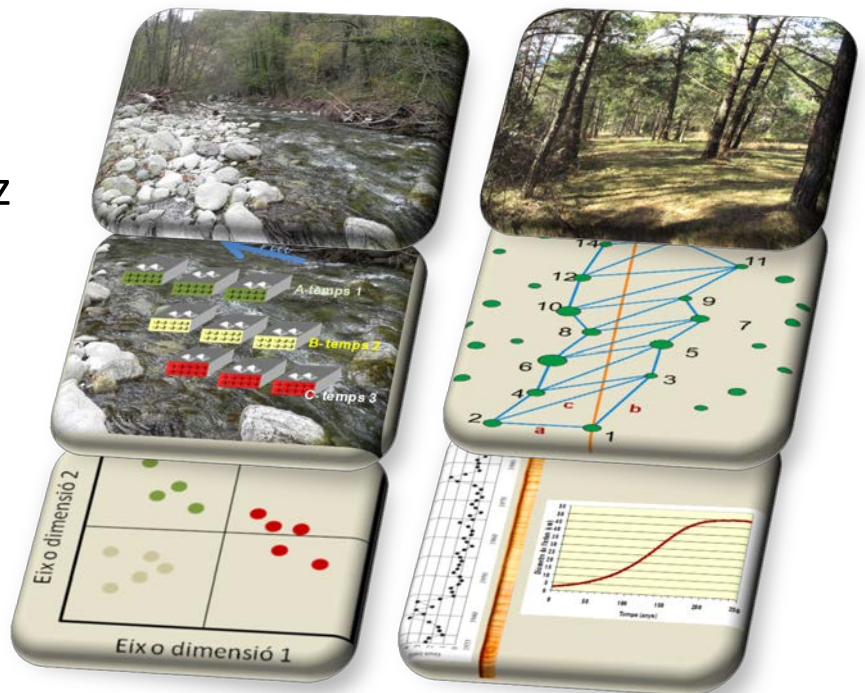


Ecologia de Comunitats i d'Ecosistemes

Protocolos de pràctiques

Biel Obrador
Maria Rieradevall
Santi Sabaté
Margarita Menéndez
Eusebi Vázquez



B Universitat de Barcelona

Facultat de Biologia
Departament d'Ecologia

Dos campus d'excel·lència internacional

B:KC Barcelona
Knowledge
Campus

HUB^c Health Universitat
de Barcelona
Campus

Coordinació i edició: Maria Rieradevall i Biel Obrador

Autors: Biel Obrador, Maria Rieradevall, Santi Sabaté, Margarita Menéndez, Eusebi Vázquez.

Il·lustracions: Maria Rieradevall, Biel Obrador, Eusebi Vázquez, Carles Gracia

Fotografies: Biel Obrador, Joan Gomà i Maria Rieradevall

Agraïments: a tots els alumnes i professors de pràctiques de l'assignatura Ecologia de Comunitats i d'Ecosistemes del Grau de Biologia que han utilitzat versions preliminars i parcials d'aquest manual.



Si no s'hi indica el contrari, tots els continguts d'aquesta guia estan subjectes a una llicència. Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada (by-nc-nd) de Creative Commons, el text de la qual està disponible a: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/>

Com citar aquesta obra:

Biel Obrador, Maria Rieradevall, Santi Sabaté, Margarita Menéndez, i Eusebi Vázquez. 2014. Protocols de pràctiques d'Ecologia de Comunitats i Ecosistemes del Grau de Biologia. Departament d'Ecologia. Universitat de Barcelona. 79 pp. Disponible a: <http://hdl.handle.net/2445/50963>

Índex

<i>Objectius, continguts i organització de les pràctiques</i>	3
<i>Activitat experimental d'estructura de la comunitat de macroinvertebrats fluvials</i>	
1-PC. Protocol de camp	13
1-PL. Protocol de laboratori	17
1-PAD. Protocol d'anàlisi de dades	19
<i>Activitat experimental d'estructura de la comunitat del biofilm</i>	
2-PC. Protocol de camp	29
2-PL. Protocol de laboratori	31
2-PAD. Protocol d'anàlisi de dades	35
<i>Activitat experimental de metabolisme fluvial</i>	
3-PC. Protocol de camp	37
3-PAD. Protocol d'anàlisi de dades	43
<i>Activitat experimental de descomposició</i>	
4-PC. Protocol de camp	45
4-PL. Protocol de laboratori	47
4-PAD. Protocol d'anàlisi de dades	49
<i>Activitat experimental d'estructura forestal</i>	
5-PC. Protocol de camp	51
5-PAD. Protocol d'anàlisi de dades	55
<i>Activitat experimental de creixement forestal</i>	
6-PC. Protocol de camp	61
6-PL. Protocol de laboratori	63
6-PAD. Protocol d'anàlisi de dades	67
<i>Activitat experimental de respiració edàfica</i>	
7-PC. Protocol de camp	69
7-PAD. Protocol d'anàlisi de dades	75
<i>Referències</i>	79

Objectius, continguts i organització de les pràctiques

Introducció

Els coneixements adquirits a les pràctiques i les habilitats de càlcul que s'hi exerciten són fonamentals per a la bona comprensió de l'alumne de conceptes bàsics en ecologia de comunitats i d'ecosistemes.

Els aspectes pràctics d'alguns dels temes només són introduïts de manera superficial a les classes de teoria, a on aquests conceptes són utilitzats per a discutir-ne significat, variacions, tendències, causes, etc.

Objectius generals de les pràctiques:

- Participar en un disseny mostral complex aportant dades que seran d'ús comunitari i per fer treball en equip.
- Aprendre metodologies de camp i laboratori apropiades per a l'estudi dels diversos paràmetres estructurals i funcionals de les comunitats i dels processos en ecosistemes fluvials i terrestres.
- Representar i interpretar dades obtingudes experimentalment al laboratori i al camp.
- Utilitzar programes informàtics adequats al càlcul i anàlisi de paràmetres d'interès en Ecologia

Disseny general de les pràctiques

Les pràctiques s'articulen al voltant del concepte de **pertorbació** de les comunitats i els ecosistemes, plantejant-nos respondre preguntes com:

- què passa quan un ecosistema és alterat per l'home o per pertorbacions naturals?
- Com canvia l'estructura i la funció dels ecosistemes quan aquests s'alteren?
- Hi ha patrons generals en la resposta a les pertorbacions? És a dir, diferents tipus d'ecosistemes responen de manera similar davant d'una pertorbació?

Per a poder respondre aquestes preguntes cal plantejar abans com caracteritzem els ecosistemes i les comunitats per tal d'avaluar-ne el canvi. Podem definir dues aproximacions bàsiques a l'estudi i caracterització dels ecosistemes: per una banda, en l'**aproximació estructural** s'estudia l'organització de les comunitats i les poblacions, i la unitat habitual de treball són els individus. Per altra banda, en l'**aproximació funcional**, s'estudien els processos responsables dels fluxos de matèria i energia en l'ecosistema, essent la unitat bàsica de treball la massa. A la taula següent podeu veure alguns **descriptors** estructurals i funcionals ecosistèmics:

Descriptors estructurals:

- ☐ Abundància
- ☐ Composició
- ☐ Diversitat
- ☐ Demografia
- ☐ Canvis en el temps

Descriptors funcionals:

- ☐ Producció i respiració a diferents escales temporals
- ☐ Organització de la xarxa tròfica
- ☐ Retorn de materials: descomposició

En el nostre cas, per a respondre les preguntes bàsiques que hem plantejat, farem una **comparació** d'alguns d'aquests descriptors en un **sistema pertorbat** i en un de **no pertorbat**.

D'altra banda, amb l'objectiu de generalitzar les nostres observacions i cercar patrons comuns a tots els ecosistemes, treballarem en **dues tipologies diferents d'ecosistema**: un de **terrestre** i un **d'aquàtic**. Això implica que, malgrat plantejar preguntes comunes, a nivell operacional caldrà tenir en compte les singularitats de cada sistema. Aquestes singularitats estan associades a l'existència de processos

amb escales de variació espaciotemporals pròpies de cada sistema, de manera que les pertorbacions són fonamentalment diferents. Per aquesta raó, caldrà emprar descriptors estructurals i funcionals adequats a cada cas, i utilitzar **metodologies específiques** adaptades a les escales pròpies i a la idiosincràsia de cada sistema. Aquest guió inclou tots els protocols de camp i laboratori i les metodologies d'anàlisi de dades necessàries per a l'execució del treball pràctic proposat en el marc de l'assignatura *Ecologia de Comunitats i Ecosistemes* del Grau de Biologia.

La taula següent mostra les característiques bàsiques dels dos sistemes treballats a les pràctiques: el **riu Ter** al seu pas per Sant Pau de Segúries, i una **pineda** de *Pinus sylvestris* al Ripollès:

SISTEMA AQUÀTIC	Ecosistema fluvial	
☐ <u>Pertorbació</u>: EDAR (entrada de nutrients) ☐ Comparació riu amunt i riu avall de la pertorbació		Riu Ter al seu pas per Sant Pau de Segúries
SISTEMA TERRESTRE	Ecosistema forestal	
☐ <u>Pertorbació</u>: pastura (herbivoria) ☐ Comparació zona pasturada i zona no pasturada		Pineda de <i>Pinus sylvestris</i> al Ripollès

Els descriptors comuns i específics que s'avaluaran a cada ecosistema es detallen a la taula següent, on s'indiquen els corresponents protocols de camp, laboratori i anàlisi de dades que s'empraran en cada cas. Els quadres sinòptics següents introdueixen el disseny experimental aplicat i les variables primàries i secundàries que es cerquen en cada activitat experimental. Observeu que el disseny experimental és complex i que algunes activitats tenen un únic protocol, mentre que d'altres en tenen dos, i que hi ha protocols compartits per diferents activitats.

ECOSISTEMA FLUVIAL

- ☐ Estructura de les comunitats de macroinvertebrats i biofilm
- ☐ Canvis estructurals en el temps

Protocols

1PC, 1PL, 1PAD
2PC, 2PL, 2PAD

- ☐ Metabolisme fluvial

Protocols

3PC, 3PAD

- ☐ Descomposició de material al·lòcton

4PC, 4PL, 4PAD

ECOSISTEMA FORESTAL

- ☐ Estructura poblacional de les espècies arbòries dominants
- ☐ Densitat de peus

Protocols

5PC, 5PAD

- ☐ Creixement: canvis de biomassa
- ☐ Descomposició de fullaraca
- ☐ Respiració edàfica

Protocols

6PC, 6PL, 6PAD

4PC, 4PL, 4PAD

7PC, 7PAD

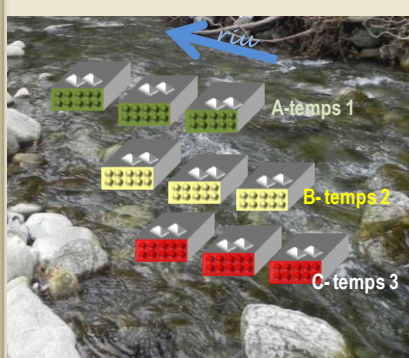
PC: Protocol de Camp

PL: Protocol de Laboratori

PAD: Protocol d'Anàlisi de Dades

Estructura de les comunitats de macroinvertebrats i biofilm.

Canvis estructurals en el temps



DISSENY EXPERIMENTAL

Es mesuraran els descriptors estructurals de la comunitat al llarg de la colonització. S'empraran substrats artificials col·locats a diferents temps abans de l'extracció.

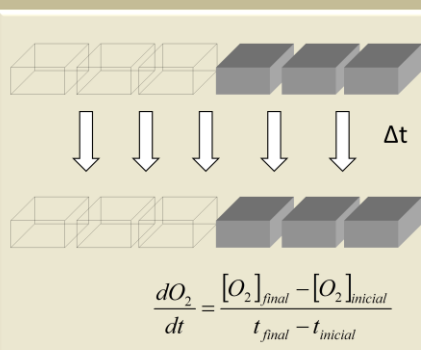
DESCRIPTORS CONSIDERATS

- Abundància, composició i diversitat de macroinvertebrats
- Abundància i composició d'algues del biofilm
- Densitats estandarditzades de macroinvertebrats (ind/u.m.)
- Riquesa específica (espècies/u.m.)
- Índexos de diversitat

VARIABLES PRIMÀRIES

Es treballarà en unitats mostrals (inventaris)

Metabolisme fluvial



$$\left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{\text{CAMBRES CLARES}} = \text{FOTOSÍNTESI} - \text{RESPIRACIÓ}$$

$$\left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{\text{CAMBRES FOSQUES}} = -\text{RESPIRACIÓ}$$

DISSENY EXPERIMENTAL

Es realitzaran incubacions de biofilm en cambres estanques *in situ*, avaluant el canvi en la concentració d'un gas metabòlic (O_2 dissolt). S'incubaran substrats artificials prèviament colonitzats per biofilm.

DESCRIPTORS CONSIDERATS

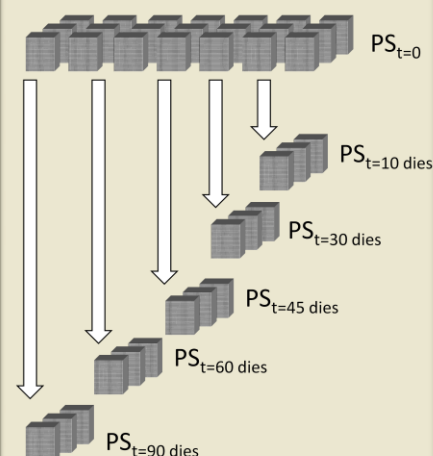
- Fotosíntesi o Producció Primària Bruta (GPP)
- Respiració (R)

VARIABLES PRIMÀRIES

- Concentracions inicials i finals d'oxigen a cada cambra (mg/L)
- Concentració de clorofil·la en el biofilm (mg/cm²)
- Sèrie de PAR ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) i Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) durant les incubacions

Descomposició

t=0. Col·locació de les mostres en el medi



DISSENY EXPERIMENTAL

S'avaluarà la pèrdua de biomassa mitjançant bosses de fullaraca (*litter bags*) al llarg del procés de descomposició. S'emprarà fullaraca de diferents espècies arbòries (*Alnus glutinosa* i *Fagus sylvatica*).

DESCRIPTORS CONSIDERATS

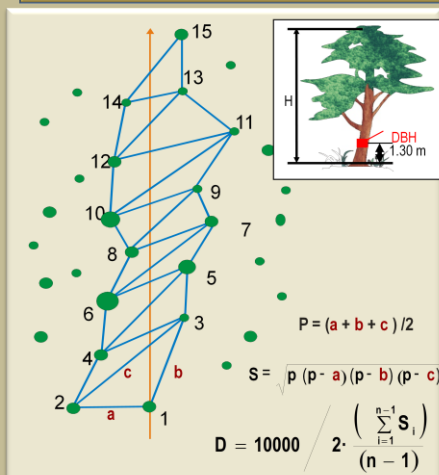
❑ Taxa de descomposició de fullaraca de diferents orígens en cada condició.

VARIABLES PRIMÀRIES

❑ Pesos frescs de cada bossa a cada temps d'extracció
❑ Sèrie de Temperatura (°C) des de l'inici del procés

Estructura poblacional de les espècies arbòries

Densitat de peus



DISSENY EXPERIMENTAL

Mostreig en transsecte a la zona pasturada i a la no pasturada, en un bosc de *Pinus sylvestris*.

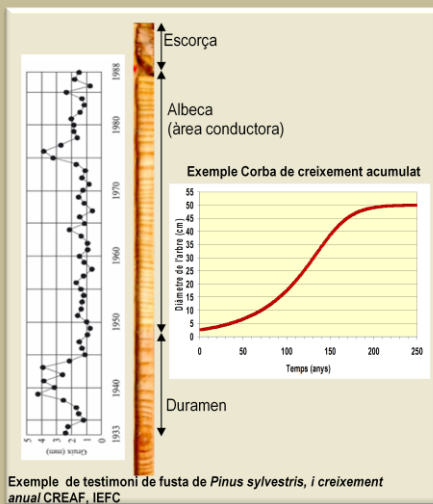
DESCRIPTORS CONSIDERATS

❑ Biomassa de tronc (Mg/ha)
❑ Biomassa de fulles (Mg/ha)
❑ Índex d'àrea foliar
❑ Diversitat de classes de mides

VARIABLES PRIMÀRIES

❑ Alçada dels arbres tipus (m)
❑ Densitat d'arbres (peus /ha)
❑ Àrea basal per espècies
❑ Distribució en classes diamètriques

Creixement forestal



DISSENY EXPERIMENTAL

Mitjançant barrina de Pressler s'extrauran testimonis de fusta de sis arbres del transecte (dos de cada classe diamètrica dominant). Es mesurarà el gruix d'escorça, i el gruix de duramen i d'albeca per avaluar l'àrea conductora. Les mostres es poliran, escanejaran. Les imatges es tractaran amb el programa CORES per avaluar el creixement anual dels anells.

