

Resumen

Se propone un método para la toma de muestras de diatomeas epifitas en lagos y lagunas con el fin de aplicar dichas comunidades algales en la determinación del estado ecológico de estos sistemas acuáticos de acuerdo con los requisitos de la Directiva Marco del Agua. La metodología se basa en el empleo de muestreadores tipo Kornijów para la recolección del epifiton desarrollado sobre helófitos. Los resultados preliminares muestran la eficacia de este método en la evaluación de la calidad del agua. La aplicación de esta sencilla metodología permite el empleo de las diatomeas epifitas como indicadores biológicos de los medios lacustres, generando resultados reproducibles en el tiempo y basados en un protocolo común fácilmente aplicable.

Palabras clave:

Directiva Marco del Agua, fitobentos, diatomeas, epifiton, lagunas, helófitos, bioindicadores.

Abstract

Method for the use of epiphytic diatoms in lakes following the requirements of the Water Framework Directive

We propose a sampling method for the use of epiphytic diatoms as water quality indicators in lakes. This methodology will help in the assessment of ecological status in these aquatic systems following the requirements of the Water Framework Directive. The method is based on the use of Kornijów's samplers for the collection of epiphyton growing on helophytes. Preliminary results show the efficacy of this method for the evaluation of water quality. The application of this simple methodology will allow the use of epiphytic diatoms as biological indicators in a wide range of lacustrine environments, creating reproducible results in the long time and based on a common protocol easily applicable.

Keywords:

Water Framework Directive, phyto-benthos, diatoms, epiphyton, lakes, helophytes, bioindicators.

Método de muestreo de diatomeas epifitas en lagunas para la aplicación de la Directiva Marco del Agua

Por: Saúl Blanco Lanza; Eloy Bécas Mantecón

Universidad de León
Área de Ecología
Campus de Vegazana, s/n - 24071 León
Tel: 987 291 565 - Fax: 987 291 409
E-mail: degsbl@unileon.es

1. Introducción

La Directiva Marco del Agua de la Unión Europea (Directiva 2000/60/EC, Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea 2000) es un marco legislativo destinado a proteger y mejorar los sistemas acuáticos (ríos, lagos, aguas subterráneas, aguas costeras y de transición) dentro de la Unión Europea, estableciendo la necesidad de determinar el estado ecológico de todas las masas de agua siguiendo criterios científicos comunes. La Directiva contempla el análisis de diferentes comunidades de organismos como indicadores del estado ecológico de los ecosistemas acuáticos. Entre los bioindicadores propuestos las algas bentónicas ocupan un lugar destacado, y dentro de este grupo las diatomeas (Bacilariófitos) reúnen una serie de características fisiológicas y ecológicas que las convierten en los organismos idóneos para su empleo como indicadores biológicos entre las que cabe citar:

- Constituir un grupo muy diversificado, distribuyéndose sobre

una gran variedad de ambientes acuáticos por todo el mundo.

- Presentar gran sensibilidad frente a la alteración de los parámetros fisicoquímicos del agua, por lo que reflejan con gran precisión las condiciones ambientales del medio en que se han desarrollado.
- Su muestreo, preparación y preservación son relativamente simples, permitiendo la obtención de resultados reproducibles y comparables a largo plazo.

En la actualidad decenas de estudios en Europa avalan la eficacia de los índices biológicos basados en diatomeas y en otras algas para el control del estado ecológico del agua, fundamentalmente en medios lóticos (Whitton et al. 1991, Whitton y Rott 1996, Prygiel et al. 1999). En España existen numerosos estudios de calidad del agua usando índices diatomológicos para la aplicación de la Directiva (Leira y Sabater 2002, Cambra et al. 2003, Gomà et al. 2004, 2005, Blanco et al. 2005b, Ortíz et al. 2005) y se han publicado los primeros métodos normalizados

