de la aplicación de los criterios del proceso de intercalibración de métodos de evaluación ecológica revisados de acuerdo con procesos de intercalibración finalizados^{2,3}, para las tipologías R-T22, R-T23, R-T30 y R-T32.

Siguiendo los mismos criterios, se han revisado condiciones de referencia y límites de cambio de clase para los índices MBI y MBf y sus métricas para tipologías presentes en vertiente mediterránea de la CAPV (R-T12 y R-T26).

Ante la ausencia de datos que permitan establecer condiciones de referencia propias para las tipologías R-T15 y R-T29, en este protocolo se decide que las condiciones de referencia y límites de cambio de clase del tipo R-T15 serán las del R-T12 y las del R-T29 serán las del R-T32.

4. NORMATIVA DE REFERENCIA

- Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.
- Real Decreto Legislativo 1/2001 por el que se aprueba el Texto refundido de la Ley de Aguas.
- Real Decreto 907/2007. de 6 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de Planificación Hidrológica.
- Orden ARM/2656/2008 por la que se aprueba la Instrucción de Planificación Hidrológica.
- Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental.
- Real Decreto 1/2016, de 8 de enero, por el que se aprueba la revisión de los Planes Hidrológicos de las demarcaciones hidrográficas del Cantábrico Occidental, Guadalquivir, Ceuta, Melilla, Segura y Júcar, y de la parte española de las demarcaciones hidrográficas del Cantábrico Oriental, Miño-Sil, Duero, Tajo, Guadiana y Ebro.

¹ REFCOND: Guidance Document No 10 Rivers and Lakes – Typology, Reference Conditions and Classification Systems” and “Development of a protocol for identification of reference conditions, and boundaries between high, good and moderate status in lakes and watercourses”.

² Decisión de la Comisión de 12 de febrero de 2018 por la que se fijan, de conformidad con la Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, los valores de las clasificaciones de los sistemas de seguimiento de los Estados miembros a raíz del ejercicio de intercalibración, y por la que se deroga la Decisión 2013/480/UE. Diario Oficial de la Unión Europea, L47: 1-91.

³ Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document n°30: Procedure to fit new or updated classification methods to the results of a completed intercalibration



- UNE-EN 16150: Calidad del agua. Orientaciones para el muestreo de macroinvertebrados bentónicos en ríos vadeables por prorrato de las superficies de cobertura de los hábitats presentes.
- UNE-EN 16101: Calidad del agua. Orientaciones para los estudios de comparación interlaboratorios que tienen por objeto la evaluación ecológica.
- UNE-EN 10870: Calidad del agua. Directrices para la selección de métodos y dispositivos de muestreo de macroinvertebrados bentónicos en agua dulce.
- UNE-EN ISO 5667-1: Calidad del agua. Guía para el diseño de programas de muestreo y técnicas de muestreo.
- UNE-EN ISO 5667-3: Calidad del Agua. Muestreo. Conservación y manipulación de las muestras de agua.
- UNE-EN ISO 5667-16: Calidad del agua. Muestreo. Guía para los ensayos biológicos de muestras.
- UNE-EN 14996: Calidad del agua. Guía para el aseguramiento de la calidad de las evaluaciones biológicas y ecológicas en el medio ambiente acuático.
- UNE-EN 8689-1: Calidad del agua. Clasificación biológica de los ríos. Guía para la interpretación de los datos relativos a la calidad biológica a partir de estudios de macroinvertebrados benthicos.
- UNE-EN 8689-2: Calidad del agua. Clasificación biológica de los ríos. Guía para la presentación de los datos relativos a la calidad biológica a partir de estudios de macroinvertebrados benthicos.
- CEN/TR 16151: Water quality - Guidance on the design of Multimetric Indices.

5. PROTOCOLO DE MUESTREO

El procedimiento de toma de muestras, para la evaluación de la fauna bentónica de invertebrados de ríos es una adaptación del método Multihábitat estratificado⁴, y se basa en las directrices emanadas de la propuesta metodológica AQEM⁵, así como de los protocolos y normas adoptados en el estado español⁶ y de las normas UNE-EN 16150 y UNE EN 10870.

La estrategia de muestreo es **multihábitat**, es decir, se basa en la identificación y selección de hábitats dominantes identificables de visu y evitando la roca madre. La estrategia de muestreo es **estratificada**, es decir, el número de esfuerzos de muestreo (Kick) es proporcional a la representatividad de cada hábitat identificado como dominante y representativo. El muestreo es **semicuantitativo**, puesto que la superficie de muestreo no está perfectamente acotada.

5.1. EQUIPOS Y CONSERVANTES

- Vadeador o botas altas de pescador.
- Guantes de goma largos.

4 Barbour, M.T., J. Gerritsen, B.D. Snyder, and J.B. Stribling. 1999. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish, Second Edition. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C.

5 AQEM 2002. "The Development and Testing of an Integrated Assessment System for the Ecological Quality of Streams and Rivers throughout Europe using Benthic Macroinvertebrates. Acronym: AQEM". <http://www.aqem.de/index.php>.

6 "Protocolo de muestreo y laboratorio de invertebrados bentónicos en ríos vadeables" (ML-Rv-I-2013) del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.