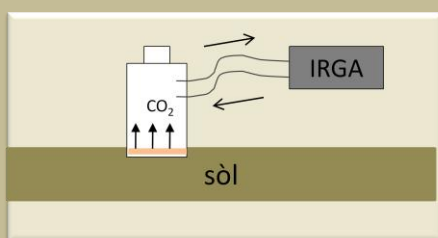
DESCRIPTORS CONSIDERATS

- ☐ Creixement anual (mm/any) i acumulat (cm)
- ☐ Producció anual de fusta ($m^3/ha/any$) del bosc.

VARIABLES PRIMÀRIES

- ☐ Gruix d'escorça (cm)
- ☐ Gruix d'albeca (cm) i de duramen (cm)
- ☐ Gruix dels anells (mm)

Respiració edàfica



DISSENY EXPERIMENTAL

Es mesurarà la taxa d'emissió de CO_2 del sòl forestal mitjançant una cambra de respiració estanca acoblada a un analitzador de gasos. Les mesures de CO_2 en la cambra es fan cada 4 segons al llarg de 2 minuts.

Es faran 15 mesures en cada àrea del bosc.

DESCRIPTORS CONSIDERATS

- ☐ Taxes d'emissió de CO_2 per unitat de superfície

VARIABLES PRIMÀRIES

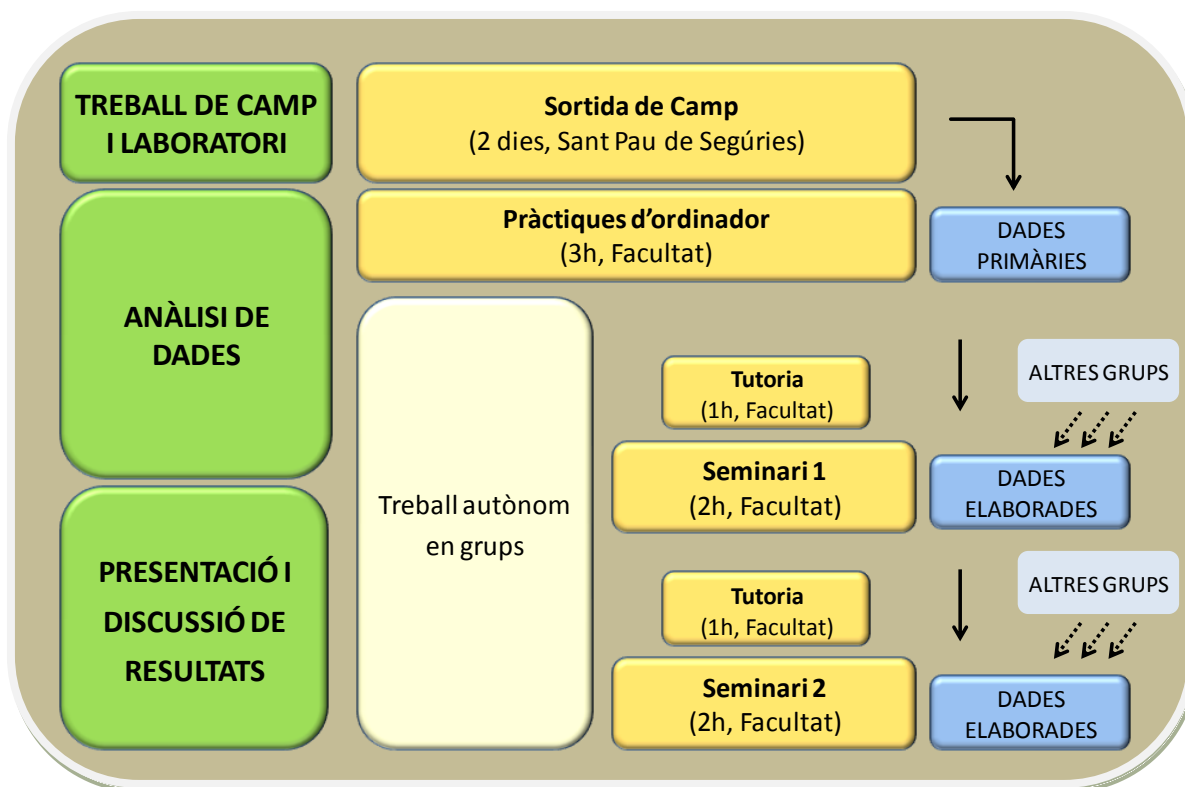
- ☐ Sèries de CO_2 en la cambra edàfica.
- ☐ Temperatura ($^{\circ}C$) i humitat del sòl (%).

Organització de les pràctiques

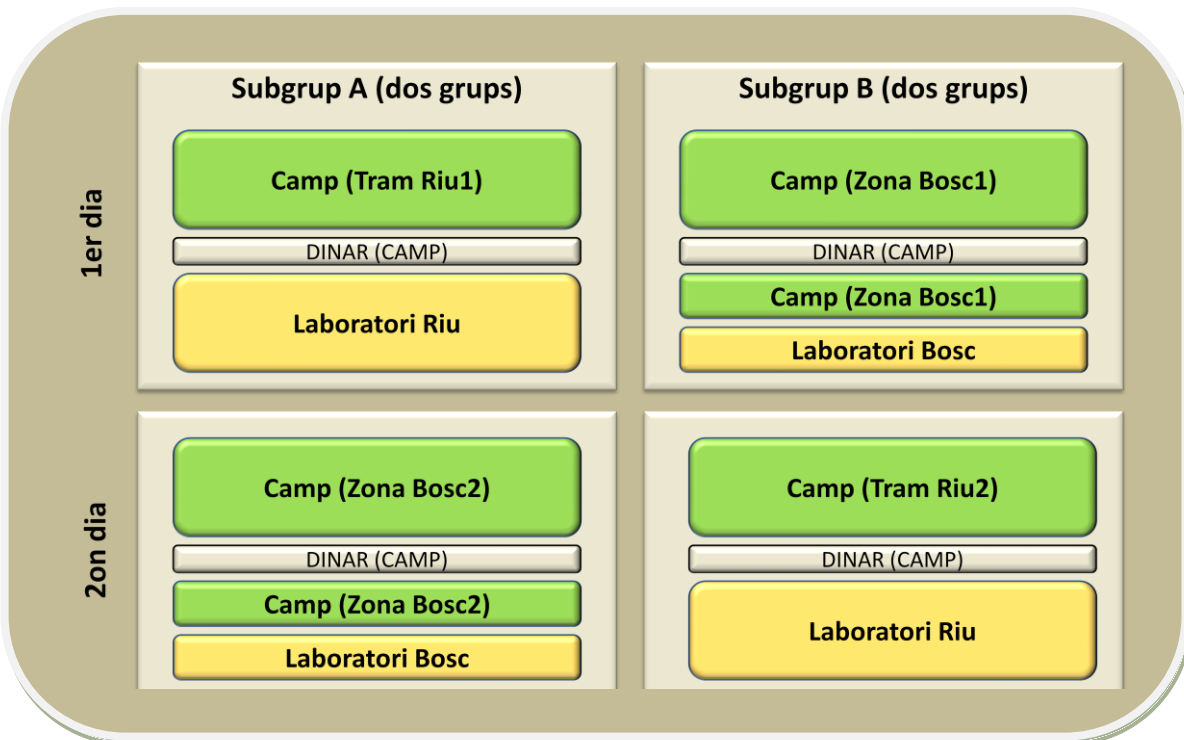
Les pràctiques consisteixen en una primera fase de **treball de camp i laboratori** adreçada a l'obtenció d'unes *dades primàries*. Aquesta primera fase es realitza intensivament i té durada de dos dies amb pernoctació inclosa.

A continuació hi ha una segona fase d'**anàlisi de dades**, en la qual es treballaran les metodologies numèriques i estadístiques necessàries per a l'obtenció de les *dades elaborades* que han de permetre respondre les preguntes plantejades i testar les hipòtesis de partida. Aquestes dades seran incorporades a una base de dades conjunta per a la seva anàlisi posterior per tots els grups d'alumnes. Aquesta fase inclou una sessió presencial de treball d'ordinador a la Facultat (3 hores) i una part de treball autònom en grup.

La **discussió dels resultats** es fa en una tercera fase en forma de dos seminaris de dues hores de duració a la Facultat. En aquests seminaris es plantejarà la **presentació dels resultats** obtinguts pels diferents grups de treball en una trobada conjunta. Els seminaris són avaluatius.



La sortida de camp s'organitza en dos subgrups que treballen autònomament tasques de camp (observacions, mostrejos, experiments) i de laboratori (processat de mostres, anàlitzes químiques, identifications i comptatges d'organismes), treballant un dia l'ecosistema fluvial i l'altre el forestal.



1-PC

Protocol de camp de macroinvertebrats

A l'activitat experimental que us proposem farem ús de *substrats artificials* per tal d'unificar i homogeneïtzar l'àrea d'estudi, evitant així la gran variabilitat de tipus de substrats i condicions que es donen en el medi fluvial.

Substrats artificials

Els substrats artificials seran en aquest cas maons d'argila estàndard usats en la construcció d'edificis, dels quals se'n ha comprovat en estudis previs la seva adequació al tipus d'estudi que es proposa.

Els maons són tots aproximadament iguals, de mida 9x27x13 cm, i presenten les superfícies exteriors llises i una sèrie de forats situats en el sentit de la seva amplada (comercialment s'anomenen *geros*), els quals milloren la seva habitabilitat pels organismes macroinvertebrats en permetre condicions d'hàbitat variades (diferent exposició al corrent de l'aigua del riu, amagatalls, superfície de colonització, etc.).



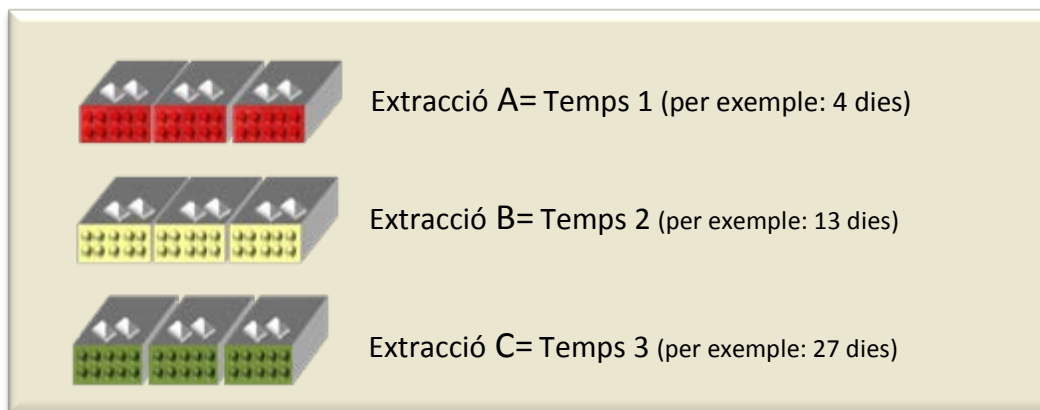
© B.Obrador

MATERIAL

- 24 substrats artificials (geros)
- Galledes o recipients per la recollida dels substrats artificials
- Mànegues de mà de xarxa de 250 µm de porus de malla
- 3 Raspalls netejador de tubs d'assaig
- 3 Embuts de filtració (pots amb tap foradat)
- N pots de plàstic hermètics (tap negre) de 250/500 ml
- Cinta adhesiva per etiquetar els pots
- Tisores
- Retolador permanent

Els geros s'hauran col·locat prèviament en el riu i s'hi deixaran uns dies per tal de permetre la seva colonització per part dels organismes aquàtics. El disseny experimental planteja extreure els substrats artificials en tres o més moments que suposin diferents temps de colonització, per tal d'avaluar els canvis en l'abundància i en la composició de la comunitat d'organismes. En cada extracció es recol·lectaran 3 rèpliques per tal de minimitzar la variabilitat pròpia d'aquests experiments.

Tots els grups de pràctiques treballaran de manera col·laborativa per tal de repartir l'esforç de laboratori que l'anàlisi de les mostres suposa, i posaran els seus resultats de la seva data d'extracció (3 rèpliques) a disposició dels altres grups per tal de construir una base de dades comuna sobre el procés de colonització (o successió).



Recol·lecció de mostres

- **Cercar** i localitzar les unitats mostrals (substrats artificials) prèviament instal·lades.
- **Extreure** de l'aigua amb cura la unitat mostral i col·locar-la en una galleda o recipient adequat. Com a prevenció de la possible pèrdua d'organismes en fer la manipulació, l'extracció es farà col·locant en posició aigües avall del substrat una xarxa o mànega de mà de 250 µm de porus de malla.
- A la riba del riu, **rentar** enèrgicament amb la mà i/o amb l'ajut d'un raspall tou el substrat artificial dins de l'aigua que haurem afegit a la galleda, amb l'objectiu d'alliberar-ne els macroinvertebrats.
- **Filtrar** el contingut de la galleda per la xarxa de malla de 250 µm.
- **Traspassar** el filtrat a un pot de plàstic de tapa hermètica amb una mica d'aigua pel seu **transport** al laboratori. (No s'usarà cap fixador ni conservant perquè les mostres s'observaran vives).
- **Etiquetar** la mostra amb el codi de localitat, nº de rèplica i data de recol·lecció.

Full de camp

Riu:

Coordenades UTM:

Recol·lector/a:

Localitat:

Data:

Mostra (rèplica)	1	2	3
Codi unitat mostral			
Data inici de colonització			
Data recol·lecció			
Dies de colonització			
Observacions:			



1-PL

Protocol de laboratori de macroinvertebrats

Tractament de les mostres

- Si la mostra és molt gran, disposar-la en una safata i agafar-ne una part proporcional (alíquota coneguda).
- **Disposar** els organismes recol·lectats en una o varies plaques de Petri (segons la seva abundància) amb aigua.
- Fer una **primera observació** general de la mostra a la lupa binocular i **fixar** amb etanol al 70% si es considera necessari.
- **Identificar taxonòmicament** els organismes recol·lectats mitjançant l'ús de guies especialitzades. El nivell de resolució taxonòmica serà el de família sempre que sigui possible. Els espècimens es manipularan amb pinces.
- **Comptar** el nombre d'espècimens (N) de cada unitat taxonòmica (UT) identificada.
- **Assignar** a cada unitat taxonòmica l'estratègia tròfica corresponent segons la base de dades d'atributs biològics i ecològics de Tachet et al. (2000). Llegenda codis grups tròfics: **B**= Brostejadors; **D**= Depredadors; **F**= Filtradors; **R**= Recol·lectors.
- (Opcional) **Calcular la biomassa (mg)** de cada unitat taxonòmica identificada. Aquesta mesura es pot fer de manera empírica (pesant tots el individus de cada unitat taxonòmica), o bé aplicant la fórmula: $B_{UT} = N_{UT} \times B_i$. Al full de laboratori hi ha una proposta de B_i (biomassa individual, mg de pes sec) a partir de dades de bibliografia (Benke et al., 1999; Meyer et al., 1989; o dades pròpies); cal tenir en compte que els pesos poden variar segons l'estat de desenvolupament de la larva o nimfa, i el que es presenta és només una estima aproximada.