para ríos (AENOR 2004, 2005). Para sistemas leníticos, sin embargo, no existe aún una metodología común de evaluación mediante bioindicadores a nivel europeo. Especial mención merecen las lagunas someras, las más abundantes en todo el mundo (Wetzel 2001). Estas lagunas se caracterizan por un elevado cociente entre el componente litoral y el pelágico, de forma que la zona de desarrollo de las plantas acuáticas es proporcionalmente mayor, ocupando potencialmente toda su extensión. Adicionalmente, los lagos someros y humedales de tipo mediterráneo presentan una serie de singularidades estructurales y funcionales (Bécas et al. 2004, Romo et al. 2005) que han de tenerse en cuenta para la determinación de su calidad ecológica. En estos sistemas, cuando la vegetación está presente la productividad primaria del epifiton excede a la del fitoplancton (Moss et al. 1996, Scheffer 1998), por lo que esta comunidad constituye un componente biótico especialmente significativo (Ten Cate et al. 1991, McCormick y O'Dell 1996).

El estudio de las diatomeas en sistemas leníticos se ha centrado usualmente en su uso como marcadores paleoambientales (véase una revisión extensa en Stoermer y Smol 1999). Algunos trabajos muestran la aplicabilidad de los índices biológicos basados en diatomeas en el establecimiento del estado ecológico de estos sistemas (Hoffman 1994, Mayer y Galatowitsch 1999, Kitner y Poulícková 2003, Trobajo 2003). Estudios previos en lagos someros y humedales de la Cuenca del Duero demuestran que las diatomeas epifitas parecen ser mejores indicadores de la calidad del agua (Blanco et al. 2004) que los macroinvertebrados bénticos (García-Criado et al. 2005). En este sentido, Blanco et al. (2004, 2005a) han establecido las ventajas del muestreo de diatomeas epifitas sobre vegetación helofítica en medios lacustres para la biomonitorización de estos ecosistemas. Sobre

Se propone una metodología de recolección y procesado de muestras de diatomeas del epifiton para la evaluación de la calidad del agua en lagos y lagunas con vegetación emergente

esta base proponemos en el presente trabajo una metodología de recolección y procesado de muestras de diatomeas del epifiton para la evaluación de la calidad del agua en lagos y lagunas con vegetación emergente.

2. Metodología

Tomando como base el método descrito por Kornijów y Kairesalo (1994) para el muestreo de invertibrados, se ha diseñado una metodología para la obtención y tratamiento de muestras de diatomeas epifitas sobre tallos de helófitos en ambientes leníticos, que consta de los siguientes pasos:

1. Realización de un reconocimiento visual del lago o laguna estimando las coberturas y distribución espacial de las especies de helófitos presentes. Conviene además tomar otros datos, como profundidad, presencia y abundancia de hidrófitos y algas filamentosas, vegetación de la orilla, grado de sombra, etc. La toma de fotografías digitales es de gran utilidad para la interpretación de los resultados, facilitando el trabajo de los siguientes muestreos (localización del punto de muestreo, reconocimiento de posibles cambios, reproducibilidad del protocolo de muestreo, etc.). Es necesario identificar visualmente la especie de helófito más am-

pliamente distribuida dentro del sistema. La especie con mayor cobertura no tiene por qué coincidir con la de mayor distribución espacial, y aunque la situación ideal es aquella en la que la especie dominante está uniformemente distribuida en el lago, deberá priorizarse, en su caso, la de mayor amplitud de distribución.

2. Debe seleccionarse un mínimo de tres puntos de muestreo suficientemente separados entre sí y repartidos por toda la laguna. En general, se recogerán muestras en aquellos puntos que cumplan en lo posible los siguientes requisitos:
 - a. Que el helófito esté formando una mata monoespecífica con el fin de no incluir otras especies no deseadas en el muestreo.
 - b. Que se pueda realizar el muestreo en zonas iluminadas, preferentemente lejos de la orilla.
 - c. Evitar matas demasiado densas (efecto sombra).
 - d. Evitar zonas puntuales no representativas, por ejemplo: entrada de canales, matas conidos, etc.
 - e. Si es posible, evitar las zonas muy someras (< 50 cm).
 - f. Considerar la fenología de cada planta evitando plantas muertas, arrancadas, deterioradas, ramoneadas, etc.
 - g. No muestrear en zonas con sedimento resuspendido, evitando remover el sedimento durante el propio muestreo.
3. Para la recolección de muestras de tallos se usarán muestreadores Kornijów para helófitos (Kornijów y Kairesalo 1994). Estos muestreadores, diseñados inicialmente para la recolección de fauna asociada a la vegetación emergente, son igualmente útiles para el muestreo de epifiton algal, permitiendo recoger muestras relativamente inalteradas (sin agitación) y con un contenido mínimo en fitoplancton. El muestreador es un tubo de metra-