- Gafas de protección ante salpicaduras.
- Manga con red de muestreo de macroinvertebrados de 500 µm de luz de malla, cuyo marco tenga 0,25 cm de base y altura igual o superior, y mango largo.
- Tamices de acero inoxidable de 30 cm de Ø y de 5 mm y 0,5 mm de luz de malla.
- Cubo de plástico de 10-12 L.
- Cuchara y pinzas entomológicas.
- Cepillo limpiador.
- Botes estancos de 0,5-1 L, de boca ancha y doble tapón.
- Conservantes de muestras: Formaldehído (HCHO) (35-40%) o Alcohol etílico (C₂H₆O; 96°).
- Ficha de campo
- Lejía (NaClO) 40 gr Cl/L, para la desinfección del equipo de muestreo. Solución desinfectante a 5 mg cloro libre/L.
- Rotulador permanente, bolígrafo de tinta resistente al agua.
- Etiquetas y todo material necesario para fijarlas (cinta adhesiva transparente, tijeras).
- Cinta métrica y/o Telémetro.
- GPS y cartografía específica.
- Cámara digital.
- Teléfono móvil.
- Bateas de transporte.

Todo el material usado en campo deberá estar convenientemente limpio y/o desinfectado antes de acceder a otra estación de control para evitar el transporte de individuos de macroinvertebrados a otras cuencas. Para evitar la dispersión de propágulos o individuos de especies invasoras, en este caso se seguirán los protocolos establecidos por el Organismo de cuenca competente⁷.

Para el trabajo de campo se deberán tomar todas aquellas medidas necesarias para garantizar que los trabajos se desarrollan en unas condiciones adecuadas de seguridad e higiene.

5.2. PLANIFICACIÓN DE LA TOMA DE MUESTRAS

La toma de muestras se realizará en la época y con la periodicidad más adecuada a los objetivos marcados en el proyecto a realizar o siguiendo los requerimientos de la autoridad competente.

Los periodos de muestreo preferentes se corresponderán con primavera-temprana (mayor potencialidad biológica y condiciones de elevado caudal) y/o verano-tardío (mayor estrés biológico por caudales más bajos).

Cuando las condiciones meteorológicas o hidrológicas no sean favorables, la toma de muestras se adelantará/ aplazará para encontrar una situación más favorable. Así, la toma de muestra se retrasará al menos 15 días si ocurre una avenida o se llevan a cabo obras en el cauce. En el caso de ríos temporales se garantizará la existencia de un período de flujo no menor a 1-2 meses.

⁷ Protocolo de Desinfección y Limpieza para evitar la dispersión de la plaga del mejillón cebra (*Dreissena polymorpha*). Confederación Hidrográfica del Ebro. Comisaría de Aguas. Marzo 2011.



5.3. CARACTERIZACIÓN DE LA ZONA DE TOMA DE MUESTRA

Para la caracterización de la zona de toma de muestras se recorrerá toda el área de muestreo por las orillas (evitando el pisoteo del tramo antes de la toma de la muestra) y se considerarán los siguientes pasos:

- 1) **Caracterización según condiciones hidrológicas.** Se identificará la presencia de los siguientes tipos de velocidad de flujo, definiendo el porcentaje de ocupación de cada uno de ellos en el tramo de muestreo:
 - Muy rápido: Flujo turbulento con formación de espuma.
 - Rápido: Flujo turbulento sin formación de espumas.
 - Moderado: Flujo laminar de alta velocidad con ondulación superficial pequeña y simétrica.
 - Reducido: Flujo laminar de baja velocidad y sin ondulaciones.
 - Nula: ausencia de flujo.
- 2) **Caracterización en función de la profundidad y los hábitats fluviales.** Las áreas hidrológicas identificadas en el primer paso se caracterizarán en función de la profundidad y del hábitat (sustrato y vegetación) y se les asignará un rango de representación (<15%; 15-50% y >50%).
 - **Profundidad:** Se valorarán cuatro categorías: Muy somera: < 15 cm; Somera: ≥ 15 - 50 cm; Media: ≥ 50 – 100 cm, Profunda: ≥ 100 cm.
 - **Hábitats fluviales:**
 - Sustrato continuo: referido a roca madre, travertinos y arcillas.
 - Sustrato fragmentado: bloques, cantos rodados, guijarros y gravas.
 - Sustratos finos: arenas y gravas.
 - Vegetación de cobertura: briófitos acuáticos y algas (filamentosas, enteromorfas, etc.).
 - Vegetación macrofítica: macrófitos emergentes, flotantes y sumergidos.
 - Vegetación de ribera: elementos asociados a esta como raíces, vegetación sobre el cauce y detritos vegetales (hojarasca, ramas de diferente calibre, troncos, etc.).

La selección de los puntos donde realizar los esfuerzos o unidades de muestreo (kicks) tendrá en cuenta, en primer lugar, la representación de los tipos de velocidad de flujo presentes, y en segundo lugar, los tipos de hábitats (sustratos, vegetación acuática y ribera) y la profundidad. En el caso de lecho desnudo, se evitará la toma de muestras sobre roca madre.

El muestreo de una estación queda establecido por 4 o 5 kicks según la anchura:

- Para ríos de anchura de canal media <10 m se realizarán 4 kicks y una representatividad mínima del tipo de flujo del 25%.
- Para ríos de anchura de canal media ≥10 m se realizarán 5 kicks y una representatividad mínima del tipo de flujo del 20%.

Los tipos de velocidad de flujo con representación superior o igual al 20 o 25%, según corresponda realizar 5 o 4 kicks respectivamente, se consideran dominantes y los inferiores a estos porcentajes se consideran minoritarios. En el caso de hábitats minoritarios (10-15%) el ajuste de kicks se realizará combinando en un único kick dos hábitats.



Si existen desajustes entre los kicks previstos y los que se han podido muestrear (problemas de vadeabilidad o accesibilidad, subdivisión de hábitats, etc.), se deberán reflejar en la hoja de campo.

Los problemas de accesibilidad o visibilidad pueden impedir la identificación y cuantificación de los hábitats presentes antes de iniciar el proceso de recogida de la muestra. En tal caso, el muestreador los valorará y seleccionará durante la recogida de las muestras. Al finalizar la toma de la muestra toda modificación quedará registrada en la ficha de campo.