MATERIAL

Plaques de Petri
 Pincas, espàtules i agulles emmanegades
 Ampolla dosificadora amb aigua
 Etanol 70%
 Lupa estereoscòpica
 Safates
 Guies d'identificació de macroinvertebrats a nivell de família

Full de laboratori
Riu:
Localitat:
Coordenades UTM:
Recol·lector/a:
Data col·locació:
Data recol·lecció:
Dies de colonització:

	Mostra	1 N	2 N	3 N	Grup Tròfic	B _i (mg)
	Codi unitat mostral					
Ordre	Unitat Taxonòmica (UT)					
Oligochaeta	Oligochaeta				R	
Nematoda	Nematoda				R-D	
Mollusca	<i>Ancylus</i>				B	0,64
Acarina	Hidracarina				D	0,18
Plecoptera	Leuctridae				R-B	0,13
Plecoptera	Nemouridae				T-B	0,20
Plecoptera	Perlidae				T-D	5,31
Plecoptera	Perlodidae				T-D	2,51
Ephemeroptera	Baetidae				B	0,80
Ephemeroptera	Caenidae				R	0,25
Ephemeroptera	Heptageniidae				B	3,95
Ephemeroptera	Leptophlebiidae				R	0,42
Trichoptera	Ecnomidae				F (T-D)	0,60
Trichoptera	Hydropsychidae				F	1,94
Trichoptera	Hydroptilidae				B-R	0,60
Trichoptera	Limnephilidae				B	4,58
Trichoptera	Polycentropodidae				D	1,67
Trichoptera	Rhyacophilidae				D	2,95
Coleoptera	Elmidae (Adult, Larva)				R	0,84(A); 0,07(L)
Coleoptera	Coleòpter adult (no Elmidae)				R	0,8-10
Diptera	Chironomidae				R	
	SF. Tanypodinae				D	0,30
	SF. Orthoclaudiinae				B	0,30
	Tribu Chironomini				R	0,40
	Tribu Tanytarsini				R	0,20
Diptera	Ceratopogonidae				D	0,30
Diptera	Empididae				D	0,44
Diptera	Limonidae				T	3,35
Diptera	Simuliidae				F	0,24
Diptera	Tipulidae				R-T	9,13
	Abundància total (individus/mostra)					
	S (riquesa taxonòmica)					

1-PAD

Protocol d'anàlisi de dades de macroinvertebrats

Caracterització de les comunitats

Les comunitats d'organismes es poden caracteritzar amb diferents mètodes i índexs que aporten informació complementària i que utilitzen la informació de la seva composició específica (dades qualitatives) i el repartiment de les abundàncies de les espècies (dades quantitatives). En aquestes pràctiques treballarem fent una anàlisi comparada de les mostres (el que s'anomena anàlisi en mode Q), i no abordarem l'estudi de les associacions d'espècies (anàlisi en mode R).

En concret, l'objectiu serà:

- la interpretació dels resultats de dades d'abundàncies absolutes i relatives, biomasses absolutes i relatives de les UT i de cada estratègia tròfica.
- el càlcul de mètriques de diversitat, dominància i equitativitat.
- l'aplicació de mètodes de classificació (índexs d'afinitats, dissimilaritats i distàncies, construcció de dendrogrames).
- l'aplicació de mètodes d'ordenació.

Pel que fa als mètodes de classificació i d'ordenació, aquests permeten l'estudi dels canvis en la composició d'espècies al llarg de gradients de variació dels paràmetres ambientals. Quan es disposa de la informació dels paràmetres ambientals l'**anàlisi** serà de **tipus directe**. En cas contrari, quan només podem analitzar la variació de les espècies i fer-ne la interpretació a partir del disseny mostral, serà una **anàlisi de tipus indirecte**. Aquest és el nostre cas i per tant només comentarem els mètodes de classificació i d'ordenació que s'ajustin a aquest enfocament.

Adequació de la base de dades primàries

- **Preparar** els resultats dels comptatges d'organismes recol·lectats o inventari en forma de matriu bruta de dades quantitatives en un arxiu Excel, amb les mostres a les columnes i els taxons (les famílies de macroinvertebrats en aquest cas) a les files. En alguna ocasió ens interessarà utilitzar la matriu transposada.
 - o abundàncies absolutes (n individus de cada UT per unitat mostral),

Programes

Excel

PAST (accés lliure al web

<http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>)

Adequació de la base de dades elaborades o secundàries

- Preparar diversos fulls de càlcul en el mateix arxiu amb les dades transformades, el que permetrà treballar les dades de diverses maneres i amb diferents objectius:
 - o abundàncies relatives (%),
 - o biomasses absolutes (mg de cada família i totals per unitat mostral),
 - o biomasses relatives (%),
 - o abundàncies relatives (%) de cada estratègia tròfica per unitat mostral.

1. Càlcul de mètriques de diversitat

Hi ha tres grups de mètriques de diversitat amb les que podem comparar mostres o grups de mostres:

- 1) La **riquesa específica (S)**, que és el nombre d'espècies o taxons que hi ha en una mostra o conjunt de mostres.
- 2) La **riquesa numèrica d'espècies**, que és el nombre d'espècies o taxons relatiu a l'abundància total d'organismes que hi ha en una mostra o conjunt de mostres. Hi ha hagut diferents propostes d'índex per expressar-la. Aquí us en proposem dos dels més usats:

Índex de diversitat de Margalef: $D_{MG} = (S-1) / \ln N$;

Índex de diversitat de Menhinick: $D_{MN} = S / N^{1/2}$;

a on S= nombre d'espècies, i N= Abundància total d'organismes a la mostra (aquesta es transforma amb ln o amb l'arrel quadrada perquè sovint l'abundància de les espècies segueix una distribució geomètrica).

- 3) La **diversitat ecològica**, que contempla la distribució de l'abundància relativa de les espècies.

L'índex d'aplicació més estesa és l'índex de diversitat de Shannon-Wiener (H'), que s'expressa:

$H' = - \sum p_i \log_2 p_i$; a on $p_i = N_i/N$, essent i= l'espècie i, i N l'abundància.

Darrerament s'empra la mateixa expressió però aplicant ln (logaritmes neperians) enlloc de $\log_2$, per la seva major facilitat de càlcul.

Les unitats d'aquest índex són bits/individu, el que fa referència a la informació continguda en cada espècie, en el sentit que la fórmula H' valora la incertesa de predir quina serà la propera espècie identificada en una mostra, la qual serà diferent per les espècies més abundants (més freqüents i per això més fàcils de trobar) que per les espècies rares (menys freqüents i per tant més difícils de trobar).

Els valors de H' es solen trobar entre:

$H'=0$, quan tots els individus són de la mateixa espècie.

$H'_{max} = \lg_2 S$, quan els individus s'equidistribueixen entre les S espècies o taxa.

Podem calcular, aleshores, la **Equitativitat**,

$E = H'/H'_{max}$, la qual es troba acotada entre 0 i 1.

Proposta d'activitat pràctica de càlcul de mètriques de diversitat

Tots els índexs abans esmentats es poden calcular de manera **manual**, introduint les fórmules adequades en un full excel.

També es poden usar **programaris específics**. Aquí us proposem per la seva facilitat d'ús el programari d'accés lliure PAST v.2.17. (Hammer, Harper & Ryan, 2001) (<http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>).

Per importar les dades des d'Excel a PAST v.2.17:

- Primer cal preparar un arxiu Excel amb un sol full amb les dades a analitzar (en aquest cas amb les abundàncies de les espècies per mostra).
- Obrir les dades d'Excel; això es pot fer de tres maneres:
 - o Copiar i enganxar les dades en el PAST. Si es vol que la primera fila i la primera columna siguin les etiquetes de les cel·les a PAST, cal que activeu l'opció 'edit labels'.
 - o Obrir l'arxiu Excel des de PAST. Cal activar l'opció 'edit labels'.
 - o PAST llegeix directament l'arxiu excel si l'heu guardat com a 'text delimitat per tabulacions'. Assegurar-se de que la cel·la superior esquerra conté únicament un punt.

Per practicar a la sessió d'ordinador podeu obrir l'arxiu de dades exemple [dades macroinvertebrats_Pertorbats_NP] que es troba al campus virtual, o d'altres que proposi el professor.

El programa PAST ofereix el càlcul de diverses mètriques i índexs de diversitat, us proposem escollir (copiar en els vostres resultats i interpretar més tard) el indicats amb un ✓.

Taxa_S	✓
Individuals (N)	✓
Dominance_D	✓
Shannon_H	✓
Simpson_1-D	no
Evenness_e^H/S	✓
Menhinick	✓
Margalef	✓
Equitability_J	✓
Fisher_alpha	no
Berger-Parker	no

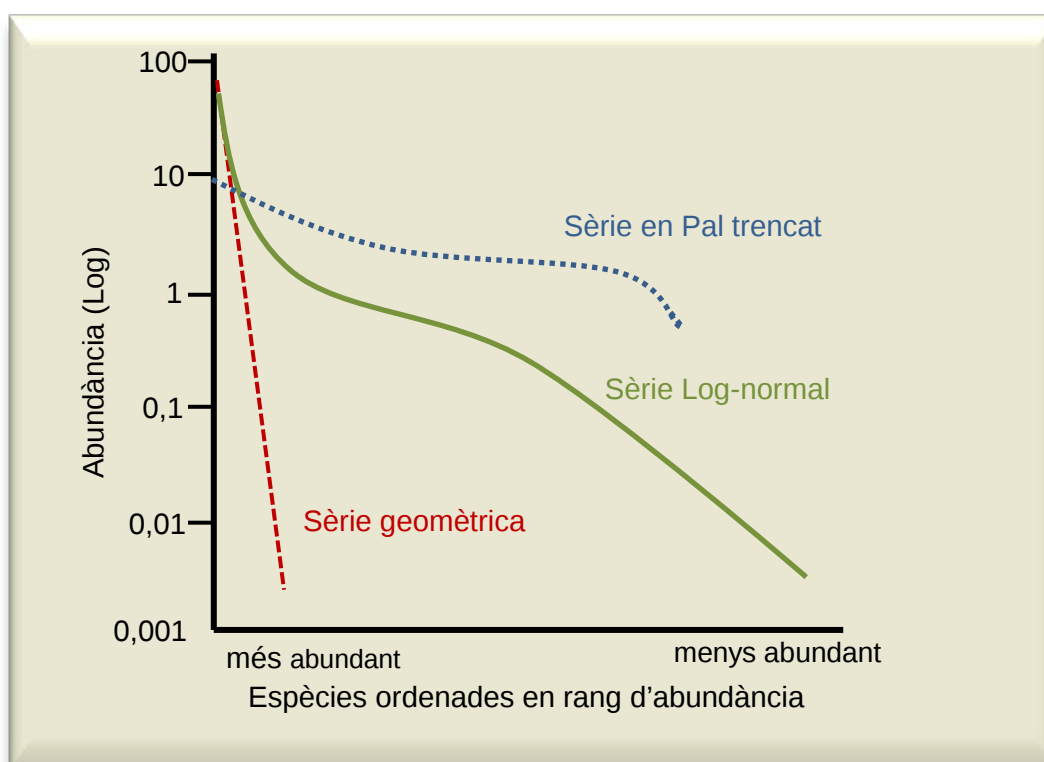
Els **criteris per a l'elecció** d'un o altre índex es refereixen a la seva capacitat de discriminació entre mostres i/o ambients, el que estarà relacionat amb la seva diferent sensibilitat a les espècies comunes i rares. A més, se sol considerar la seva facilitat de càlcul i que tinguin poca sensibilitat (poca variació) a la mida mostral.

2. Gràfiques rang-abundància

Amb l'objectiu d'analitzar quina és la distribució de l'abundància de les espècies d'una comunitat o d'una mostra, es dibuixen els gràfics de rang-abundància, que consisteixen en l'ordenació (eix x) dels taxons (espècies) de major a menor abundància relativa (eix y).

Aquesta tasca la realitzarem directament en un full Excel. Cal ordenar les famílies de macroinvertebrats de cada mostra per la seva abundància a cada unitat mostral en logaritmes, de més abundant a menys abundant.

La forma del gràfic per a cada mostra o grups de mostres ens permetrà comparar les comunitats.



Forma o nom del gràfic	Interpretació ecològica
Sèrie geomètrica	Comunitats pobres en espècies, la majoria dominants
Sèrie log-normal	Comunitats riques en espècies, amb moltes espècies d'abundància mitjana i poques espècies dominants i poques rares
Sèrie en pal trencat (broken-stick)	Comunitats amb moltes espècies amb abundàncies equitatives

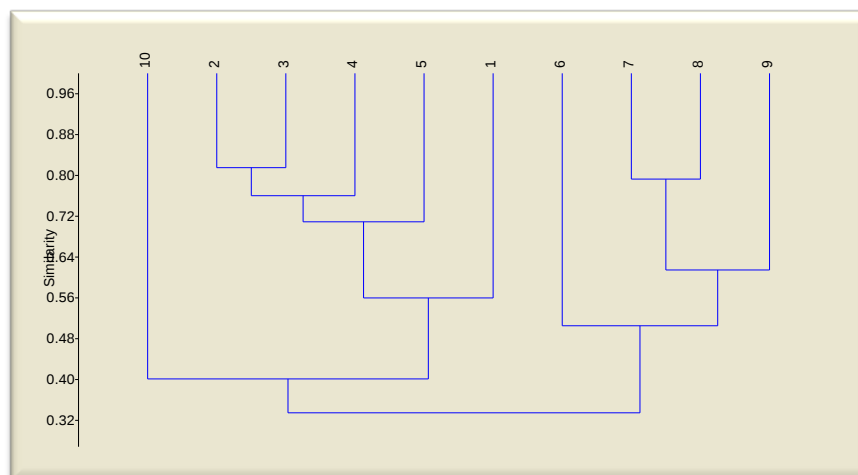
3. Aplicació de mètodes de classificació de les comunitats

L'objectiu de la classificació en l'estudi de les comunitats és el de trobar grups de mostres (o d'espècies) més o menys homogenis i ben diferenciats d'altres grups. Entendrem que les mostres dins d'un mateix grup tenen una composició en espècies similar i que les agrupacions trobades expliquen d'alguna manera condicions ambientals diferents.

En aquesta pràctica aplicarem els **mètodes de classificació jeràrquica**, que es visualitzen en forma de **dendrogrames** (agrupament en arbre de les mostres segons la seva semblança) o anàlisi en 'cluster', tot i que n'hi ha d'altres. Tots ells es basen en el càlcul previ **d'índexs d'afinitat, de dissimilaritat o de distància**, que expressen la semblança entre mostres aparellades de dues en dues. Amb aquests valors es construeix una matriu de similaritat (o de distàncies, depenent de l'índex emprat), i a partir d'aquí s'agrupen les mostres per la seva semblança, mitjançant l'ús d'un algorisme d'aglomeració o agrupament, per construir els dendrogrames.

Tots aquests càlculs els farem amb un programari específic, però cal prendre algunes decisions:

- i) Escollir l'índex d'afinitat, de dissimilaritat o de distància
- ii) Escollir l'algorisme d'aglomeració



Exemple de dendrograma de 10 mostres construït a partir d'una matriu d'afinitats (similarity). Els valors propers a 1 indiquen major semblança. L'arbre de classificació agrupa les mostres segons siguin més o menys semblants des del punt de vista de la seva composició específica.

En aquest cas podríem dir que hi ha 3 grups de mostres o de comunitats, el format per les mostres 6,7,8,9; el format per les mostres 2,3,4,5,1, i finalment el de la mostra 10.

Càlcul d'índexs d'afinitat o similaritat entre mostres

Diversos autors han proposat índexs d'afinitat entre mostres (o espècies) que varien segons siguin **qualitatius** (com el de Jaccard) o **quantitatius** (con la distància euclídea o l'índex de dissimilaritat de Bray-Curtis) i de com combinin les abundàncies en un algorisme que cerca maximitzar i visualitzar bé les diferències entre mostres i grups de mostres.

Qualitatius: Índex de Jaccard (I_{JAC})

$$I_{JAC} = \frac{a}{a+b-c} ;$$

$a = n^{\circ}$ espècies a l'inventari A
 $b = n^{\circ}$ espècies a l'inventari B
 $c = n^{\circ}$ espècies comunes als dos inventaris A i B
 Valors acotats entre 0 (mostres idèntiques) i 1 (mostres totalment diferents)

Quantitatius: Índex de distancia Euclídea

$$I_{Eucl} = \sqrt{(a_1 - b_1)^2 + (a_2 - b_2)^2}$$

$a_1 =$ abundància de l'espècie 1 a l'inventari A
 $b_1 =$ abundància de l'espècie 1 a l'inventari B
 $a_2 =$ abundància de l'espècie 2 a l'inventari A
 $b_2 =$ abundància de l'espècie 2 a l'inventari B
 Valors acotats entre 0 (mostres idèntiques) i ∞ (mostres més o menys diferents)

Quantitatius: Índex de dissimilaritat de Bray-Curtis

$$I_{BC} = \frac{2C}{Na + Nb} ;$$

$Na =$ suma de les abundàncies de les espècies a l'inventari A
 $Nb =$ suma de les abundàncies de les espècies a l'inventari B
 $C =$ suma de les abundàncies mínimes de les espècies comunes als dos inventaris A i B
 Valors acotats entre 0 (mostres idèntiques) i 1 (mostres totalment diferents)

Proposta d'activitat pràctica i de procediment de construcció del dendrograma

Per fer una primera prova de com funciona el mètode, obrir des del programa PAST l'arxiu de dades [dades macroinvertebrats_colonització_trasposat] o el que proposi el professor.