crilato de 4 cm de diámetro interno y unos 50 cm de longitud. Dicho cilindro se acompaña de un bote de diámetro algo mayor, abierto por el fondo y con una malla de luz variable en su extremo anterior (para la recogida de algas no será superior a 25 µm) (Figura 1). Su diseño posibilita además la recolección en cada muestra de diatomeas débilmente adheridas al sustrato (pseudoperifíticas y metafíticas). En cada una de las matas, se recogerán muestras sobre plantas orientadas en exposición Sur, evitando los individuos de zonas en sombra. A fin de muestrear siempre en la zona eufótica, la parte aérea se eliminará cortando cada tallo 5-10 cm por debajo del nivel del agua para evitar la posible influencia del oleaje o cambios recientes de nivel. En cualquier caso no se tomarán muestras sobre partes emergidas de la planta o que presumiblemente lo hubieran estado en algún momento reciente (4-6 semanas). También se evitará tomar muestras tras crecidas, inundaciones,

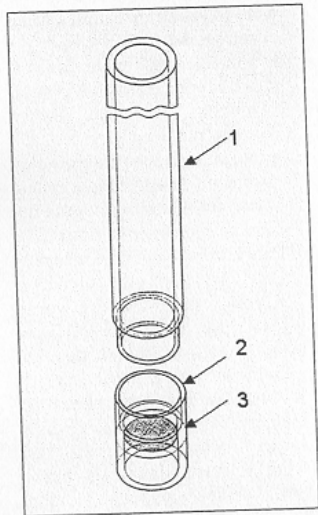


Figura 1. Muestreador de epifiton para helófitos. 1: tubo de metacrilato. 2: filtro. 3: malla del filtro. Modificado de Kornijów y Kairesalo (1994).

tormentas, etc. El muestreador se utiliza introduciendo el cilindro de metacrilato en el tallo cortado, procurando no introducir en la muestra algas filamentosas, lemnófitos, cortezas flotantes, etc. Se debe evitar también la presencia de fragmentos contaminados por sedimentos del fondo. Una vez introducido el tubo unos 10-15 cm de profundidad en el tallo sumergido, éste se corta con unas tijeras, bien sumergiendo la mano o bien mediante mecanismos de corte como los indicados por Kornijów y Kairesalo (1994). El aerénquima hace flotar el fragmento cortado. Posteriormente se introduce el bote con el filtro en el agua a modo de tapón, de forma que al sacar el tubo con el resto de planta cortado, toda el agua que escurra atraviese el filtro. El epifiton que queda en el filtro se recupera e integra en la muestra de planta haciendo pasar agua a través de él (Figura 2). La muestra de planta se recoge y deposita en un recipiente opaco hasta su procesamiento en laboratorio. Para detener la actividad biológica dentro del epifiton, la muestra debe fijarse inmediatamente con formaldehído tamponado hasta una concentración final del 4% v/v, excepto en el caso de que se requiera realizar análisis de clorofila del epifiton. Todo el muestreador se ha de limpiar adecuadamente entre muestras para evitar contaminación cruzada. La cantidad de muestra recogida en cada punto dependerá del diámetro de la sección de tallo característica de cada especie. Así, en plantas como *Eleocharis* o *Juncus* se recogerán unos 10 tallos por punto; en *Scirpus* y *Phragmites*, 3 por punto, y en *Typha*, 1 tallo en cada punto será suficiente.