Los programas de vigilancia ambiental aplicados a algunas actividades (industriales, construcción, etc.) en los que se especifica la necesidad de valorar el impacto producido en función del elemento macroinvertebrados bentónicos, presentan algunas particularidades en lo que se refiere a la delimitación de las zonas de toma de muestras, en ocasiones muy condicionada por las circunstancias que concurren (necesidad de aislar el impacto, accesibilidad, requerimientos del cliente,...), y que obligan a fijar una longitud de tramo de toma de muestras diferente al que se derivaría de la aplicación del presente protocolo. Esta modificación no afectaría ni al nº de kicks (siempre en función de la anchura) ni a los hábitats a muestrear.

5.4. PROCEDIMIENTO DE RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras se recogerán mediante una red de mano tipo Kicker de 25 x 25 cm y red de nylon de 50 cm de largo y 500 µm de tamaño de poro.

En general, en cada kick o unidad de muestreo se lleva a cabo la remoción del sustrato situado en los 0,5 m por delante de la boca del Kicker, cuya anchura es de 0,25 m. Por tanto, el área muestreada por unidad es de 0,125 m² y el área resultante de las 4 o 5 unidades que se realizan será de 0,5 o 0,625 m², respectivamente.

La recogida de muestras se realizará remontando el río, procurando abarcar toda la sección sagital del cauce y cubriendo los hábitats seleccionados.

La técnica de toma de muestra dependerá del régimen fluvial y de la profundidad:

- Régimen lóxico (velocidad de flujo muy rápida, rápida y moderada):
 - Con suficiente profundidad, la muestra se obtendrá colocando la red contra el fondo, y el muestreador en contra de la corriente y delante de la red, removerá el sustrato con los pies en una longitud de 0,5 m.
 - En aguas más someras, se utilizarán las manos para examinar y desprender los organismos adheridos al sustrato y para remover el sedimento fino y desalojar los organismos que pudieran estar presentes.
- Régimen léxico (velocidad de flujo reducida y nula)
 - Con suficiente profundidad, el sustrato de una superficie de 0,25 x 0,5 m se removerá con los pies para suspender en la columna de agua los organismos que se capturarán mediante pasadas de red.
 - En zonas más someras se apoyará la red sobre el fondo, se removerá el sustrato con las manos, a favor de corriente, y el material puesto en suspensión se impulsará hacia la red.

La técnica de muestreo también se adapta al tipo de hábitat:

- Sustratos duros. Se muestrearán removiendo con pies o manos gravas, guijarros, cantos y bloques; los organismos puestos en suspensión se recogerán con la red que, situada aguas abajo, estará apoyada contra el suelo.



- Detritos vegetales. Se muestrearán removiendo con pies o manos los depósitos de detritos (hojarasca, troncos de diferente calibre), manteniendo la red aguas abajo (con corriente) o pasando la red sobre ellos (en aguas lentas) para recolectar los organismos en suspensión.
- Orillas vegetadas (orillas con raíces y plantas emergentes). Con la red situada aguas abajo, se agitarán las raíces de un tramo de 0,5 m y se recogerán los organismos en suspensión o arrastrados por la corriente.
- Macrófitos sumergidos. Se muestrearán pasando la red por la vegetación desde el lecho (donde enraíza) hasta la superficie del agua (máximo de 0,5 m). En aguas someras, se muestrearán agitando las plantas a lo largo de 0,5 m, y recogiendo en la red los organismos en suspensión o arrastrados por la corriente. Se evitará poner en suspensión el sedimento.
- Arena y otros sedimentos finos. Se muestrearán las zonas de deposición de sedimentos no vegetados, que se agitarán para incluir el material en suspensión en la red, a lo largo de 0,5 m. Se evitará arrastrar la red a través de los sedimentos blandos para reducir la cantidad de restos en las muestras.

Antes de cada esfuerzo de muestreo se intentarán capturar los macroinvertebrados que viven en la superficie del agua o sumergidos.

Tras cada esfuerzo, se observa la muestra en la red y se retiran, previo lavado, piedras y trozos grandes de detritos, evitando en todo momento la pérdida de invertebrados de la muestra.

5.5. CONSERVACIÓN, ETIQUETADO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Una vez introducida la muestra en uno o varios recipientes herméticos, se añadirá el conservante bien formaldehído⁸ al 4% o alcohol etílico al 70%.

Todos los recipientes utilizados para la muestra se identificarán con etiqueta adhesiva en la que se indicará, al menos, el código de la estación de muestreo, la fecha y hora de muestreo, el número de la ficha de campo asociada, el elemento objeto de muestreo (macroinvertebrados), el número de recipiente sobre el total (ej.: 1/3) y el laboratorio de destino.

En el transporte de las muestras del campo al laboratorio se tomarán las medidas necesarias para evitar la rotura de los recipientes de muestra, la liberación de vapores y el deterioro de la etiqueta.

El almacenaje se realizará en neveras o cajas con tapa, a temperatura ambiente y evitando la exposición prolongada al sol.

5.6. FICHA DE CAMPO

Los datos de la toma de muestras se anotarán en una ficha de campo en la que como mínimo se recogerán los siguientes datos:

- Código de la estación, río, cuenca, coordenadas UTM-ETRS89 y alguna referencia concreta de su ubicación y/o localidad próxima
- Localización del área de muestreo mediante coordenada UTM-ETRS89 de inicio, y final y alguna referencia asociada, y a sus dimensiones (longitud del tramo y anchura húmeda y profundidad de la lámina de agua).