En el menú *Multivar* (que indica les anàlisis multivariants que fa el programa),

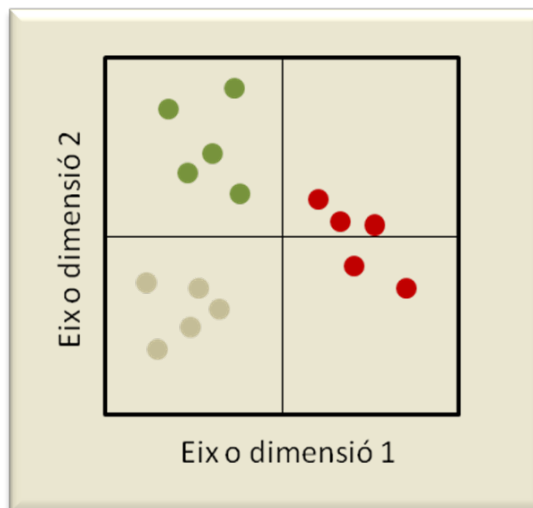
- i) seleccionar *Cluster analysis*, el qual generarà el dendrograma.
- ii) Triar un dels algorismes d'aglomeració proposats (*Paired group*, *Single linkage*)
- iii) Triar un dels següents índexs d'afinitat/distàncies: *Jaccard*, *Euclidean* i *Bray-Curtis* (el procediment doncs s'ha de fer tres vegades, una per cada índex).
- iv) Un cop generat el dendrograma clicar sobre la imatge per poder-la modificar en el seu format (si es vol) i per guardar-la ('*save picture*').

Copieu els gràfics en un arxiu power point per poder-los observar i comparar. Reflexioneu sobre quin és el que separa i/o agrupa millor les mostres.

Finalment, aplicar a les matrius de dades pròpies. Recordeu que cal disposar de la matriu transposada de les dades d'abundància per mostra.

4. Aplicació de mètodes d'ordenació de les comunitats

En el context de l'ecologia de comunitats es tracta d'ordenar els objectes ecològics (mostres o espècies) en un espai (bi-dimensional o n-dimensional) definit per les combinacions d'espècies de cada mostra. Com més a prop es trobin les mostres, més s'assembla la seva composició específica, el que permetrà agrupar les mostres en comunitats diferents segons aquesta semblança.



Il·lustració de la posició de 15 mostres (punts) en l'espai d'ordenació bidimensional definit per 2 eixos o dimensions principals. El grup vermell es trobaria en la part dreta de la dimensió 1, i els altres dos a l'esquerra. Mentre que respecte a la dimensió 2, es diferencien dos grups, el verd i el gris.

La interpretació ecològica dels eixos o dimensions es fa a partir de:

- el coneixement de l'autoecologia de les espècies (si se'n disposa), ja que sempre podem dibuixar en l'espai n-dimensional la posició de les espècies respecte a la disposició de les mostres, el que indicarà que aquella espècie és (la més) representativa d'una mostra o grup de mostres (de la comunitat).
- El disseny mostral, i per tant la distribució de les mostres en un gradient ambiental o condicions ambientals diferents establertes en un principi, però que no s'han mesurat explícitament (Anàlisi indirecta del gradient ambiental).
- L'acoblament entre les comunitats i les variables explicatives, és a dir, els vectors dels paràmetres ambientals mesurats (Anàlisi directa del gradient ambiental).

Els mètodes més coneguts i usats en el cas de l'anàlisi indirecta són:

- NMDS (Non Metric Multidimensional Scaling): utilitza la matriu d'afinitats o distàncies com a base per a l'ordenació.

- PCA (Anàlisi de components principals) i CA (Anàlisi canònica), utilitzen altres algorismes i l'aplicació d'una o altra anàlisi depèn de la longitud del gradient i de l'ajust lineal (el primer) o unimodal (el segon) de la corba de resposta de les espècies al gradient ambiental.

Els mètodes més coneguts i usats en el cas de l'anàlisi directa són:

- RDA (Anàlisi de redundància) i CCA (Anàlisi de correspondència canònica), que utilitzen altres algorismes i l'aplicació d'una o altra anàlisi depèn de la longitud del gradient i de l'ajust lineal (el primer) o unimodal (el segon) de la corba de resposta de les espècies al gradient ambiental mesurat.

Proposta d'activitat pràctica d'aplicació de les tècniques d'ordenació

Per fer una primera prova de com funciona el mètode, obrir des del programa PAST l'arxiu de dades [dades macroinvertebrats_colonització_trasposat] que es troba al campus virtual de l'assignatura. Com es pot veure cal que la matriu de dades d'abundància sigui la **transposada**, és a dir, que les mostres estiguin a les files i les famílies de macroinvertebrats a les columnes.

Seleccionar totes les files i columnes clicant a la cel·la del marge superior esquerra.

En el menú *Multivar* (que indica les anàlisis multivariants que fa el programa),

- v) seleccionar *Nonmetric MDS*,
- vi) Triar un dels següents índexs d'afinitat/distàncies: *Jaccard*, *Euclidean* i *Bray-Curtis* (el procediment doncs s'ha de fer tres vegades, un per cada índex).
- vii) Seleccionar *Row labels* per a que surtin les etiquetes de cada mostra.
- viii) Seleccionar *Shepard plot* i anotar el valor d'estrès (*stress*).
- ix) Un cop generat el gràfic d'ordenació clicar sobre la imatge per poder-la modificar en el seu format i per guardar-la ('*save picture*').

Copieu els gràfics en un arxiu power point per poder-los observar i comparar. Reflexioneu sobre quin és el que separa i/o agrupa millor les mostres. El més fiable dels resultats serà aquell que tingui un valor d'estrès més baix. L'**estrès** representa l'ajust entre la posició de les mostres en l'espai bidimensional del NMDS i els valors dels índexs d'afinitat o distàncies calculats per cada parell de mostres.

Finalment, aplicar el mateix procediment a les matrius de dades pròpies. Recordeu que cal disposar de la matriu transposada de les dades d'abundància per mostra.

2-PC

Protocol de camp de biofilm

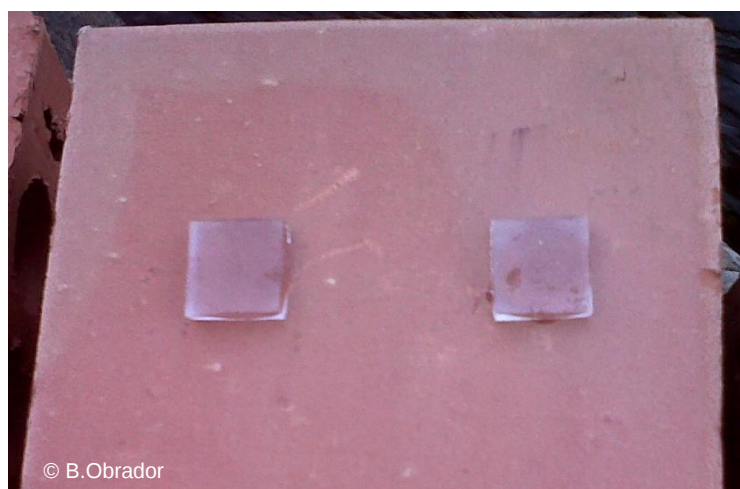
A l'activitat experimental que us proposem farem ús de *substrats artificials* per tal d'unificar i homogeneïtzar l'àrea d'estudi, evitant així la gran variabilitat de tipus de substrats i condicions que es donen en el medi fluvial.

Substrats artificials

Els substrats artificials seran en aquest cas plaques de vidre esmerilat donat que se n'ha comprovat, en estudis previs, la seva adequació al tipus d'estudi que es proposa.

Els substrats s'hauran col·locat prèviament en el riu i s'hi deixaran uns dies per tal de permetre la seva colonització per part del biofilm aquàtic. Se seguirà el mateix disseny experimental que per a l'estudi de colonització de macroinvertebrats. Les plaques de vidre són totes aproximadament iguals, de mida 1,6 cm².

S'han col·locat dues plaques damunt de cadascun dels *geros* utilitzats per la colonització de macroinvertebrats (vegeu protocol 1-PC). Una de les plaques servirà per a l'anàlisi de contingut pigmentari al laboratori. L'altra per a l'observació *in vivo* amb un microscopi òptic per a la caracterització (identificació i comptatge) de la comunitat d'algues del biofilm.



Recol·lecció de mostres

- **Cercar** i localitzar les unitats mostrals prèviament instal·lades.
- **Extreure** de l'aigua amb cura 2 unitats mostrals. La primera mostra es guardarà en aigua destil·lada en un pot de vidre hermètic per a la seva observació al microscopi, ajuntant-la amb les altres dues plaques de la mateixa tanda d'extracció (3 en total, una de cada *gero*). La segona placa es conservarà també en aigua destil·lada però s'aïllarà de la llum, embolicant, en aquest cas, el pot de vidre amb paper d'alumini. Aquest procediment es farà 3 vegades (3 rèpliques).

Full de camp

Riu:

Coordenades UTM:

Recol·lector/a:

Localitat:

Data:

Mostra (rèplica)	1	2	3
Codi unitat mostral			
Data inici de colonització			
Data recol·lecció			
Dies de colonització			

MATERIAL

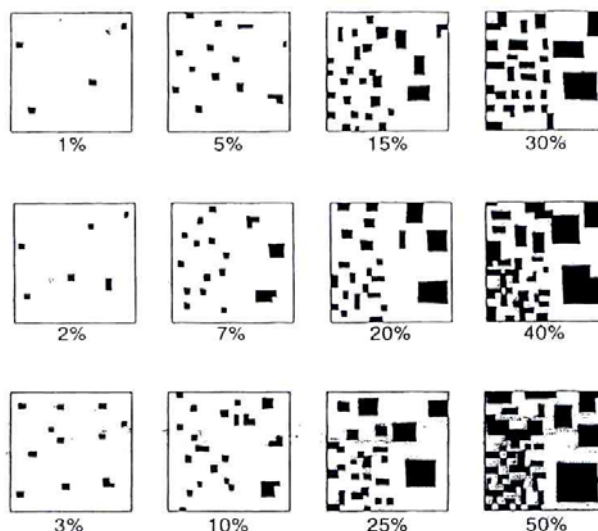
N substrats artificials (plaques de vidre esmerilat)
 N pots de vidre amb tap hermètic
 Aigua destil·lada
 Paper d'alumini
 Retolador indeleble
 Acetona
 Guants
 Botes d'aigua
 Rasqueta de pintor

2-PL

Protocol de laboratori de biofilm

Tractament de les mostres per a l'observació al microscopi òptic

- **Extreure** la mostra del pot usat pel transport.
- **Raspar** tota la placa de vidre amb una espàtula dins d'un pot amb un volum conegut d'aigua destil·lada (el mínim possible), i homogeneïtzar la solució tot sacsejant enèrgicament.
- Amb una pipeta automàtica, **agafar un volum** conegut de la solució amb algues, **disposar-lo** damunt d'un portaobjectes i cobrir-lo amb un cobreobjectes.
- **Observar** al microscopi òptic (fins a 40x).
- **Identificar taxonòmicament** els grans grups d'algues presents mitjançant l'ús de guies especialitzades. El nivell de resolució taxonòmica serà el de família o de gènere o espècie sempre que sigui possible. També s'usarà una aproximació de taxonomia funcional en els casos de taxonomia morfològica més complicada (per exemple: unicel·lular, multicel·lular).
- **Quantificar l'abundància relativa** de cadascun dels tàxons algal. Per a tal fi, s'escolliran de 5 a 10 camps òptics a l'atzar. A cada camp es quantificarà el recobriment (en %) de cada tàxon i se'n farà un promig per a la mostra (o rèplica). La suma de les abundàncies relatives dels tàxons és l'estima de **l'abundància total** de la comunitat (recobriment global).



Tractament de les mostres per a l'anàlisi de contingut pigmentari

- **Raspar** la placa de vidre amb una espàtula fent caure **tot el biofilm** al mateix pot amb aigua destil·lada.
- **Filtrar** manualment tot el material resultant amb un filtre de fibra de vidre petit mitjançant xeringa i porta-filtres de 25 mm.
- **Disposar** el filtre, que reté tot el material particulat, en un morter de vidre esmerilat amb una mica d'acetona 90%, i procedir a la **tritració** durant uns minuts per tal de maximitzar l'extracció dels pigments fotosintètics de les cèl·lules. Minimitzar en la mesura que sigui possible l'escalfament i l'exposició a la llum de la mostra.
- **Preparar** l'equip de filtració, acoblant l'embut de filtració (amb el corresponent filtre de fibra de vidre GFF de 47mm en el seu portafiltres) al matràs Kitasato i connectar-ho a la bomba peristàtica. Col·locar a la sortida de l'embut un tub de vidre graduat que retengui l'extracte filtrat enlloc d'alliberar-lo al matràs.
- **Abocar** l'extracte en l'embut de l'equip de filtració i engegar la bomba per filtrar-lo i eliminar així les partícules per disminuir-ne la terbolesa abans de la seva lectura.
- **Mesurar exactament** el volum (ml) filtrat i recollit en el tub cònic graduat.
- **Abocar** part d'aquest volum en una cubeta de vidre d'1 cm.
- Procedir a la **lectura espectrofotomètrica** de les absorbàncies a les longituds d'ona: 430nm (clorofil·la a+carotens+xantofil·les), 665nm (clorofil·la a), i 750nm (terbolesa). Si la lectura a 750nm < 0,2 donar el valor per correcte i anotar-lo, sinó tornar a filtrar.
- **Calcular** la biomassa fotosintètica activa (concentració de clorofil·la en el biofilm) i l'índex pigmentari de Margalef (A430 / A665).

$$\text{mg Chl a m}^{-2} = 14,3 \text{ mg l}^{-1} \text{ cm}^{-1} (A_{665} - A_{750}) [(V \text{ extracte (l)} \times 1 \text{ cm de cubeta}) / \text{superfície mostra (m}^2)]$$

MATERIAL

Pines i espàtules
 Cobreobjectes i portaobjectes
 Pipeta automàtica i puntes de pipeta
 Paper assecant
 Microscopi òptic
 Guies identificació d'algues
 Pots de vidre i taps
 Portafiltres manual amb xeringa
 Filtres de 25mm i 47mm
 Morters de vidre esmerilat
 Acetona 90%
 Equip de filtració
 Tubs cònics de vidre graduats
 Espectrofotòmetre

Full de laboratori

Riu:
Coordenades UTM:
Recol·lector/a:

Localitat:
Data:

Composició i abundància (%) de la comunitat algal epibentònica

	Mostra (rèplica) Abundància relativa	1 (promig)	2 (promig)	3 (promig)
	Codi unitat mostral			
	Unitat Taxonòmica			
Bacil·lariòfits	Diatomees unicel·lulars			
	Diatomees pedunculades			
	Diatomees multisel·lulars			
Crisòfits	<i>Hydrurus foetidus</i>			
Cloròfits tricals	<i>Ulothrix</i> spp.			
Cianòfits	Formes filamentoses			
	Abundància total (recobriment global)			

Biomassa de la comunitat algal epibentònica

Mostra	Mostres de colonització			Metabolisme	
Codi unitat mostral				Rèplica 1	Rèplica 2
Superfície mostra (m ²)					
Volum de l'extracte (l)					
Absorbància a 750 nm					
Absorbància a 665 nm					
Absorbància a 430 nm					
Índex 430/665					
Biomassa fotosintètica activa (mg Chl/m ²)					

Cloròfit trical

Ulothrix sp.