4. La remoción del epifiton de los tallos se realiza llenando parcialmente con agua cada recipiente con muestra y agitando enérgicamente durante 2 minutos. Los re-

Para la toma de muestras y posterior estudio se debe evitar la presencia de fragmentos contaminados por sedimentos del fondo

sultados obtenidos por Zimba y Hopson (1997) muestran que este procedimiento es suficiente para remover prácticamente el 100% de las diatomeas adheridas a macrófitos. La presencia de formaldehído en la muestra aumenta el rendimiento de este proceso (Moss 1976). El mismo efecto puede obtenerse añadiendo unas gotas de peróxido de hidrógeno (100 vol.) antes de la agitación (J. Bertrand, com. pers.). Una vez agitado el recipiente, éste se enrasa hasta un volumen determinado, por ejemplo 1 L. El llenado de todos los recipientes con un volumen fijo permite el mantenimiento de la misma dilución y la comparación de resultados en caso de que deseen hacerse estudios cuantitativos de otros grupos del perifiton, o bien determinar la concentración de sólidos suspendidos o clorofilas. En este caso se tomarían submuestras (por ejemplo de 125 mL) de la muestra original y se fijarán y tratarán según las necesidades. Será necesario entonces calcular tanto la superficie del tallo como el volumen final de llenado (deduciendo el volumen ocupado por la planta).

5. Para la obtención de una suspensión de frústulos de diatomeas sin materia orgánica será necesario someter una alícuota de la muestra (5-10 mL, en función de

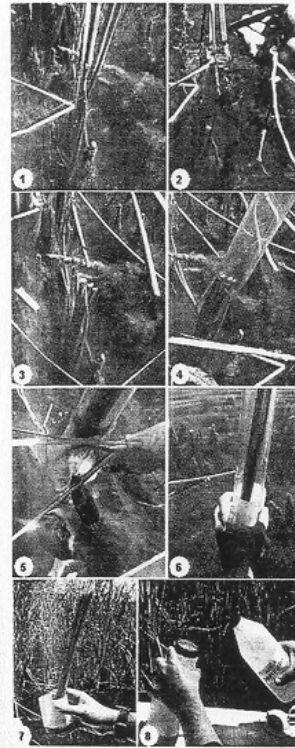


Figura 2. Recogida de epifiton utilizando un muestreador Kornijów en una laguna somera.

la concentración de la muestra) a un proceso de oxidación añadiendo 20 mL peróxido de hidrógeno (100 vol.) caliente (AENOR 2004). Para muestras procedentes de zonas calcáreas es recomendable añadir unas gotas de ácido clorhídrico diluido al final del proceso. El montaje de las preparaciones microscópicas definitivas, así como la identificación y recuento de las diatomeas presentes en la muestra, se realizará conforme a los protocolos existentes para diatomeas epilíticas fluviales (AFNOR 2003, European Comitee for Standarization 2003, 2004, AENOR 2004, 2005, Confederación Hidrográfica del Ebro 2005).

3. Discusión

En ausencia de un epifiton suficientemente representativo o de superficies artificiales, la vegetación macrofítica ha sido establecida como sustrato prioritario para el muestreo de diatomeas en sistemas lacustres y embalses, así como en tramos lenfíticos de cursos fluviales (Kelly et al. 1998, 2005, Andreu y Camacho 2002, Agència Catalana de l'Aigua 2003, Confederación Hidrográfica del Ebro 2005). En concreto, la vegetación emergente ha demostrado ser el sustrato idóneo para la biomonitorización de lagos basada en diatomeas epifitas (Kitner y Poulícková, 2003; Poulícková et al. 2004). En cuanto al posible efecto debido a la heterogeneidad de los sustratos muestreados (diferencias morfológicas y taxonómicas), diversos autores (Hutchison 1975, Eminson y Moss 1980, Rott et al. 1998, Kitner y Poulícková, 2003) muestran que los factores ambientales externos son notablemente más importantes que la naturaleza del sustrato en la determinación de la comunidad de algas epifitas. Potapova y Charles (2005) concluyen que la aplicación de índices basados en la autoecología de las especies de algas fitobénticas presentes en un determinado ambiente no precisa restringir el muestreo a un único tipo de sustrato. Adicionalmente, la estructura de la comunidad de algas epifitas no se ve significativamente alterada por el estado fenológico del helófito (Caput y Plenkovic-Moraj 2000).