⁸ El formaldehído es tóxico y su uso requiere la aplicación de medidas de seguridad. En el campo se trabajará al aire libre, con guantes, se evitarán derrames y se usarán recipientes herméticos adecuados.



- Otras circunstancias que puedan facilitar la interpretación de resultados, tales como evidencias de contaminación, actuaciones en el cauce, alteraciones por crecidas o sequías prolongadas, etc...
- Fecha y hora de la toma de muestra, identificación de equipo de muestreo, agente muestreador y número de kicks recogidos.
- Porcentaje de ocupación de los diferentes hábitats de muestreo en función de la velocidad: muy rápida, rápida, moderada, reducida y nula; en función de los hábitats: sustratos duros, vegetación y ribera; y en función de la profundidad.
- Croquis de la estación con indicación de la ubicación y cobertura aproximada de los distintos hábitats.
- Número de unidades de muestreo que se asigne a cada hábitat; y en su caso observaciones relativas a desajustes entre los esfuerzos previstos y los que se han podido muestrear (problemas de vadeabilidad o accesibilidad, subdivisión de hábitats, etc.)
- Registro de la captura de macroinvertebrados esquivos (de superficie o sumergidos) en los hábitats muestreados y la relación de ejemplares liberados.
- Número de botes, identificadores y conservante utilizado.

6. PROTOCOLO DE ANÁLISIS

El procedimiento de ensayo implica separación, identificación y recuento de los especímenes presentes en la muestra recogida según el apartado □ de este documento.

El objetivo es la elaboración de un listado con la abundancia de los taxones de macroinvertebrados bentónicos presentes en la muestra

6.1. EQUIPOS Y CONSERVANTES

- Máscara de protección respiratoria con filtros específicos para compuestos orgánicos (por el uso de formaldehído para conservar las muestras).
- Gafas de protección ante salpicaduras.
- Guantes de goma impermeables
- Tamices de acero inoxidable de 0,5 mm de luz de malla de varios diámetros.
- Bandejas de plástico blancas.
- Lupa binocular de hasta 80x.
- Lupa frontal binocular con luz de 1,2-3,5x.
- Alcohol etílico (C₂H₅OH) al 70%.
- Pipetas desechables.
- Placas Petri de diversos diámetros.
- Pinzas entomológicas.
- Espátulas de silicona para el submuestreo
- Viales de vidrio y otros recipientes plásticos con tapones herméticos.
- Rotulador permanente, bolígrafo y/o lápiz.



- Ficha de Identificación de laboratorio que permita como producto final establecer un listado taxonómico con los taxones presentes en la muestra y sus abundancias
- Material necesario para la identificación de los recipientes que contienen las muestras una vez identificadas, así como para la de los ejemplares para la colección interna de macroinvertebrados: etiquetas, papel cebolla, tijeras, etc.

Para el trabajo de laboratorio se deberán tomar todas aquellas medidas necesarias para garantizar que los trabajos se desarrollan en unas condiciones adecuadas de seguridad e higiene.

6.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra se volcará sobre un tamiz de 0,5 mm de luz para su lavado con abundante agua hasta que desaparezca el conservante.

El lavado se realizará con los equipos de protección necesarios, guantes largos, y en el caso de muestras conservadas en formol, gafas y mascarilla para orgánicos volátiles.

La muestra se pasará del tamiz a una bandeja para eliminar el material inorgánico (arenas y gravas) mediante lavados sucesivos (elutriación). Este proceso se repetirá tantas veces como sea necesario.

Posteriormente, el material orgánico se depositará sobre el mismo tamiz, se homogenizará y, en función de la cantidad de material y la densidad aparente de individuos, se dividirá en un número determinado de **submuestras** (2, 4 o 8).

6.3. IDENTIFICACIÓN Y RECUESTO

Identificación

El nivel de identificación taxonómica dependerá del índice MB que se quiera determinar. En el caso del MBi el nivel taxonómico será género o similar (ver Anexo I) y en el caso del MBf será de familia.

La identificación de los organismos se realizará mediante la observación de características morfológicas, utilizando una lupa binocular y siguiendo guías de identificación^{9, 10 y 11} que permitan alcanzar el nivel taxonómico requerido en función del sistema de evaluación a utilizar.

El nivel taxonómico exigido se cumplirá siempre que el estado del ejemplar lo permita. Cuando no sea así, ya sea por el mal estado del ejemplar o por el estadio en que se encuentre, se determinará el nivel taxonómico que sea posible.

Recuento de especímenes

Se elegirá de forma aleatoria una de las submuestras (apartado 6.2) y en ella se realizará la identificación y recuento de especímenes.

Para hacer más cómoda y efectiva la separación e identificación a la lupa, la submuestra se subdivide en **fracciones** (1/2, 1/4, 1/8, 1/16).

En el caso de que en la fracción analizada se detecten al menos 20 individuos de un taxón, se permite no realizar el recuento de ese taxón en fracciones sucesivas. El número total de individuos

9 ID-TAX Catálogo y claves de identificación de organismos utilizados en redes de control del estado ecológico en aguas continentales. (Macroinvertebrados) publicado por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 31/05/2012.

10 Oscoz, Javier; David Galicia y Rafael Miranda, 2009. Macroinvertebrados de la Cuenca del Ebro descripción de taxones y guía de identificación. Universidad de Navarra. 55 pp

11 Guía taxonómica: INVERTEBRÉS D'EAU DOUCE. Systematique, biologie, ecologie. HENRY TACHET CNRS Editions, Paris 2010.



de dicho taxón se calculará multiplicando el número de individuos contabilizados, por el inverso de la fracción analizada.