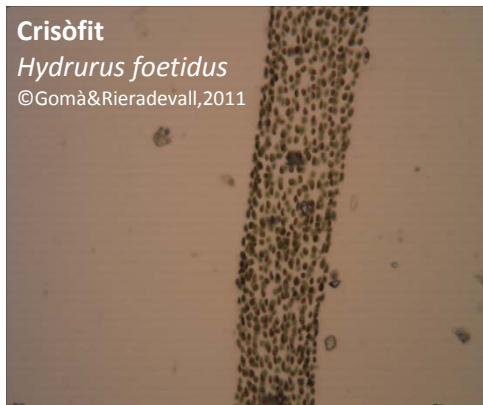
©Gomà&Rieradevall, 2011



Crisòfit

Hydrurus foetidus

©Gomà&Rieradevall, 2011



Diatomea multiicel·lular

Fragilaria sp. ©Gomà, 2012



Diatomea pedunculada

Gomphonema sp.

©Gomà, 2012



Diatomea unicel·lular

Cymbella sp.

©Gomà, 2012



Cianòfit filamentos

Phormidium sp.

©Gomà, 2012



2-PAD

Protocol d'anàlisi de dades de biofilm

Caracterització de les comunitats d'algues epibentòniques

L'anàlisi de dades corresponent als resultats del biofilm serà el mateix que el presentat i explicat per a les dades de macroinvertebrats. Tot i que en aquest cas la identificació taxonòmica es farà a menor resolució i per tant algunes mètriques no es podran aplicar.

En concret, l'objectiu serà:

- la interpretació dels resultats de dades d'abundàncies absolutes i relatives, biomasses absolutes i relatives de cada tipus funcional d'alga.
- l'aplicació de mètodes de classificació (índexs d'afinitats, dissimilaritats i distàncies, construcció de dendrogrames) i d'ordenació.

Adequació de la base de dades primàries

- **Preparar** els resultats dels comptatges o inventari en forma de matriu bruta de dades quantitatives en un arxiu Excel, amb les mostres a les columnes i els taxons a les files. En alguna ocasió ens interessarà utilitzar la matriu transposada.
 - o abundàncies relatives (% de recobriment de cada taxon d'alga per unitat mostral)
 - o Biomassa fotosintètica activa (mg Chl/m²) total per unitat mostral,
 - o Índex de Margalef 430/665 de la comunitat algal epibentònica.

Programes

Excel

PAST (accés lliure al web

<http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>)

3-PC

Protocol de camp de metabolisme fluvial

En aquesta activitat experimental realitzarem incubacions *in situ* de biofilm en cambres estanques. Determinarem els paràmetres metabòlics bàsics del biofilm fluvial (Producció primària neta: *NPP*, Producció primària bruta: *GPP*, i respiració: *R*) a partir de balanços d'un gas metabòlic, en aquest cas l'oxigen dissolt. Per tal d'homogeneïtzar la superfície metabòlicament activa en les diferents incubacions emprarem substrats artificials prèviament col·locats en el riu i colonitzats.



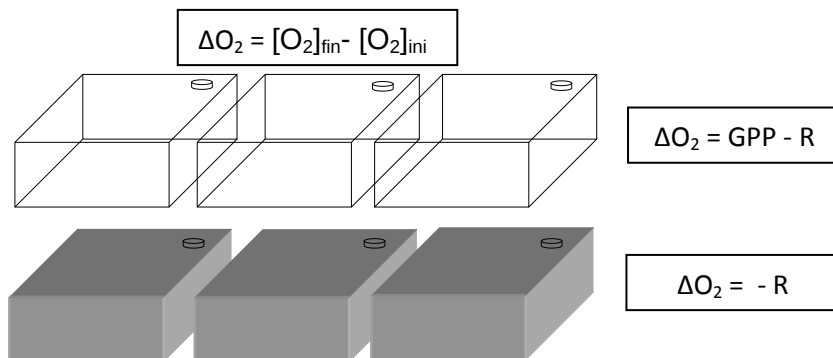
Disseny

Les cambres d'incubació que emprarem són cambres de metacrilat de 20x12x5 cm. Es disposa de cambres transparents i de cambres opaques a la llum per poder determinar respectivament la producció neta (PN) i la respiració (R) en els substrats colonitzats. Emprarem 3 rèpliques de cada condició.

Els substrats artificials, de plàstic esmerilat i dimensions 20x12 cm, s'hauran col·locat prèviament en el riu i s'hi deixaran tres setmanes per tal de permetre una bona colonització del biofilm aquàtic.

Les incubacions tindran una durada de **2 hores**, i mesurarem la concentració inicial ($[O_2]_{ini}$) i final ($[O_2]_{fin}$) d'oxigen amb sensors de camp (oxímetres optodes d'alta precisió).

Paral·lelament, durant tot el temps que durin les incubacions, mesurarem la radiació PAR i la temperatura de l'aigua mitjançant sensors d'enregistrament continu tipus HOBO. També es determinarà la concentració pigmentària al biofilm.



Instal·lació de les cambres d'incubació

- Seleccionar una zona del tram de riu adient per a instal·lar les **sis cambres** d'incubació. Cal que les cambres quedin completament cobertes d'aigua i que les condicions d'il·luminació siguin homogènies.
- **Instal·lar un sensor** de registre en continu de PAR i temperatura (HOBO) a poca distància de la zona d'incubació, però allunyat de la zona de pas.
- **Esbandidir** amb aigua del riu les cambres i les respectives cobertes.
- **Omplir** fins a la meitat les cambres amb aigua del riu.
- **Cercar** i localitzar els substrats artificials prèviament instal·lats. Separar-los amb cura dels geros.
- Col·locar un substrat artificial dins cada cambra (òbviament amb la part colonitzada cap amunt).
- **Tapar** les cambres assegurant la tapa o coberta amb els serjants i les pinces (fer la pressió necessària, no cal excedir-se).
- **Acabar d'omplir** les cambres pel forat evacuador amb l'ajuda de la gerra i un embut. Assegurar que no quedin bombolles d'aire a l'interior.
- **Mesurar** la concentració d'oxigen dissolt en cada cambra amb el sensor. Anotar la concentració ($mg\ L^{-1}$) i la saturació (%) d'oxigen, i la temperatura de l'aigua ($^{\circ}C$).

- **Tapar** el forat evacuador de les cambres amb el tap de cautxú.
- **Instal·lar** les cambres al riu i **anotar l'hora d'inici** de les incubacions.

Recollida de les cambres i mesura de les condicions finals

- Treballar amb les cambres d'una en una (no cal treure cap cambra de l'aigua fins al moment previ a la seva mesura).
- Després del període d'incubació obrir amb cura el tap de cautxú i introduir el sensor d'oxigen **minimitzant l'agitació** i el bombolleig.
- Esperar l'estabilització de la mesura i anotar els valors. Anotar també **l'hora de finalització** de les incubacions.
- Mostrejar **dues unitats mostrals de biofilm** d'1x1cm (vidres esmerilats al gero adjacent) i conservar-les en aigua destil·lada en un pot de vidre hermètic protegit de la llum. Al laboratori procedir segons el protocol 2-PL.
- Netejar la cambra i **tornar a instal·lar els sis substrats artificials** al riu.
- Descarregar les dades del sensor HOBO a l'ordinador (es pot fer al laboratori).

Ús dels enregistradors de llum i temperatura hobo pendant

Per a iniciar l'enregistrament de dades al HOBO (es pot fer al laboratori)

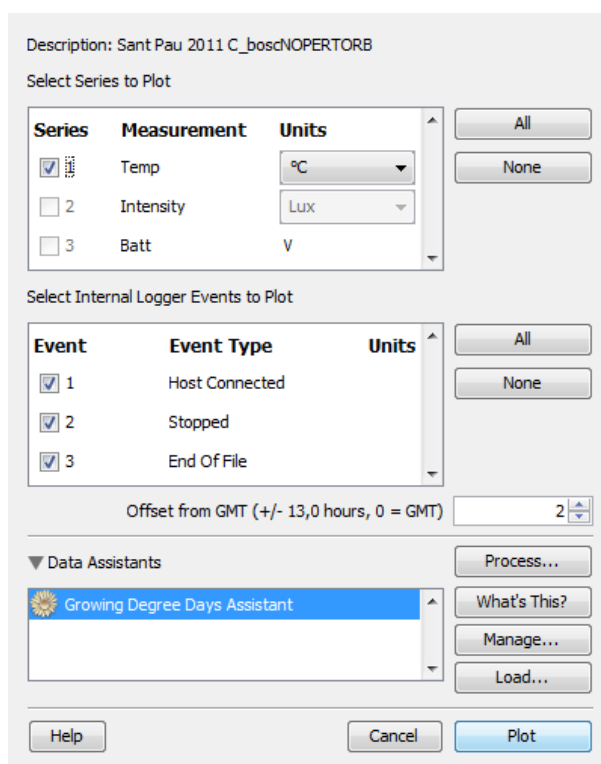
- Connectar el HOBO a la base òptica i connectar-ho a un port USB del portàtil.
- Engegar el software HoboWare.
- DEVICE > LAUNCH > seleccionar l'aparell > apareix aquesta pantalla.

- comprovar l'estat de la bateria
- introduir descripció de les dades, site, etc. (útil si s'instal·len diversos HOBOs)

- seleccionar si volem registre de temperatura i/o de llum.
- definir l'interval de mostreig en 5 minuts.
- definir l'inici del mostreig a NOW i prémer LAUNCH.
- tancar el software, desconnectar la base i instal·lar el HOBO.

Per descarregar les dades del HOBO (es pot fer al laboratori)

- Connectar el HOBO a la base òptica i connectar-ho a un port USB del portàtil.
- Engegar el software HoboWare.
- DEVICE > STOP > seleccionar l'aparell per aturar-lo.
- DEVICE > READOUT > seleccionar l'aparell > definir l'arxiu i la carpeta on es guardaran les dades (aquests arxius tenen l'extensió **.hobo**) > apareix aquesta pantalla.



Description: Sant Pau 2011 C_boscNOPERTORB

Select Series to Plot

Series	Measurement	Units
☒ 1	Temp	°C
☐ 2	Intensity	Lux
☐ 3	Batt	V

Select Internal Logger Events to Plot

Event	Event Type	Units
☒ 1	Host Connected	
☒ 2	Stopped	
☒ 3	End Of File	

Offset from GMT (+/- 13,0 hours, 0 = GMT) 2

Data Assistants

 Growing Degree Days Assistant

Buttons: All, None, Process..., What's This?, Manage..., Load..., Help, Cancel, Plot

- seleccionar les variables que volem descarregar.
- seleccionar tots els events.
- PLOT > ens dibuixa la sèrie de dades.
- DEVICE > STOP > seleccionar l'aparell per aturar-lo.
- FILE > EXPORT POINTS AS EXCEL TEXT.
- seleccionar EXPORT TO A SINGLE FILE.

- definir l'arxiu i la carpeta de destí (es genera un arxiu amb l'extensió **.csv**, llegible amb Excel).
- tancar el software i desconnectar la base i el HOBO de la base.

MATERIAL

6 cambres d'incubació
 Taps de suro
 24 serjants i 36 pinces de fuster
 1 sensor HOBO de llum i temperatura
 2 optodes de camp
 6 substrats artificials prèviament colonitzats
 2 gerres dispensadores d'aigua
 4 embuts de plàstic
 2 pots de vidre hermètics de 10 ml
 Aigua destil·lada
 Acetona
 Bosses d'escombraries negres
 Brides
 Rasqueta de pintor
 3 caixes de fruita de plàstic

Metabolisme fluvial

3-PC

Punt de mostreig:
Coordenades UTM:

Localitat:
Data:

[illegible]

3-PAD

Protocol d'anàlisi de dades de metabolisme fluvial

Realitzarem càlculs sobre les dades de concentració inicial i final d'oxigen en les cambres d'incubació per tal d'estimar, per a cadascuna, els següents descriptors metabòlics a escala diària: Producció primària neta: NPP, Producció primària bruta: GPP, i respiració: R.

Dades

- Superfície dels substrats artificials colonitzats: 240 cm²
- Volum útil de les cambres d'incubació (ml): 1400 ml
- Durada del dia (hores amb insolació): 10 h (latitud de Barcelona)
- Concentració de clorofil·la-a en els substrats artificials (veure protocol 2-PAD per a calcular la concentració de clorofil·la en el biofilm)

Assumpcions:

1. A les cambres fosques només hi ha R del biofilm.
2. A les cambres clares hi ha R i GPP del biofilm.
3. R és igual a les cambres clares i a les fosques.
4. GPP és independent de la intensitat de PAR, essent constant durant totes les hores amb insolació.
5. Tant R com GPP són termo independents.

Variables elaborades/secundàries:

- Taxes de respiració i producció bruta horàries: $x \pm s.d.$
- Producció neta diària: $x \pm s.d.$

Càlcul dels descriptors metabòlics a escala horària

A partir de la concentració inicial i final d'oxigen a cada cambra calcularem les taxes horàries de canvi de concentració, expressades en $\text{mgO}_2 \text{ mgChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

$$\left(\frac{\Delta O_2}{\Delta t}\right) = \frac{[O_2]_{fin} - [O_2]_{ini}}{t_{fin} - t_{ini}} \frac{1}{[Chl_a] \cdot S} V$$

on t_{ini} i t_{fin} són les hores d'inici i final de la incubació, V és el volum útil de la cambra (en L), S és la superfície de biofilm que s'ha incubat a cada cambra (cm^2), i $[Chl_a]$ és la concentració de clorofil·la-a en els substrats artificials (en mgChl cm^2).

A partir d'aquestes taxes estandarditzades, calcularem els descriptors horaris GPP_H i R_H , expressats també en $\text{mgO}_2 \text{ mgChl}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

En el cas de R , emprarem les taxes de les cambres fosques:

$$\left(\frac{\Delta O_2}{\Delta t}\right)_{FOSQUES} = -R_H$$

Que emprarem per a calcular GPP_H , juntament amb les taxes de les cambres clares:

$$\left(\frac{\Delta O_2}{\Delta t}\right)_{CLARES} = GPP_H - R_H$$

Integració dels descriptors metabòlics a escala diària

La integració dels descriptors metabòlics a escala diària es basarà en l'assignació de la taxa GPP_H a totes les hores amb insolació (assumpció núm. 4), i de la taxa R_H a les 24 hores del dia (assumpció núm. 5).

Per tant, els descriptors metabòlics diaris, GPP_D , R_D i NPP_D es calculen:

$$GPP_D = D \cdot GPP_H$$

$$R_D = 24 \cdot R_H$$

$$NPP_D = GPP_D - R_D$$

on D és la durada del període diari amb insolació (en hores).

4-PC

Protocol de camp de descomposició

A l'activitat experimental que us proposem farem ús de bosses de descomposició *litter bags*, en les que introduïrem fullaraca de dues espècies d'arbres planifolis propis de vegetació de ribera (el vern (*Alnus glutinosa*)) o de boscos propers al riu (el faig (*Fagus sylvatica*)). L'experiment es realitzarà a l'hora en els dos ecosistemes estudiats, el fluvial i el bosc.

Litter bags

En aquest estudi farem servir malla de 0,5 cm de tal manera que es faciliti l'accés a les fulles en descomposició no tan sols de la comunitat de microorganismes sinó també dels invertebrats detritívors. La temperatura és un factor clau en tot procés metabòlic, per tant, amb l'objectiu de fer uniformes les dades en els diferents sistemes estudiats es col·locaran uns sensors en continu de temperatura (HOBO).



© B. Obrador



© B. Obrador

A cada *litter bag* s'introduirà un pes conegut de fullaraca i es mesurarà la pèrdua de pes al llarg del temps. Els *litter bags* s'hauran col·locat prèviament en el riu i el bosc i s'hi deixaran un temps determinat per tal de permetre la seva colonització per part dels organismes descomponedors i detritívors presents a cada ecosistema.

Recol·lecció de mostres

- **Cercar** i localitzar els *litter bags* prèviament col·locats .
- En el riu, **extreure** de l'aigua amb cura cada *litter bag* i ficar cada un d'ells en una bossa estanca amb una petita quantitat d'aigua. Transportar en una nevera de camp al laboratori.
- En el bosc, recol·lectar cada *litter bag* i ficar-lo en una bossa estanca.
- **Cercar** el sensor de temperatura i descarregar les dades a l'ordinador (només l'últim grup de pràctiques).