La práctica totalidad de los índices diatomológicos existentes se basan en cálculos sobre las proporciones relativas de los diferentes taxones presentes en la comunidad, sin atender a la cantidad total de muestra recogida, siempre que ésta exceda de un mínimo representativo del medio analizado, lo cual simplifica notablemente el procedimiento. La superficie de sustrato que se muestrea siguiendo el proto-

Casi todos los índices diatomológicos se calculan en proporción de los diferentes taxones presentes en una comunidad

colo descrito en este trabajo supera en cualquier caso el área estándar establecida en las metodologías diseñadas para medios lóticos (100 cm²).

El protocolo propuesto ha sido aplicado para la evaluación de la calidad del agua en lagunas de la provincia de León (Blanco et al. 2004) así como en otros humedales y lagos someros de la cuenca del río Duero (Blanco et al, en prep.). Los resultados preliminares muestran correlaciones estadísticamente significativas entre los índices diatomológicos empleados (Índice Biológico de Diatomeas, Lenoir y Coste 1996, e Índice de Poluosensibilidad Específica, Coste en CEMAGREF 1982) y los parámetros fisicoquímicos indicativos del estado trófico de los sistemas estudiados.

En conclusión, el protocolo metodológico propuesto es sencillo y efectivo, aplicable para la determinación del estado ecológico en una gran variedad de sistemas lacustres y posibilita en ellos la realización de muestreos sistemáticos y periódicos siguiendo un método fácilmente reproducible. El empleo de diatomeas epifitas sobre helófitos podrá permitir así la implantación en estos ecosistemas de redes de biomonitorización conformes a los requisitos exigidos por la Directiva Marco del Agua.

4. Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto 'Bases Científicas para la definición del Estado Ecológico de los Sistemas Lagunares de la depresión del Duero. Establecimiento de Indicadores de Calidad y Condiciones de Referencia' (REN2003-03718/HID), financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología y la Junta de Castilla y León.