Si en la submuestra seleccionada no se alcanza un recuento de 500 individuos, se tomarán submuestras sucesivas hasta alcanzar este recuento mínimo. y se procede de la misma manera.

Una vez analizada la submuestra o submuestras seleccionadas y para poder completar el listado y ajustar los recuentos, las submuestras restantes (resto) se colocarán en bandejas con agua y se inspeccionará *de visu* con la ayuda de una lupa frontal binocular, para extraer los individuos que cumplan los siguientes criterios:

- Taxones nuevos que no hayan aparecido en la submuestra analizada.
- Taxones ya detectados: taxones de mayor tamaño y fácilmente identificables *de visu* y que se encuentren poco representados en la totalidad de la muestra.
- Una vez inspeccionado todo el resto, se determina si existen, entre los taxones identificados en la submuestra, algunos de los fácilmente identificables *de visu*, que estarían totalmente contabilizados al no encontrarse más ejemplares en el resto.

Los datos generados se integran en la Ficha de Identificación del Laboratorio.

Una selección de ejemplares de cada uno de los taxones identificados se guardará en alcohol etílico al 70%, debidamente identificado por una etiqueta que especifique el código de identificación de la muestra, la fecha de la toma de muestra y fecha del análisis en el laboratorio. Esta muestra se almacenará en un lugar seco, a temperatura ambiente y protegido de la luz, por un periodo no inferior a 3 meses desde la fecha del análisis.

6.4. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Partiendo del listado taxonómico y del número de individuos asociado a cada taxón, se calcula su densidad en el medio.

Densidad (ind/m²): = ((A*F) +N) / (K*0,125)

- A es el número de ejemplares de un taxón en la fracción de la muestra analizada;
- F es el número de fracciones en que se dividió la muestra total;
- N es el número de individuos de un taxón adicionales o nuevos;
- K es el número de unidades de esfuerzo Kick que se realizaron en campo;
- 0,125 es la superficie (m²) que se ve afectada en cada unidad de esfuerzo.

Después, se procede con la incorporación de otros datos de la siguiente manera:

- Recuento en el resto. Aplicar F=1 en los siguientes casos:
 - Taxones ya detectados: se suman al total de individuos en A.
 - Taxones nuevos: se añade el número de individuos en A.
 - Taxones con individuos totales identificados en la submuestra.
- Otros taxones obtenidos de la ficha de campo y datos a incluir: sean nuevos o ya detectados en la muestra, se incorporan en N.

Una vez obtenidos los datos de densidad por taxón, en muestras procedentes de estaciones con baja o muy baja calidad podrán eliminarse aquellos taxones de alta valencia ecológica (8 o 10



puntos según IBMWPb) cuya densidad sea menor a 1 ind m^{-2} , dado que es muy probable que procedan de tributarios o tramos superiores con mejor calidad.

7. SISTEMA DE EVALUACIÓN: ÍNDICES MB (MBi Y MBf)

Para las tipologías especificadas en el apartado 2, siempre que los protocolos de muestreo y de análisis se correspondan con los especificados en el apartado 5 y 6 de este protocolo, pueden aplicarse los índices MB.

Los índices MB son índices multimétricos contruidos como una media simple de una combinación de métricas referenciadas; es decir, de los valores de Ratio de Calidad Ecológica (RCE = Valor Observado / Valor de Referencia) de determinadas métricas seleccionadas por dar la mejor respuesta a un gradiente de presiones y asimismo demostrar su eficacia en la discriminación entre sitios de referencia y sometidos a combinaciones de presiones. La determinación y cuantificación del MB implica:

- Elaboración de un listado con la abundancia de los taxones de macroinvertebrados bentónicos presentes en la muestra (apartados 6).
- Cálculo de las métricas que integran los índices MB y de sus Ratios de Calidad Ecológica
- Cálculo de los índices MB y asignación a una clase de calidad

Los índices MB (MBi y MBf) requieren la determinación de las siguientes métricas:

- **NbTaxgen**: Número de taxones totales al nivel taxonómico especificado en Anexo I de este documento). Requerido para el índice **MBi**.
- **NbTaxfam**: Número de taxones totales a nivel de familia. Requerido para el índice **MBf**.
- **NbTaxfamEPT**: Número de taxones a nivel de familia de los órdenes *Ephemeroptera*, *Plecoptera* y *Trichoptera*.
- **ASelETD'**: abundancia de una selección de 29 familias de *Ephemeroptera*, *Trichoptera* y *Diptera*. Requiere transformación logarítmica a escala logarítmica ($\log_{10}(x+1)$). La selección de familias se corresponde con las siguientes: *Dixidae*, *Empididae*, *Stratiomyidae*, *Dolichopodidae*, *Athericidae*, *Ephemerellidae*, *Ephemeridae*, *Heptageniidae*, *Leptophlebiidae*, *Oligoneuriidae*, *Polymitarcyidae*, *Potamanthidae*, *Siphonuridae*, *Beraeidae*, *Brachycentridae*, *Glossosomatidae*, *Goeridae*, *Hydroptilidae*, *Lepidostomatidae*, *Leptoceridae*, *Limnephilidae*, *Molannidae*, *Odontoceridae*, *Philopotamidae*, *Phryganeidae*, *Polycentropodidae*, *Psychomyiidae*, *Rhyacophilidae* y *Sericostomatidae*.
- **ASelEPTD**. abundancia de una selección de 14 familias de *Ephemeroptera*, *Plecoptera*, *Trichoptera* y *Diptera*. Requiere transformación logarítmica a escala logarítmica ($\log_{10}(x+1)$). La selección de familias se corresponde con las siguientes: *Heptageniidae*, *Ephemeridae*, *Brachycentridae*, *Goeridae*, *Odontoceridae*, *Limnephilidae*, *Polycentropodidae*, *Athericidae*, *Dixidae*, *Dolichopodidae*, *Empididae*, *Stratiomyidae*, *Eptophlebiidae* y *Nemouridae*.