Full de camp

Riu:/Bosc:

Coordenades UTM:

Faig/Vern:

Codi:

Recol·lector/a:

Localitat:

Data i hora:

MATERIAL

3 *litter bags*
 3 bosses plàstic estanques
 Retolador indeleble
 1 Nevera de camp o contenidor
 1 notebook i 1 lector de HOBOS (darrer grup)

4-PL

Protocol de laboratori
de descomposició**Tractament de les mostres**

- **Extreure** les fulles de la bossa usada per transport i posar-la amb l'aigua que quedi en la bossa en una safata de plàstic. Recollir l'etiqueta identificadora de cada mostra.
- **Netejar** amb cura cada fulla amb aigua i separar del material aliè a la fullaraca dipositada inicialment.
- **Col·locar** les fulles en un sobre de paper, retolar amb el codi de la mostra, i posar-les a l'estufa a 110 °C.
- **Treure** les fulles de l'estufa al cap de 24 h i pesar.
- **Calcular** el pes sec romanent a partir del pes sec que es va col·locar inicialment a cada *litter bag* i la temperatura mitjana durant el període de descomposició.

MATERIAL

Safates plàstic
Pot amb malla de 500 µm
Ruixadors de jardineria
Pots de plàstic de tapa vermella
Sobres de paper
Retolador
Paper assecant
Calculadora

Full de laboratori

Riu:/Bosc:

Localitat:

Coordenades UTM:

Data i hora:

Faig/Vern:

Codi:

Recol·lector/a:

CODI	Pes sec inicial (Psi)	Pes sec final (Psf)	% Biomassa romanent (Psf/Psi)*100

4-PAD

Protocol d'anàlisi de dades de descomposició

Calcularem la taxa de descomposició per a cada condició seguint un model de cinètica exponencial (Olson, 1963). Per corregir l'efecte de la temperatura, s'expressaran les taxes en graus dia⁻¹.

Dades

- Pesos secs de les *litter bags* a cada data d'extracció
- Sèrie de temperatura des de l'inici de l'experiment

Variables elaborades/secundàries:

- Taxes de descomposició per a cada tipologia de fullaraca i ambient (graus dia⁻¹)

Càlcul de les taxes de descomposició

S'aplicarà el model d'Olson (1963):

$$B_t = B_o e^{-k t}$$

on B_t és el % de biomassa romanent al temps t , B_o és el % de biomassa romanent al temps 0, t és el temps d'incubació (dies o graus dia) i k és la taxa de descomposició (dies⁻¹ o graus dia⁻¹).

Per calcular la taxa de descomposició corregida per l'efecte de la temperatura, abans cal expressar el temps en graus dia, calculant la temperatura mitjana del període d'incubació i multiplicant aquest valor pel temps en dies:

Graus dia: T_m (°C) * temps incubació (dies)

5-PC

Protocol de camp d'estructura forestal

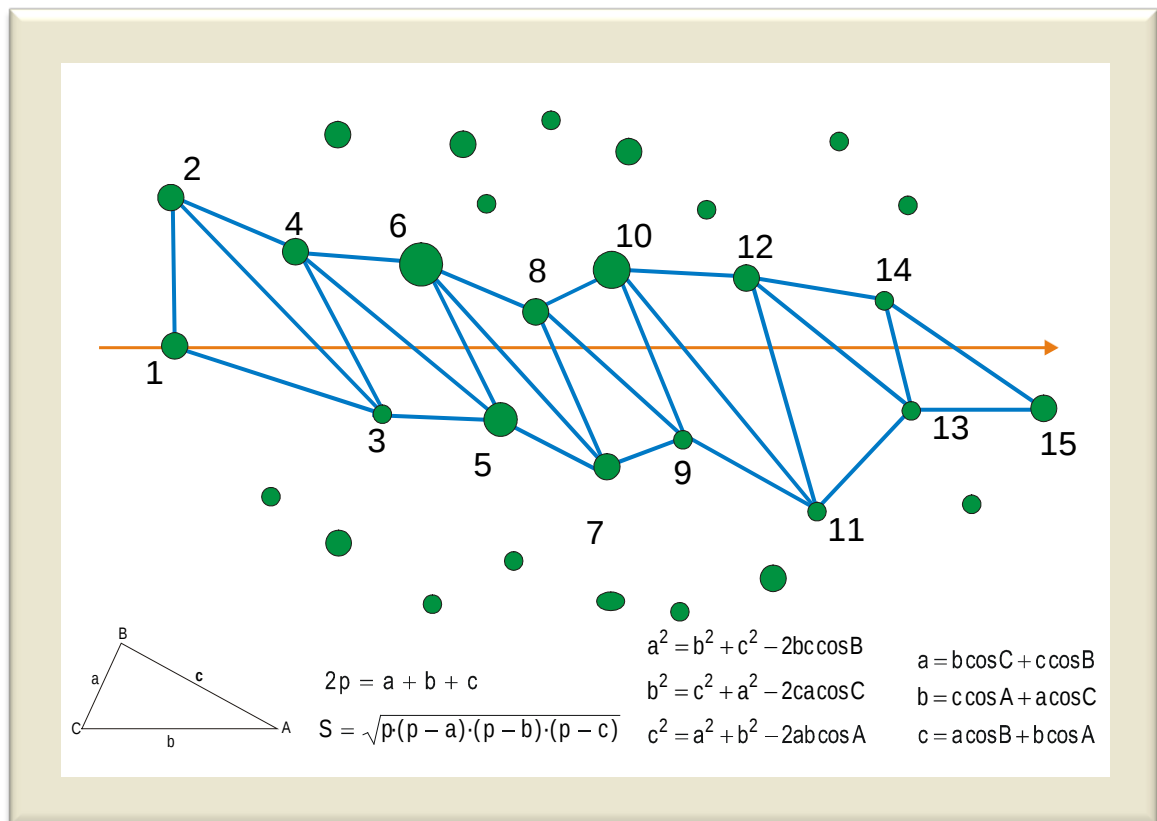
En aquesta activitat experimental treballarem en un bosc mixt amb pi roig i faig principalment (amb algunes espècies acompanyants com són els roures i bedolls) en el que es distingeixen dues zones contrastades per l'activitat de la pastura. La frontera entre les dues zones es delimita per un pastor elèctric que determina la zona d'accés del bestiar. S'establirà un mostreig en forma de transsecte a cadascuna de les zones, al llarg del qual es recollirà informació que ens permetrà realitzar les següents avaluacions amb feines de camp i de laboratori.

Transsecte

S'emprarà la **tècnica de veïns alterns** per tal d'estimar la densitat (arbres/ha), l'àrea basal (m^2/ha) i la distribució en classes diamètriques.

- **Marcar el peu 1 d'inici** del transsecte.
- Col·locar una corda o cinta seguint la direcció del transsecte des del peu 1.
- Mesurar el **DBH** (*Diameter at Breast Height*), és a dir, el diàmetre a 1,3 m d'alçada, al peu de l'arbre d'inici del transsecte.
- Mesurar la **distància als dos veïns més propers** a banda i banda de la línia del transsecte (1 a 2 i 1 a 3). El que queda més a prop és el que s'anomena peu 2, i l'altre peu 3.
- Mesurar els **DBHs** dels peus 2 i 3.
- Des del peu 2 es mesura la distància al peu 3 (a l'altre costat del transsecte).
- Des del peu 2 mesurar la **distància al peu més proper del mateix costat**, que s'anomena peu 4.

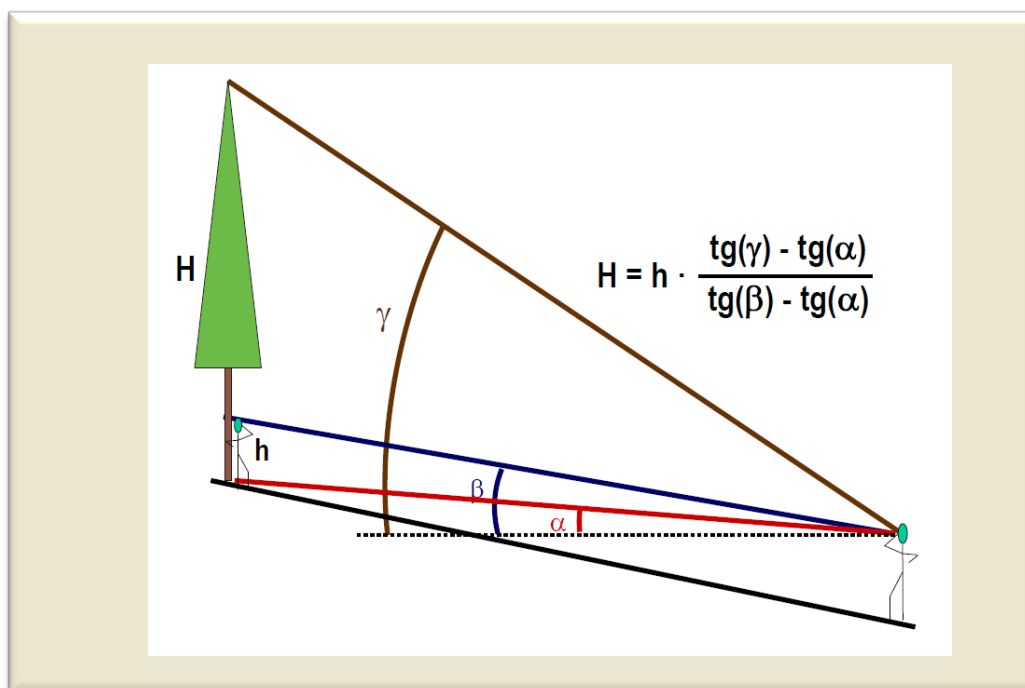
- Des del peu 3 es mesura la **distància al peu 4 i al peu 5** (més proper als seu costat de la línia de transsecte) i també es mesuren els seus **DBHs**.
- Des del peu 4 es mesura la distància al peu 5 (altre costat i més proper a la línia de transsecte) i al peu 6 (del mateix costat), es mesuren els seus DBHs.
- Així es procedeix seguint l'esquema indicat a sota, fins a tenir 20-30 arbres mesurats (DBH) amb les distàncies als seus veïns.



Estima de l'alçada dels arbres

Per estimar l'alçada dels arbres usarem una aproximació trigonomètrica basada en la mesura d'una alçada de referència i una sèrie d'angles. Aquesta estima de l'alçada de l'arbre és independent de la distància a la que es trobi l'observador. La mesura es realitzarà a tots els arbres del transsecte.

- Situar una persona al **peu de l'arbre**. Mesurar-ne l'alçada de referència h (m).
- Per minimitzar els errors en les mesures dels angles, **situar l'observador** a una distància prou llunyana que permeti veure la punta i la base de l'arbre.
- Amb el clinòmetre **mesurar els angles** indicats a la figura.
- Calcular l'alçada estimada de l'arbre (H , en m) seguint l'equació de la figura.



MATERIAL

Cintes mètriques 5-10 m
Corda o cinta pel transsecte (50 m)
Cintes pi-diamètriques
2 Clinòmetres
Cinta adhesiva de pintor

5-PAD

Protocol d'anàlisi de dades d'estructura forestal

Realitzarem càlculs que ens permetin estimar els descriptors estructurals de distribució de classes diamètriques i de biomassa de fusta i fulles.

Dades

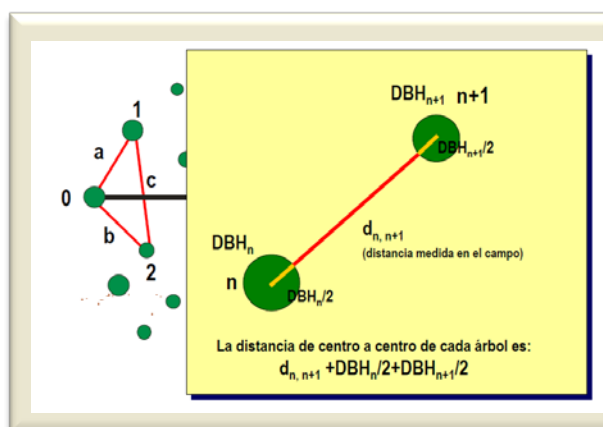
- DBHs (cm)
- Distàncies entre els arbres (m)
- Alçades (m)

Variables elaborades:

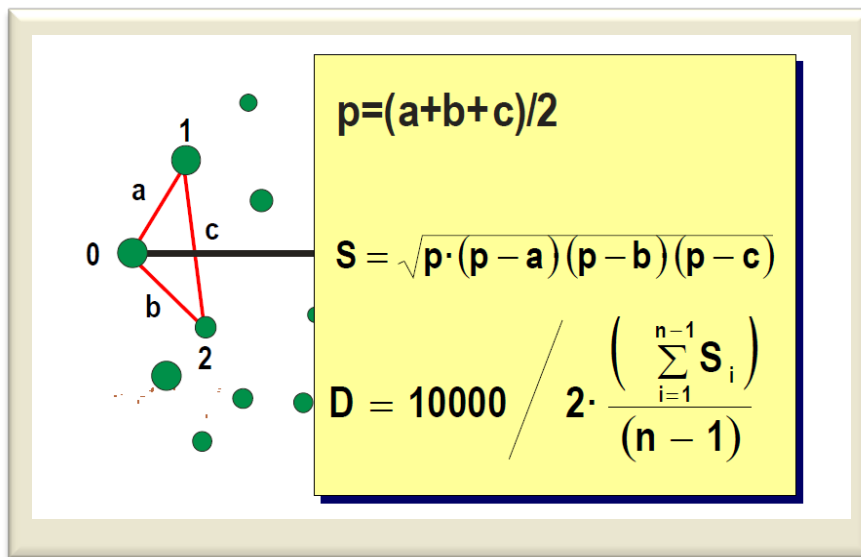
- Densitat d'arbres (peus / ha)
- Àrea basal (m^2 / ha)
- Volum de fusta (dm^3)
- Biomassa de tronc (Mg / ha)
- Biomassa de fulles (Mg / ha)
- Índex d'àrea foliar (m^2 fulla / m^2 terreny)
- Diversitat de classes de mides.

Estima de la densitat d'arbres

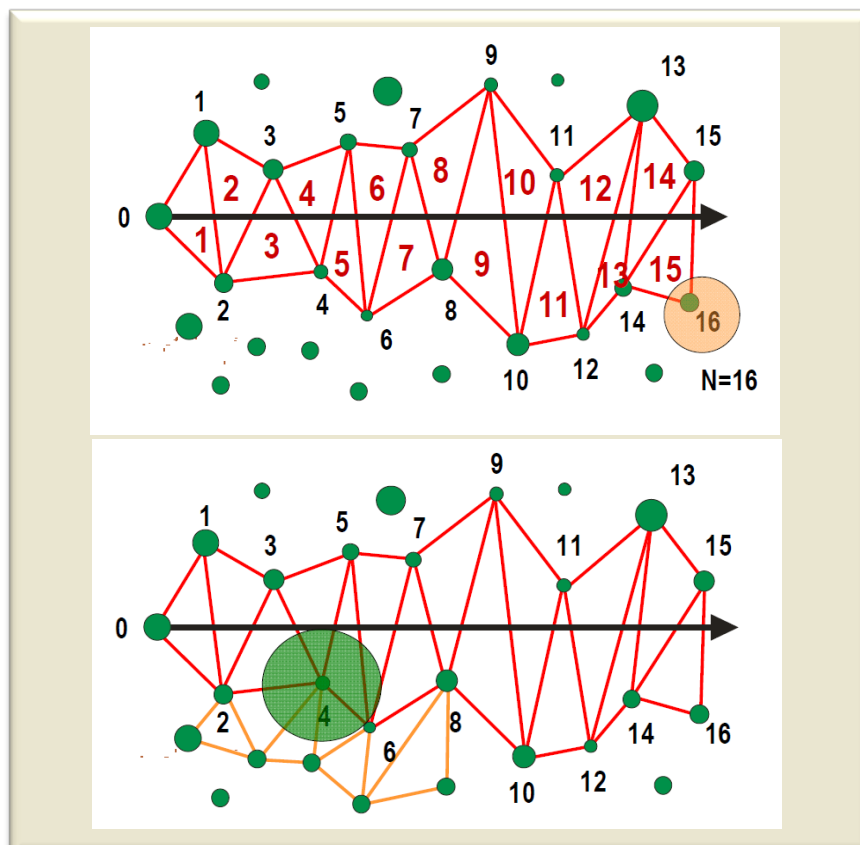
A partir de les distàncies mesurades al llarg del transecte podrem calcular l'àrea que hi ha entre els arbres (triangles), un cop corregida la distància pels diàmetres dels arbres mesurats.