5. Bibliografía

- [1] AENOR 2004. Norma UNE-EN 13946: 2004. Calidad del agua. Guía para el muestreo en rutina y el pretratamiento de diatomeas bénticas de ríos. Madrid, 20 pp.
- [2] AENOR 2005. Norma UNE-EN 14407:2005. Calidad del agua. Guía para la identificación, recuento e interpretación de muestras de diatomeas bentónicas de ríos. Madrid, 16 pp.
- [3] AFNOR 2003. Norme française NF EN 13946. Qualité de l'eau - Guide pour l'échantillonnage en routine et le prétraitement des diatomées benthiques de rivières. Juillet 2003. Association Française de Normalisation, 18 pp.
- [4] Agència Catalana de l'Aigua 2003. Desenvolupament d'un índex integral de qualitat ecològica i regionalització ambiental dels sistemes lacustres de Catalunya. Centre d'estudis Avançats de Banes (CSIC), Barcelona, 87 pp.
- [5] Andreu, E.; Camacho, A. 2002. Recomendaciones para la toma de muestras de agua, biota y sedimentos en humedales Ramsar. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, 101 pp.
- [6] Bécares, E.; Conty, A.; Rodríguez-Villafañe, C.; Blanco, S. 2004. Funcionamiento de los lagos someros mediterráneos. Ecosistemas 13 (2): 1-14.
- [7] Blanco, S.; Ector, L.; Bécares, E. 2004. Epiphytic diatoms as water quality indicators in Spanish shallow lakes. *Vie Milieu* 53 (2/3): 71-79.
- [8] Blanco, S.; Ector, L.; Bécares, E. 2005a. Muestreo del fitobentos en ríos, lagos y humedales: requisitos y recomendaciones para la Directiva Marco del Agua, con especial enfoque a los trabajos desarrollados sobre diatomeas en la Cuenca del Duero. *Algas* 34: 42-47.
- [9] Blanco, S.; Huck, V.; Monnier, O.; Bécares, E.; Ector, L. 2005b. Establecimiento de las bases para la aplicación de las diatomeas como indicadores de calidad en la cuenca del río Duero. Estudio de la situación actual de la calidad de las aguas superficiales mediante índices de diatomeas en la cuenca. Confederación Hidrográfica del Duero, Valladolid, 49 + 302 pp.
- [10] Cambra, J.; Gomà, J.; Ortiz, R. 2003. Anàlisi de viabilitat i proposta d'indicadors fitobentònics de la qualitat de l'aigua per als cursos fluvials de Catalunya (Tordera, Besòs, Llobregat, Foix, Gaià, Francolí i Riudecanyes). Documents tècnics de l'Agència Catalana de l'Aigua, Barcelona, 113 pp.
- [11] Caput, K.; Plenkovic-Moraj, A. 2000. Epiphytic diatoms on sawgrass (*Cladium mariscus*) in the karstic Plitvice Lakes, Croatia. *Biol Bratisl* 55: 343-350.
- [12] CEMAGREF 1982. Étude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport Q. E. Lyon - A. F. Bassin Rhône-Méditerranée-Corse, 218 pp.
- [13] Confederación Hidrográfica del Ebro 2005. Metodología para el establecimiento del estado ecológico, según la directiva marco del agua protocolos de muestreo y análisis para fitobentos (microalgas bentónicas). Zaragoza, 58 + 12 pp.
- [14] Eminson, D.; Moss, B. 1980. The composition and ecology of periphyton communities in freshwaters 1: The influence of host type and external environment on community composition. *Br Phycol J* 15: 429-446.
- [15] European Committee for Standardization 2003. Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. European Standard EN 13946. European Committee for Standardization, Brussels, 14 pp.
- [16] European Committee for Standardization 2004. Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. European Standard prEN 14407. European Committee for Standardization, Brussels, 12 pp.
- [17] García-Criado, F.; Bécares, E.; Fernández-Aláez, C.; Fernández-Aláez, M. 2005. Plant associated invertebrates and ecological quality in some Mediterranean shallow lakes: implications for the application of the EC Water Framework Directive. *Aquat Cons* 15: 31-50.
- [18] Gomà, J.; Ortiz, R.; Cambra, J.; Ector, L. 2004. Water quality evaluation in Catalanian Mediterranean rivers using epilithic diatoms as bioindicators. *Vie Milieu* 54 (2/3): 81-90.
- [19] Gomà, J.; Rimet, F.; Cambra, J.; Hoffmann, L.; Ector, L. 2005. Diatom communities and water assessment in mountain rivers of the upper Segre basin (La Cerdanya, Oriental Pyrenees). *Hydrobiologia* 551: 1-17.
- [20] Hoffman, G. 1994. Aufwuchs-Diatomeen in Seen und ihre Eignung als Indikatoren der Trophie. *Bibl Diatomol* 30: 1-241.
- [21] Hutchinson, G.H. 1975. A treatise on limnology III. Aquatic macrophytes and attached algae. John Wiley & Sons Inc, New York, 660 pp.