- Iberian Biological Monitoring Working Party^{12,13} adaptado a los ríos vascos (**IBMWPb**). Cálculo de la suma de puntuaciones especificadas en el Anexo II a las familias presentes en la muestra.
- **NbTaxfamSeIETD**: Número de taxones a nivel de familia de una selección de 12 familias de los órdenes *Ephemeroptera*, *Trichoptera* y *Diptera*. La selección de familias se corresponde con las siguientes: *Heptageniidae*, *Ephemeridae*, *Brachycentridae*, *Goeridae*, *Odontoceridae*, *Limnephilidae*, *Polycentropodidae*, *Athericidae*, *Dixidae*, *Dolichopodidae*, *Empididae* y *Stratiomyidae*.

Los RCE de las métricas asociadas los índices MB se calculan dividiendo el valor individual de cada métrica asociada a una muestra, por el valor de condición de referencia del tipo al que se asocie la masa de agua objeto de estudio (Tabla 1).

Los índices MB se calculan como un promedio de los RCE de las métricas que los componen. Este valor se expresará con dos decimales.

Los RCE de los índices MB se calculan dividiendo el valor obtenido, por el valor de condición de referencia del tipo al que se asocie la masa de agua objeto de estudio (Tabla 2).

Los RCE de los índices MB se comparan con los límites entre clases de estado de la Tabla 2, permitiendo así la asignación de clase de estado para el elemento fauna bentónica de invertebrados según los índices MB.

Adicionalmente y para una evaluación pormenorizada, se proponen límites de clase de las métricas de los índices MB (Tabla 3).

Tipología	R-T22	R-T23	R-T30	R-T32	R-T29	R-T26	R-T12	R-T15
NbTaxgen	42	37	42	38	38	40	33	33
NbTaxfam	32	30	33	28	28	32	27	27
NbTaxfamEPT	13	13	13	12	12	13	10	10
IBMWPb	200	182	209	163	163	174	141	141
NbTaxfamSeIETD	6	5	5	4	4	6	5	5
ASelETD'	2,89	2,87	3,16	2,85	2,85	3,23	2,87	2,87
ASelEPTD	2,69	2,71	2,87	2,78	2,78	3,1	2,63	2,63

Tabla 1 Condiciones de referencia para las métricas que integran los índices MB

		R-T22	R-T23	R-T30	R-T32	R-T29	R-T26	R-T12	R-T15	
MBi	Condiciones de referencia	1	0,99	0,98	1,03	1,03	1	0,95	0,95	
	Límites de cambio de clase (RCE)	Muy Bueno-Buena	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,93	0,93	0,93
		Buena-Moderado	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,70	0,70	0,70
		Moderado-Deficiente	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,47	0,47	0,47
		Deficiente-Malo	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
MBf	Condiciones de referencia	1,01	1	1,01	1,02	1,02	0,97	0,99	0,99	
	Límites de cambio de clase (RCE)	Muy Bueno-Buena	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,93	0,93	0,93
		Buena-Moderado	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,69	0,69	0,69
		Moderado-Deficiente	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,46	0,46	0,46
		Deficiente-Malo	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23

Tabla 2 Condiciones de referencia de los índices MB y límites de cambio de clase, expresados como RCE.

12 Alba-Tercedor, J. & A. Sánchez-Ortega (1988). Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnetica* 4, pp 51-56

13 Alba-Tercedor, J., Caracterización del estado ecológico de ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWPP[®]). *Limnetica*, 2002. 21: p. 175-186.



Tipología	Limite de cambio de clase	Composición taxonómica			Relación entre taxones sensibles y tolerantes		Abundancia	
		Nb Taxgen	Nb Taxfam	NbTaxfam EPT	IBMWPb	NbTaxfam SeIETD	ASeIETD	ASeIEPTD
R-T22, R-T23, R-T30, R-T32 y R-T29	Muy Bueno-Bueno	0,91	0,93	0,85	0,88	0,80	0,93	0,89
	Bueno-Moderado	0,68	0,70	0,63	0,66	0,60	0,70	0,66
	Moderado-Deficiente	0,46	0,46	0,42	0,44	0,40	0,46	0,44
	Deficiente-Malo	0,23	0,23	0,21	0,22	0,20	0,23	0,22
R-T26, R-T12 y R-T15	Muy Bueno-Bueno	0,91	0,88	0,90	0,92	0,80	0,91	0,91
	Bueno-Moderado	0,68	0,66	0,68	0,69	0,60	0,68	0,68
	Moderado-Deficiente	0,45	0,44	0,45	0,46	0,40	0,46	0,45
	Deficiente-Malo	0,23	0,22	0,23	0,23	0,20	0,23	0,23

Tabla 3 Límites de cambio de clase, expresadas como RCE, para las métricas de los Índices MB.

De forma transitoria y a falta de estudios al respecto, en el caso de las masas de agua muy modificada asociadas a la categoría ríos, se considera que el valor del límite entre las clases de estado 'Máximo Potencial Ecológico' y 'Buen Potencial Ecológico', así como entre el 'Buen Potencial Ecológico' y el 'Potencial Ecológico Moderado' como un 85% de los valores RCE establecidos en la Tabla 2¹⁴.

¹⁴ Anejo VIII Seguimiento y evaluación del estado. Plan Hidrológico de la Parte española de la Demarcación Hidrográfica del Cantábrico Oriental correspondiente al ciclo 2015-2021. Aprobado mediante el Real Decreto 1/2016.