Càlcul de la densitat d'arbres utilitzant les mesures del transecte:

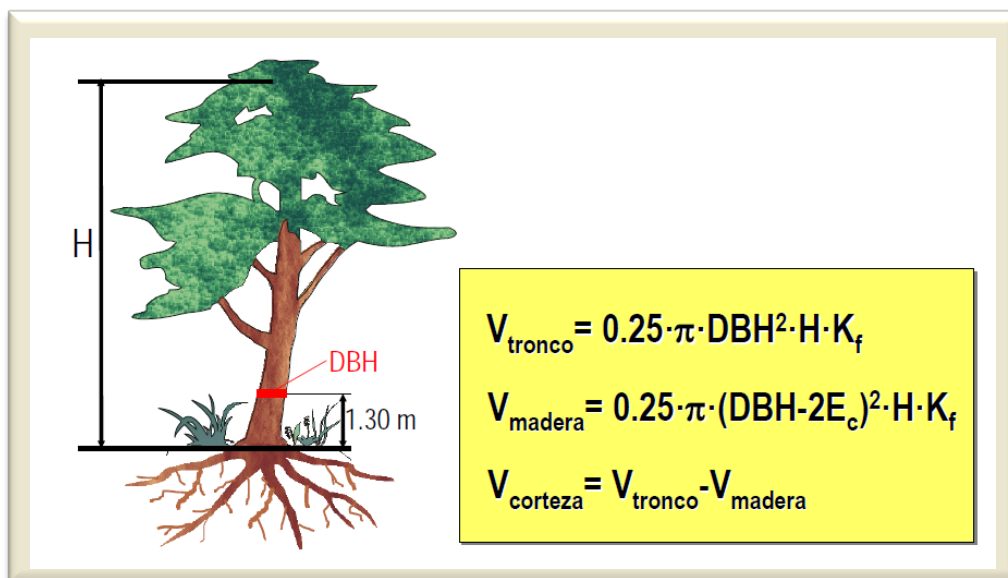


On p és el semiperímetre (m), S és la superfície del triangle (m^2), D és la densitat d'arbres al bosc (arbres/ha). A la figura de sota es mostra un exemple de la distribució d'arbres, essent el 16 el darrer arbre considerat pel càlcul de triangles. El càlcul de densitat es basa en que l'àrea mitjana que ocupa un arbre es reparteix amb els seus veïns, que configuren els tres triangles a una banda. Aquest valor es multiplica per dos donat que també hi ha tres triangles compartits amb veïns de l'altra banda (com es veu a la figura de sota arbre 4). Una hectàrea té 10000 metres quadrats, en dividir-ho per l'àrea mitjana que ocupa un arbre, obtenim la densitat d'arbres al bosc (arbres/ha).

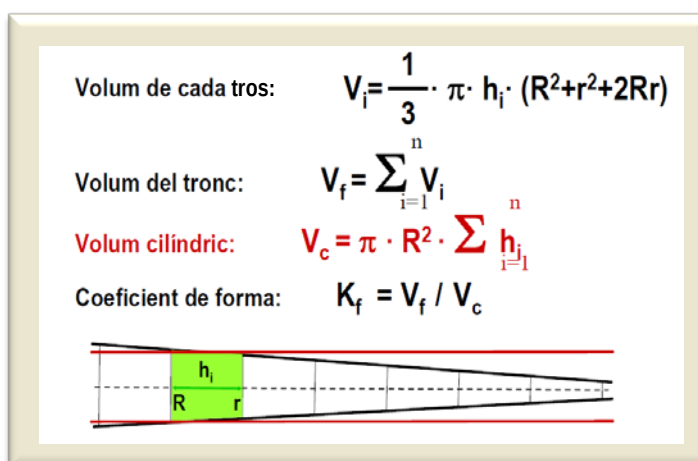


Estima del volum de fusta

A partir de les alçades H (en m), del DBH (en cm) i del gruix d'escorça E_c (en cm) (veure protocols 6-PC i 6-PAD d'extracció de testimonis de fusta), es pot calcular el volum de fusta dels arbres (en dm^3), un cop s'ha corregit pel coeficient de forma.



on V_x és el volum de la fracció x (en dm^3), i K_f és el coeficient de forma (Volum real/Volum cilíndric), que vindrà donat per dades obtingudes a l'Inventari Ecològic i Forestal de Catalunya (IEFC) desenvolupat pel Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals (CREAF), però que es pot estimar com s'indica a la figura de sota.



Estima de la biomassa de fusta i de fulles

La biomassa de fusta i d'escorça s'estimen a partir de multiplicar el volum de fusta i el volum d'escorça per les densitats respectives. Els valors de densitat de la fusta i l'escorça de diferents espècies d'arbres es presenten a la taula inferior (**DENSITAT**). Aquestes dades han estat obtingudes a partir de mesures realitzades a l'Inventari Ecològic i Forestal de Catalunya (IEFC, CREAM).

DENSITAT. Densitat mitjana de fusta i d'escorça (Mg/m³) i la seva desviació estàndard (sd) i mida de la mostra (n). Dades de IEFC (CREAF).

	densitat de fusta (Mg/m ³)		densitat d'escorça (Mg/m ³)	
	mitjana±sd	n	mitjana±sd	n
Coníferes				
<i>Pinus sylvestris</i>	0.55±0.073	1252	0.29±0.068	369
<i>Pinus uncinata</i>	0.52±0.070	339	0.42±0.067	89
Planifolis de fulla perenne				
<i>Quercus ilex</i>	0.90±0.073	711	0.72±0.151	361
Planifolis de fulla caduca				
<i>Quercus pubescens</i>	0.77±0.066	292	0.62±0.118	82
<i>Fagus sylvatica</i>	0.69±0.055	124	0.61±0.142	45
<i>Quercus petraea</i>	0.73±0.065	55	0.56±0.141	23
<i>Betula pendula</i>	0.60±0.055	27	0.63±0.123	19
<i>Fraxinus excelsior</i>	0.68±0.070	30	0.56±0.107	9
<i>Populus tremula</i>	0.56±0.059	24	0.54±0.203	9
<i>Tilia cordata</i>	0.44±0.065	11	0.40±0.096	4
<i>Acer campestre</i>	0.65±0.053	7	-	-
<i>Prunus avium</i>	0.63±0.092	8	-	-
<i>Acer opalus</i>	0.73±0.056	10	0.70±0.140	4
<i>Corylus avellana</i>	0.62±0.068	10	-	-

Per a estimar la biomassa de fulles s'aplica a cada arbre l'equació corresponent a l'espècie que es tracti:

$$\text{Biomassa de fulles} = a \text{ DBH}^b$$

on els coeficients *a* i *b* venen donats per les mesures també realitzades a l'Inventari Ecològic i Forestal de Catalunya (IEFC, CREAM).

EQUACIONS DE BIOMASSA FOLIAR. Paràmetres estimats de les equacions al·lomètriques que relacionen la biomassa de fulles de l'arbre (kg dry w.) amb el DBH (cm) per les espècies d'arbre més comunes a Catalunya. La taula presenta el **rang** de DBH de la mostra, els paràmetres **a** i **b**, el coeficient d'ajust (**r²**), la mida mostral (**n**), el nivell de significació **p** (* p<0.05, ** p<0.01, *** p< 0.001) i l'error estàndard de l'estima (**SEE**). (Font: IEFC (CREAF)).

Espècies	rang	a	b	r ²	n	p	SEE
Coníferes							
<i>Pinus sylvestris</i>	5.0-87.5	0.031	1.663	0.66	2803	***	0.62
Planifolis de fulla perenne							
<i>Quercus ilex</i>	5.0-41.0	0.053	1.58	0.61	2239	***	0.569
<i>Ilex aquifolium</i>	5.0-16.7	0.029	1.671	0.75	12	***	0.507
Planifolis de fulla caduca							
<i>Quercus pubescens</i>	5.0-47.3	0.043	1.442	0.58	589	***	0.591
<i>Fagus sylvatica</i>	5.5-80.2	0.024	1.532	0.65	307	***	0.598
<i>Quercus petraea</i>	5.2-54.4	0.014	1.852	0.73	135	***	0.623
<i>Betula pendula</i>	5.1-42.2	0.024	1.338	0.61	145	***	0.435
<i>Fraxinus excelsior</i>	5.0-50.2	0.027	1.576	0.71	67	***	0.472
<i>Populus tremula</i>	6.0-40.4	0.005	2.133	0.64	59	***	0.762
<i>Tilia cordata</i>	5.5-36.0	0.039	1.09	0.89	20	***	0.208
<i>Acer campestre</i>	6.5-44.8	0.009	1.807	0.73	20	***	1.041
<i>Prunus avium</i>	6.5-31.0	0.01	1.928	0.77	30	***	0.547

Estima de l'índex d'àrea foliar (LAI).

L'índex d'àrea foliar LAI és la superfície de fulles que tenim projectades per unitat de superfície de terreny (m^2 fulla / m^2 terreny).

Per a calcular-lo necessitem la biomassa de fulles (g de fulles/ m^2 de terreny), que hem obtingut a l'apartat anterior, i l'àrea específica de les fulles (m^2 de fulla /g de fulla). de cada espècie, és a dir, la superfície que ocupa un pes determinat de fulla. Aquest valor es pot estimar escanejant les fulles i pesant-les. En el nostre cas aquesta dada, no cal calcular-la perquè ja la coneixem, essent per a *Pinus sylvestris* 0.0025 m^2 fulla/g de fulla.

Si es multipliquen ambdós valors s'obté el valor de LAI.

Estima de la diversitat de classes de mides

La diversitat de classes de mides l'estimarem a partir de la distribució de freqüències d'arbres de cada classe diamètrica a la parcel·la. Hi ha diferents índexs que es poden utilitzar per aquest fi. Nosaltres utilitzarem l'índex de diversitat de Shannon-Wiener H'

$$H' = -\sum [(n_i / N) \cdot (\ln n_i / N)]$$

On n_i és el nombre d'individus que pertanyen a la classe diamètrica, i N el nombre total d'individus. (El quocient n_i/N és una estima de la probabilitat d'un individu de pertànyer a cada classe diamètrica).

H' augmenta en augmentar el nombre de classes diamètriques, i en estar el nombre d'individus distribuïts més equitativament entre les classes.

6-PC

Protocol de camp de creixement forestal

En aquesta activitat experimental extraurem testimonis de fusta de diferents arbres per tal de mesurar-ne el gruix d'escorça i de fusta, distingint en aquest cas l'albeca (part conductora, normalment humida i translúcida) del duramen (part que ja no condueix aigua, amb els vasos de saba obturats, normalment opaca i seca).



© M.Rieradevall

Extracció

S'extraurà un testimoni de fusta a **sis arbres** diferents, al menys un de cada classe diamètrica. Repetir mostra de les més abundants en cas de menys de sis classes diamètriques.

- Identificar l'arbre al qual s'extraurà el testimoni al full de camp del protocol 5-PC.
- Mitjançant una barrina Pressler, extreure un testimoni de fusta de l'arbre seleccionat i conservar-la fins al seu tractament al laboratori.
- En el moment de l'extracció es mesurarà, amb peu de rei, el gruix (en cm) de duramen, d'albeca i d'escorça del testimoni de fusta. Per facilitar-ne les mesures, es col·locarà el testimoni a la guia de fusta "porta cores" on s'hi fixarà amb cinta adhesiva. La col·locació a la guia ha de ser en el mateix sentit vertical en que es trobava a l'arbre (la llum dels vasos conductors perpendiculars a la guia).

MATERIAL

Barrines Pressler
Guies porta testimonis
Cinta adhesiva de pintor i transparent
Peu de rei

6-PL

Protocol de laboratori de creixement forestal

Els testimonis de fusta extrets al camp seran processats per a poder-ne prendre les mesures necessàries amb un software de tractament d'imatges.

Tractament del testimoni i escanejat

- Col·locar el testimoni de fusta damunt la guia de fusta, i fixar-lo amb cinta adhesiva (de pintor i transparent posteriorment per escanejar-lo).
- Mesurar el gruix d'escorça, d'albeca i de duramen.
- Tallar amb un tallador (*cutter*) i polir el testimoni de fusta amb paper de vidre.
- Escanejar el testimoni juntament amb un regle d'oficina col·locat al costat (emprar el software genèric de Windows per a escanejar). Hem de generar una única imatge que inclogui el testimoni i el regle.
- Conservar l'arxiu en format TIFF identificant-lo amb l'any, la zona (pertorbada o no pertorbada) i l'arbre al qual correspon. Guardar-lo a la carpeta C:\Users\Ecologia\Documents\SCAN.

Mesures de creixement

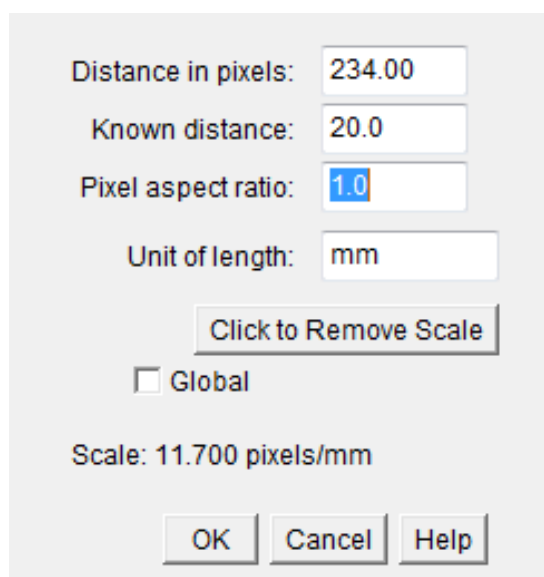
Les imatges seran tractades amb el programa ImageJ.

- Obrir la imatge amb ImageJ (aneu a *File > Open*). És indiferent si la imatge té orientació vertical o horitzontal.
- Calibrar la imatge (definir l'equivalència entre píxels i mil·límetres per a la nostra imatge).
 - o Seleccionar l'eina *Straight*, que permet traçar línies rectes sobre la imatge (cinquè element de la fila d'icones sota els menús).

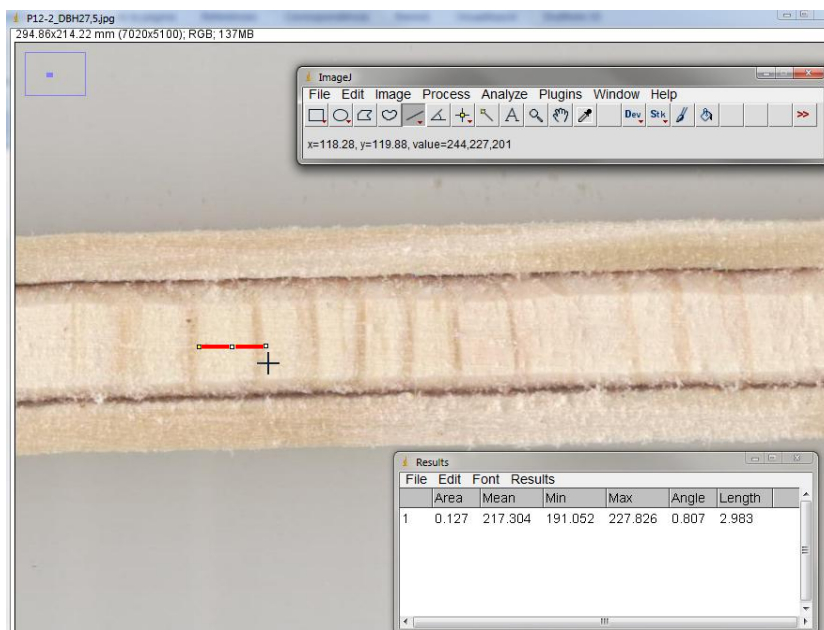
- Traçar (prement el botó esquerre del ratolí) una línia per a una distància coneguda del regle escanejat.*

*En el cas de tractar-se d'imatges de testimonis d'anys anteriors que no tinguin escanejat el regle, emprar com a referència pel calibratge, l'amplada de la guia de fusta.

- Seleccionar *Analyze > Set Scale* i introduir la distància mesurada en mm (a la primera capsa ja estarà indicat el nombre de píxels que corresponen a la distància seleccionada). Les unitats també s'han d'indicar a la capsa corresponent com a "mm". Prémer OK per finalitzar i guardar els canvis.