- [22] Kelly, M.G.; Cazaubon, A.; Coring, E.; Dell'Uomo, A.; Ector, L.; Goldsmith, B.; Guasch, H.; Hürlimann, J.; Jarlman, A.; Kawecka, B.; Kwadrans, J.; Laugaste, R.; Lindström, E.A.; Leitao, M.; Marvan, P.; Padišák, J.; Pipp, E.; Prygiel, J.; Rott, E.; Sabater, S.; Van Dam, H.; Vizin, J. 1998. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *J Appl Phycol* 10: 215-224.
- [23] Kelly, M.G.; Yallop, M.L.; Hirst, H.; Bennion, H. 2005. DARES/DALES protocol. Sample collection. Version 2.1. No publicado, 11 pp.
- [24] Kitner, M.; Pouličková, A. 2003. Littoral diatoms as indicators for the eutrophication of shallow lakes. *Hydrobiologia* 506-509: 519-524.
- [25] Kornijów, R.; Kairesalo, T. 1994. A simple apparatus for sampling epiphytic communities associated with emergent macrophytes. *Hydrobiologia* 294: 141-143.
- [26] Leira, M.; Sabater, S. 2002. Diatom communities and water quality: a case study from streams in Catalonia (NE Spain). En Ledoux L, Burgess D eds, Science for water policy. The implications of the water framework directive. University of East Anglia, Norwich: 285-303.
- [27] Lenoir, A.; Coste, M. 1996. Development of a practical diatom index of overall water quality applicable to the French National Water Board Network. En: Whitton BA, Rott E eds. Use of Algae for Monitoring Rivers II. Institut Botanik, Univ Innsbruck, Innsbruck: 29-43.
- [28] Mayer, P.M.; Galatowitsch, S.M. 1999. Diatom communities as ecological indicators of recovery in restored prairie wetlands. *Wetlands* 19: 765-774.
- [29] McCormick, P.V.; O'Dell, M.B. 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *J N Am Benthol Soc* 15: 450-468.
- [30] Moss, B. 1976. The effects of fertilization and fish on aquatic structure and biomass of aquatic macrophytes and epiphytic algal populations: an ecosystem experiment. *J Ecol* 64: 313-342.
- [31] Moss, B.; Madgwick, J.; Phillips, G. 1996. A guide to the restoration of nutrient-enriched shallow lakes. Environment Agency, Broads Authority, Broads, 180 pp.
- [32] Ortiz, R.; Huck, V.; Cambra, J.; Ector, L. 2005. Diseño de la red de diatomeas de la Cuenca Hidrográfica del Norte. Confederación Hidrográfica del Norte, Oviedo, 57 pp.
- [33] Parlamento Europeo, Consejo de la Unión Europea 2000. Directiva 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy. *Off J Eur Comm* 327: 1-72.
- [34] Potapova, M.; Charles, D.F. 2005. Choice of substrate in algae-based water-quality assessment. *J N Am Benthol Soc* 24: 415-427.
- [35] Poulíčková, A.; Duchoslav, M.; Dokulil, M. 2004. Littoral diatom assemblages as bioindicators of lake trophic status: a case study from perialpine lakes in Austria. *Eur J Phycol* 39: 143-152.
- [36] Prygiel, J.; Whitton, B.A.; Bukowska, J. 1999. Use of Algae for Monitoring Rivers III. Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai, 271 pp.
- [37] Romo, S.; Villena, M.J.; Sahuquillo, M.; Soria, J.M.; Giménez, M.; Alfonso, T.; Vicente, E.; Miracle, M.R. 2005. Response of a shallow Mediterranean lake to nutrient diversion: does it follow similar patterns as in northern shallow lakes? *Freshwat Biol* 50: 170-1717.
- [38] Rott, E.; Pipp, E.; Pfister, P. 2003. Diatom methods developed for river quality assessment in Austria and a cross-check against numerical trophic indication methods used in Europe. *Algal Stud* 110: 91-115.
- [39] Round, F.E. 1991. Diatoms in river water-monitoring studies. *J Appl Phycol* 3: 129-145.
- [40] Scheffer, M. 1998. Ecology of Shallow Lakes. Chapman and Hall, London, 357 pp.
- [41] Stoermer, E.F.; Smol, J.P. 1999. The Diatoms. Applications for the Environmental and Earth Sciences. Cambridge University Press, Cambridge, 482 pp.
- [42] Ten Cate, J.H.; Simons, J.; Schreurs, H. 1991. Periphytic macro- and microalgae in dutch freshwater ditches and their significance as ecological indicators of water quality. *Arch Hydrobiol* 122: 275-296.
- [43] Trobajo, R. 2003. Ecological analysis of periphytic diatoms in Mediterranean coastal wetlands (Empordà wetlands, NE Spain). Tesis Doctoral, Universitat de Girona, Girona, 200 pp.
- [44] Wetzel, R.G. 2001. Limnology. Lake and river ecosystems. Academic Press, San Diego, USA, 850 pp.
- [45] Whitton, B.A.; Rott, E. 1996. Use of Algae for Monitoring Rivers II. Institut für Botanik, Univ Innsbruck, Innsbruck, 196 pp.
- [46] Whitton, B.A.; Rott, E.; Friedrich, G. 1991. Use of Algae for Monitoring Rivers. Institut für Botanik, Univ Innsbruck, Innsbruck, 193 pp.
- [47] Zimba, P.V.; Hopson, M.S. 1997. Quantification of epiphyte removal efficiency from submersed aquatic plants. *Aquat Bot* 58: 173-179.