Anexo I NIVEL TAXONÓMICO MÁXIMO DE IDENTIFICACIÓN APLICABLE AL ÍNDICE MBI

Phylum PLATYHELMINTHES	
DENDROCOELIDAE	Genero
DUGESIIDAE	Genero
PLANARIIDAE	Genero
Phylum NEMATODA	
MERMITHIDAE	Familia
Phylum NEMATOMORPHA	
GORDIIDAE	Genero
Clase BRANCHIOBELLEA	
BRANCHIOBELLEIDAE	Genero
Clase OLIGOCHAETA	
OLIGOCHAETA	Clase
Clase HIRUDINEA	
ERPOBELLEIDAE	Genero
GLOSSIPHONIIDAE	Genero
HAEMOPIIDAE	Genero
HIRUDINIDAE	Genero
PISCICOLIDAE	Genero
ACROLOXIDAE	Genero
BITHYNIIDAE	Genero
HYDROBIIDAE	Genero
LYMNAEIDAE	Genero
NERITIDAE	Genero
PHYSIDAE	Genero
PLANORBIDAE	Genero
VALVATIDAE	Genero
VIVIPARIDAE	Genero
Clase BIVALVIA	
DREISSENIDAE	Genero
SPHAERIDAE	Genero
UNIONIDAE	Genero
Subphylum CRUSTACEA	
OSTRACODA	Clase
ASELLIDAE	Genero
ATYIDAE	Genero
GAMMARIDAE	Genero
PALAEONIDAE	Genero
Clase ARACHNIDA	
ACARIFORMES	Superorden
Orden EPHEMEROPTERA	
BAETIDAE	Genero
CAENIDAE	Genero
EPHEMERELLIDAE	Genero
EPHEMERIDAE	Genero
HEPTAGENIDAE	Genero
LEPTOPHLEBIIDAE	Genero
OLIGONEURIIDAE	Genero
POLYMITARCYIDAE	Genero
POTAMANTHIDAE	Genero
SIPHONURIDAE	Genero
Orden LEPIDOPTERA	
PYRALIDAE	Familia
Orden HYMENOPTERA	
ICHNEUMONIDAE	Genero

Orden PLECOPTERA	
CAPNIIDAE	Genero
CHLOROPERLIDAE	Genero
LEUCTRIDAE	Genero
NEMOURIDAE	Genero
PERLIDAE	Genero
PERLODIDAE	Genero
TAENIOPTERYGIDAE	Genero
Orden ODONATA	
AESHNIDAE	Genero
CALOPTERYGIDAE	Genero
COENAGRIONIDAE	Genero
CORDULEGASTRIDAE	Genero
CORDULIDAE	Genero
GOMPHIDAE	Genero
LESTIDAE	Genero
LIBELLULIDAE	Genero
PLATYCNEMIDIDAE	Genero
Orden HETEROPTERA	
APHELOCHEIRIDAE	Genero
CORIXIDAE	Genero
GERRIDAE	Genero
HEBRIDAE	Genero
HYDROMETRIDAE	Genero
MESOVELIIDAE	Genero
NAUCORIDAE	Genero
NEPIDAE	Genero
NOTONECTIDAE	Genero
PLEIDAE	Genero
VELLIDAE	Genero
Orden MEGALOPTERA	
SIALIDAE	Genero
Orden NEUROPTERA	
OSMYLIDAE	Genero
SISYRIDAE	Genero
Orden COLEOPTERA	
CHRYSOMELIDAE	Familia
CURCULIONIDAE	Familia
DRYOPIDAE	Genero
DYTISCIDAE	Genero
ELMIDAE	Genero
GYRINIDAE	Genero
HALIPLIDAE	Genero
HELOPHORIDAE	Genero
HYDRAENIDAE	Genero
HYDROCHIDAE	Genero
HYDROPHILIDAE	Genero
HYGROBIIDAE	Genero
HYGROPHIDAE	Genero
NOTERIDAE	Genero
PSEPHENIDAE	Genero
SCIRTIDAE	Genero

Orden TRICHOPTERA	
BRACHYCENTRIDAE	Genero
CALAMOCERATIDAE	Genero
GLOSSOSOMATIDAE	Genero
GOERIDAE	Genero
HYDROPSYCHIDAE	Genero
HYDROPTILIDAE	Genero
LEPIDOSTOMATIDAE	Genero
LEPTOCERIDAE	Genero
LIMNEPHILIDAE	Genero
MOLANNIDAE	Genero
ODONTOCERIDAE	Genero
PHILOPOTAMIDAE	Genero
PHRYGANEIDAE	Genero
POLYCENTROPODIDAE	Genero
PSYCHOMYIDAE	Genero
RHYACOPHILIDAE	Genero
SERICOSTOMATIDAE	Genero
UENOIDAE	Genero
Orden DIPTERA	
ANTHOMYIDAE	Familia
ATHERICIDAE	Genero
BLEPHARICERIDAE	Genero
CERATOPOGONIDAE	Subfamilia
CHAOBORIDAE	Genero
CHIRONOMIDAE	Familia
Sf. TANYPODINAE	Subfamilia
Sf. DIAMESINAE	Subfamilia
Sf. PRODIAMESINAE	Subfamilia
Sf. ORTHOCLADIINAE	Subfamilia
Sf. CHIRONOMINAE	Tribu
CULICIDAE	Subfamilia
DIXIDAE	Genero
DOLICHOPODIDAE	Familia
EMPIDIDAE	Subfamilia
EPHYDRIDAE	Familia
LIMONIIDAE	Genero
MUSCIDAE	Familia
PEDICIDAE	Genero
PSYCHODIDAE	Familia
PTYCHOPTERIDAE	Genero
RHAGIONIDAE	Familia
SCATOPHAGIDAE	Familia
SCIOMYCIDAE	Familia
SIMULIDAE	Familia
STRATIOMYIDAE	Familia
SYRPHIDAE	Familia
TABANIDAE	Familia
THAUMALEIDAE	Familia
TIPULIDAE	Familia



Anexo II PUNTUACIONES DEL ÍNDICE IBMWPb

OLIGOCHAETA	
OLIGOCHAETA	1
TURBELLARIA	
DENDROCOELIDAE	5
DUGESIIDAE	5
PLANARIIDAE	5
CRUSTACEA	
ASELLIDAE	3
ASTACIDAE ¹⁵	8
ATYIDAE	6
GAMMARIDAE	6
OSTRACODA	3
PALAEMONIDAE	6
HIRUDINEA	
ERPOBDELLIDAE	3
GLOSSIPHONIIDAE	3
HIRUDIDAE	3
HAEMOPIIDAE ¹⁶	3
PISCICOLIDAE	4
BIVALVIA	
SPHAERIIDAE	3
UNIONIDAE	6
GASTROPODA	
ACROLOXIDAE	6
<i>Ancylus</i> sp. ¹⁷	6
BITHYNIIDAE	3
<i>Ferrissia</i> sp. ¹⁸	6
HYDROBIIDAE	3
LYMNAEIDAE	3
NERITIDAE	6
PHYSIDAE	3
PLANORBIDAE ¹⁹	3
VALVATIDAE	3
VIVIPARIDAE	6
PLECOPTERA	
CAPNIIDAE	10
CHLOROPERLIDAE	10
LEUCTRIDAE	10
NEMOURIDAE	7
PERLIDAE	10
PERLODIDAE	10
TAENIOPTERYGIDAE	10
MEGALOPTERA	
SIALIDAE	4
LEPIDOPTERA	
PYRALIDAE	4

EPHEMEROPTERA	
BAETIDAE	4
CAENIDAE	4
EPHEMERELLIDAE	7
EPHEMERIDAE	10
HEPTAGENIIDAE	10
LEPTOPHLEBIIDAE	10
OLIGONEURIIDAE	5
POLYMITARCYIDAE	5
POTAMANTHIDAE	10
SIPHONURIDAE	10
ODONATA	
AESHNIDAE	8
CALOPTERYGIDAE	8
COENAGRIONIDAE	6
CORDULEGASTRIDAE	8
CORDULIIDAE	8
GOMPHIDAE	8
LESTIDAE	8
LIBELLULIDAE	8
PLATYCNEMIDIDAE	6
HETEROPTERA	
APHELOCHEIRIDAE	10
CORIXIDAE	3
GERRIDAE	3
HYDROMETRIDAE	3
MESOVELIIDAE	3
NAUCORIDAE	3
NEPIDAE	3
NOTONECTIDAE	3
PLEIDAE	3
VELIIDAE	3
COLEOPTERA	
CHRYSOMELIDAE	4
CURCULIONIDAE	4
DRYOPIDAE	5
DYTISCIDAE	3
ELMIDAE	5
GYRINIDAE	3
HALIPLIDAE	4
HELOPHORIDAE	5
HYDRAENIDAE	5
HYDROCHIDAE ²⁰	5
HYDROPHILIDAE	3
HYGROBIIDAE	3
NOTERIDAE	3
PSEPHENIDAE	3
SCIRTIDAE	3

DIPTERA	
ANTHOMYIIDAE	4
ATHERICIDAE	10
BLEPHARICERIDAE	10
CERATOPOGONIDAE	4
CHIRONOMIDAE	2
CULICIDAE	2
DIXIDAE	4
DOLICHOPODIDAE	4
EMPIDIDAE	4
EPHYDRIDAE	2
LIMONIIDAE	4
MUSCIDAE	4
PEDICIIDAE ²¹	4
PSYCHODIDAE	4
PTYCHOPTERIDAE	4
RHAGIONIDAE	4
SCATOPHAGIDAE	4
SCIOMYZIDAE	4
SIMULIIDAE	5
STRATIOMYIDAE	4
SYRPHIDAE	1
TABANIDAE	4
THAUMALEIDAE	2
TIPULIDAE	5
TRICHOPTERA	
BERAEIDAE	10
BRACHYCENTRIDAE	10
CALAMOCERATIDAE	10
ECNOMIDAE	7
GLOSSOSOMATIDAE	8
GOERIDAE	10
HYDROPSYCHIDAE	5
HYDROPTILIDAE	6
LEPIDOSTOMATIDAE	10
LEPTOCERIDAE	10
LIMNEPHILIDAE	7
MOLANNIDAE	10
ODONTOCERIDAE	10
PHILOPOTAMIDAE	8
PHRYGANEIDAE	10
POLYCENTROPODIDAE	7
PSYCHOMYIIDAE	8
RHYACOPHILIDAE	7
SERICOSTOMATIDAE	10
UENOIDAE	10
ARACHNIDA	
ACARIFORMES	4

15 Excepto *Pacifastacus leniusculus* por ser especie invasora y aconsejable su eliminación (RD 630/2013)
16 Sólo puntúa si no aparece la familia *Hirudidae*.

17 La familia *Ancylidae* ha pasado a ser Género *Ancylus* de la familia *Planorbidae*.

18 La familia *Ferrissidae* ha pasado a ser Género *Ferrissia* de la familia *Planorbidae*.

19 Todos los géneros excepto *Ancylus* sp. y *Ferrissia* sp..

20 Considerada subfamilia de la familia *Hydrophilida*

21 Sólo puntúa si no aparece la familia *Limoniidae*