- Amb la mateixa eina *Straight*, posicionar el cursor al centre del testimoni. Traçar una línia d'anell a anell, des de l'inici de la zona clara (fusta de primavera) fins al final de la zona fosca (fusta de tardor).
- Anar al menú a *Analyze > Measure* (alternativament prémer Ctrl+M). S'obrirà una finestra de resultats on s'aniran guardant les mesures. La columna *Length* correspon a la longitud que s'hagi mesurat, en aquest cas el gruix de l'anell.
- Repetir aquests dos darrers passos per als següents anells, resseguint el testimoni des del centre cap a l'exterior. En mesurar una nova distància, la marca de l'anell anterior no serà visible.



- Una vegada mesurat tot el testimoni exportar les dades des de la finestra de resultats (anar a *File > Save as*). Guardar l'arxiu en format .txt incloent en el nom l'any, la zona (pertorbada o no pertorbada) i l'identificador d'arbre.
- Incorporar les dades de longitud dels anells a la pestanya corresponent del full de càlcul de dades del bosc, anotant totes les dades de l'arbre analitzat.

MATERIAL

Guies porta-testimonis
 Cinta adhesiva de pintor
 Cinta adhesiva transparent
 Paper de vidre per polir les mostres
 Tallador (*Cutter*)
 Escàner
 Regle d'oficina
 Ordinador portàtil amb el programari adequat

6-PAD

Protocol d'anàlisi de dades de creixement forestal

Realitzarem els càlculs necessaris per estimar el creixement forestal a nivell d'individu (creixement en gruix dels arbres als quals hem extret testimonis de fusta), i també a nivell de parcel·la (creixement en volum o biomassa de fusta per unitat de terreny).

Dades

- Anells de creixement (mm)
- Increment de diàmetre dels darrers 5 anys (mm/arbre/any)
- Volum de fusta actual dels arbres on s'han extret testimonis (veure protocol 5-PAD)

Variables elaborades:

- Creixement en radi absolut (mm/arbre any) i acumulat (mm/arbre)
- Producció de fusta en volum ($m^3/ha/any$) i en Biomassa (Mg/ha/any).

Càlculs de producció

Les dades necessàries pels càlculs que s'indiquen a continuació es troben al fitxer

[Parcel·les Bosc St Pau Seguries.xls](#)

Corbes de creixement

En el full de càlcul *Creixement* de les parcel·les no pasturada i pasturada, es troba la informació necessària per a construir les corbes de creixement dels arbres als quals s'ha extret un testimoni de fusta per tal de mesurar-ne el gruix dels anells. Els valors de creixement des del centre de l'arbre a la part més externa és numeraran de 1 a n. Es representaran tant els valors de cada any (creixement anual), com els valors acumulats (creixement en radi). El nombre d'anells dependrà de l'edat de l'arbre en el moment d'assolir l'alçada a la que s'ha extret el testimoni de fusta, essent normalment

un anell per any. Per a cada parcel·la, es calcularà una corba promig i es compararan les taxes de creixement per veure l'efecte de la pastura sobre el creixement.

Producció de fusta

La producció de fusta es basa en l'increment de volum dels darrers 5 anys. Per això, tal com s'indica en el full de càlcul *Producció*, es faran servir els creixements de la part més exterior dels testimonis. Per exemple, si la mostra s'ha obtingut a l'hivern del 2010, abans del creixement de la propera primavera, els darrers anells (de la part externa cap al centre de l'arbre) es correspondran als anys 2010, 2009, 2008, 2007, 2006.

A continuació presentem els passos a seguir per determinar la **producció**:

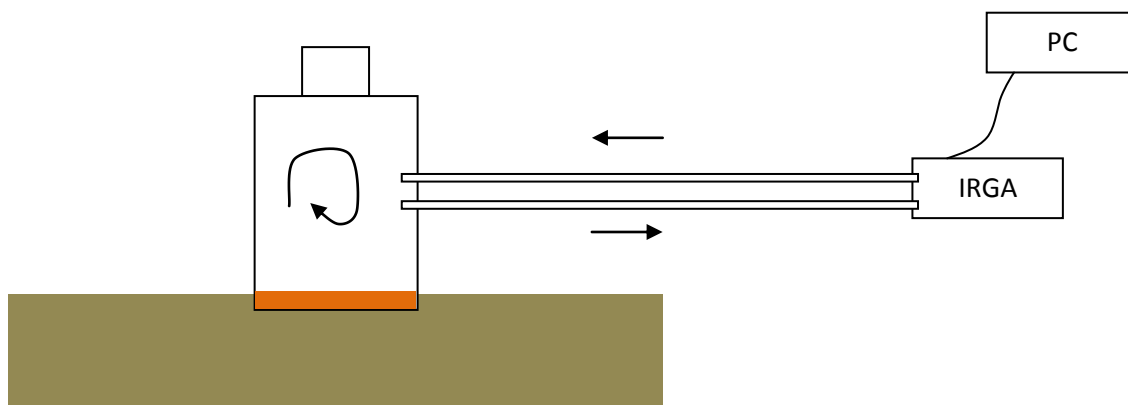
- 1- Pels càlculs de **l'increment dels darrers 5 anys** s'han de prendre les dades de gruix dels darrers 5 anys per cada testimoni de fusta i parcel·la (full de càlcul *Creixement*).
- 2- Pel càlcul del **volum actual de fusta** s'apliquen les equacions que relacionen DBH i volum (veure full de càlcul corresponent i protocol 5-PAD)
- 3- El **DBH-5 de fusta** es calcula a partir del DBH actual menys dues vegades el gruix d'escorça menys dues vegades el creixement dels darrers cinc anys.
- 4- El **volum de fusta de fa 5 anys** es calcula aplicant l'equació que relaciona el DBH de fusta (sense l'escorça) amb el volum de fusta.
- 5- **L'increment de fusta** es calcula per diferència entre el volum actual de fusta i el de fa 5 anys, dividit per 5 per tenir el valor promig anual.
- 6- Pels càlculs de la **producció de la parcel·la** s'han de multiplicar els individus dels que s'ha tret testimoni de fusta pel nombre d'individus que representen, que són els de la seva classe diamètrica. Si hi ha més d'una mostra es reparteixen per la seva proximitat de mida. Així s'obté la producció a la mostra (30 arbres).
- 7- Pels càlculs de **producció per ha i any**, es relativitzen els valors a la densitat de la parcel·la, es pondera segons la fracció que cada classe diamètrica representa en arbres/ha.
- 8- Pel càlcul de **producció de biomassa de fusta**, es multiplica la producció en volum per la densitat de la fusta de la espècie (full amb dades de referència).

Amb aquestes dades, es compararan els valors de producció a les parcel·les pasturades i no pasturades, tant pel que fa a la producció promig dels arbres de les parcel·les, com a la producció per unitat de terreny.

7-PC

Protocol de camp de respiració edàfica

La cambra de respiració edàfica consta d'un analitzador de CO₂ (model EGM-4) connectat a una cambra (model SRC-1). La mesura de la respiració de sòls es basa en un mètode de cambra tancada dinàmica, en el qual s'avalua en continu la concentració de CO₂ en una cambra estanca que circula l'aire continuament entre ella i l'analitzador de gasos per un circuit tancat. Coneixent la superfície coberta per la cambra i el volum de gas d'aquesta, es pot estimar la taxa d'emissió de CO₂ del sòl, en g CO₂ m⁻² h⁻¹.



L'anàlisi de la concentració de CO₂ es basa en una mesura per infra-roig no dispersiu (d'aquí el nom IRGA, Infra-red Gas Analyser). De forma automàtica l'aparell EGM-4 realitza periòdicament un auto-zero (definició d'un blanc de mesura) que assegura l'estabilitat i adaptabilitat de les mesures en diferents condicions sense la necessitat de calibratges periòdics.

La cambra SRC-1 incorpora un ventilador intern, alimentat des de l'IRGA, que assegura la circulació d'aire per tota la cambra. La circulació d'aire des de la cambra fins a l'IRGA es realitza mitjançant tubs plàstics específics i gràcies a una bomba interna del propi IRGA.

Connexió de l'IRGA a l'ordinador per visualitzar i emmagatzemar les mesures

- Assegurar que la bateria de l'ordinador està a la seva capacitat màxima.
- **Connectar l'ordinador a l'entrada RS232 de l'aparell** mitjançant el cable 232 adaptat a USB.
- Engegar l'IRGA (POWER ON a la part posterior).
- A l'ordinador, obrir el software **PP Systems Transfer**.
- Comprovar que hi ha comunicació:
 - o Prémer *Log*
 - o Prémer *Capture All records*
- Engegar l'IRGA (POWER ON a la part posterior).
- Configurar l'IRGA perquè doni mesures en continu (prémer 1-REC).
Per defecte, la tecla Y serveix per acceptar una opció i la tecla N per cancel·lar o retrocedir al submenú anterior.
- Si no hi ha flux d'informació obrir *File > Preferences* i definir el port COM que correspongui. Aquest pas es pot fer per assaig i error o bé anant a Panell de Control de l'Ordinador > Sistema > Hardware > Administrador de Dispositius > Ports (COM i LPT) i veure quin port està activat amb una connexió *ATEN USB*.

Posada a punt de l'IRGA i la cambra de respiració edàfica

- Amb l'aparell apagat **connectar el cable** de la cambra a un port **I/O** de l'IRGA.
- **Connectar els tubs de gasos** de la cambra als ports d'entrada (GAS IN) i sortida (GAS OUT) de l'IRGA.
- Seleccionar BATTERY RUN a la part posterior de l'IRGA per a treball amb la bateria interna (per a treballar amb corrent extern, seleccionar BATTERY CHARGE a la part posterior, i connectar l'adaptador de 220V a l'entrada 12V DC (-ve/+ve)).
- Engegar l'IRGA (POWER ON a la part posterior).
- Prémer 2-SET. Al menú frontal de l'IRGA, comprovar que l'aparell identifica la cambra SRC-1 mostrant al visor PROBETYPE 8:

C2000	5V=2000
PROBETYPE 8	R150

Si apareix PROBETYPE 0 cal modificar el sensor identificat per l'analitzador. Des del submenú SET Prémer 1-EGM i després prémer 3 vegades N=CHANGE fins que aparegui ??. Introduir els

dígits 08 i prémer Y=OK. En cas de dubte consultar el manual específic de l'EGM-4.

Mesures de respiració

Cal fer un mínim de **15 mesures** de respiració en cada zona de mostreig.

- Amb la rasqueta de pintor foradar el sòl i inserir amb cura el termòmetre de punxa i el sensor d'humitat (model 10HS), al costat d'on es farà la mesura amb la cambra. Deixar **estabilitzar 1 minut i anotar els valors** d'humitat (%) i temperatura (°C) del sòl. Al sensor d'humitat, comprovar que les unitats són en percentatge (PCT) mitjançant el botó **II**, i prémer el botó **I** per a realitzar la mesura. Anotar també una breu descriptiva del substrat.

- En el frontal de l'IRGA, prémer 1-REC
 - o Seleccionar l'opció 1-ALL en el següent submenú (l'IRGA enregistrarà totes les dades).
 - o Seleccionar l'opció 2-QUAD EN següent submenú.

1V: 1171	2A: 78
3V/A*100	1491

- En la pantalla , prémer Y per avançar fins que es mostri la pantalla

PLOT NO =	00
Y OR NEW	VALUE

- En el soft TRANSFER prémer Log.
 - o Prémer *Capture All Records*.
 - o Anomenar el fitxer de dades amb la data, el lloc (Pertorbat o No Pertorbat) i la rèplica (ex: 15M12_NP_08, 9M12_P_04). Utilitzar la carpeta *Ecomeco-Respiració* sòls de l'escriptori.

- En el frontal de l'IRGA prémer Y. Mantenir la cambra aixecada del terra fins que aparegui la pantalla

PLACE ON SOIL
PRESS Y TO START

- Situar la cambra sobre una superfície homogènia de sòl forestal, fent una lleugera pressió vertical per assegurar l'entrada del disc basal uns 4-5mm dins el sòl. No traieu la fullaraca ni altereu l'estructura del sòl!

- Al frontal de l'IRGA prémer Y. S'inicia la mesura de CO₂, visualitzant-se

C00395	H14.7	T22
A02.11	Q0000	110

on C00395 és la concentració de CO₂ (ppm), i els dígits del costat inferior dret del visor (110 en la icona) és el temps transcorregut, en segons.

- En el soft TRANSFER el gràfic ens mostra l'evolució de la concentració de CO₂ en la sèrie vermella, identificada com a Cr (l'eix d'abscisses correspon a cada valor, no és el temps en segons).

- En finalitzar la mesura (al cap de 120s), el frontal de l'IRGA mostrarà

C 395 H14.7 T22
A02.11 Q0000 END

- El valor que apareix darrera la lletra A (2.11 en la icona), és la darrera taxa d'intercanvi de CO₂ calculada per l'aparell (en g CO₂ m⁻² h⁻¹). Anotar aquest valor.
- En el frontal de l'IRGA prémer Y, i quan ens demana RECORD Y/N, prémer Y de nou per tal de guardar el registre.
- En el soft TRANSFER prémer *Stop*. Els fitxers amb les dades es poden obrir amb l'excel (veure protocol 7-PAD).

Mesures de respiració sense ordinador i descàrrega de les dades

El mateix protocol es pot aplicar sense un portàtil que visualitzi les lectures al moment ja que l'IRGA emmagatzema totes les dades.

En aquest cas procedir al camp exactament de la mateixa manera però obviant els passos relatius al software TRANSFER.

Una vegada al laboratori, descarregar les dades de l'IRGA de la següent manera:

- Amb l'ordinador i l'IRGA connectats i engegats, prémer 4DMP en el frontal de l'IRGA.
- Al soft TRANSFER, prémer *Transfer* i anomenar el fitxer de dades
- En el frontal de l'IRGA, prémer 2-DATA_DUMP i prémer Y.

RECOMANACIONS BÀSIQUES PER A TREBALLAR AMB L'IRGA EGM-4

- Es tracta d'un aparell molt sensible: cal tractar-lo amb cura! És especialment important posar atenció a que no entri aigua a l'aparell.
- Per tal que l'IRGA EGM-4 pugui treballar autònomament al camp cal tenir completament carregada la bateria:

Càrrega de la bateria interna: connectar el carregador de bateries a l'entrada *Charger* i al corrent elèctric (220V) i seleccionar Battery Charge a la part posterior. Comprovar que el carregador de bateries pampallugueja a poc a poc (si el pampallugueig és molt ràpid hi ha algun problema).

- Abans del primer ús es requereix un escalfament del sensor intern que dura uns 5-10 minuts. Per a una major fiabilitat, convé tenir engegat l'aparell com a mínim 20 minuts abans d'iniciar el treball. Igualment, entre lectura i lectura al camp és millor mantenir-lo engegat que apagar-lo.
- Per assegurar la fiabilitat de les lectures de concentració, l'aparell realitza periòdicament blancs. Si a la pantalla apareix NOW CHECKING ZERO, cal esperar a que finalitzi el procés i continuar el treball amb normalitat.
- L'aparell està programat per avaluar sèries creixents de CO₂ i s'atura automàticament si no obté una seqüència ajustable a una funció determinada. Això vol dir que si les lectures són erràtiques o invariables perquè el sistema de la cambra no està en condicions estanques o bé perquè fem mesures sobre substrats no actius en el flux de CO₂, apareixerà la notificació NON-LINEAR FIT i s'aturarà.

Full de camp

Zona Pasturada / No Pasturada:

Data:

Condicions ambientals (fred, pluja, vent...):

Punt	Hora	Codi arxiu de dades	Temperatura (°C)	Humitat (%)	Taxa estimada (g CO ₂ m ⁻² h ⁻¹)	Observacions
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						

MATERIAL

Cambra de respiració edàfica
 Analitzador IRGA EGM-4
 Maletí
 Termòmetre de sòls de punxa (HI-93510N)
 Sensor d'humitat edàfica
 Rasqueta de pintor o ganivet
 Ordinador portàtil

7-PAD

Protocol d'anàlisi de
dades de respiració
edàfica

Amb les sèries de dades de concentració de CO₂ en les cambres edàfiques calcularem la taxa d'intercanvi de CO₂ del sòl, en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Dades

- Sèries de 120s de concentració de CO₂ en la cambra edàfica (i variables complementàries de l'IRGA: pressió atmosfèrica (mbar))
- Dades de camp: temperatura (T, en °C) i humitat del sòl (H, en %) per a cada punt de mostreig.
- Pes molecular del CO₂: 44.01 g mol⁻¹
- Superfície de sòl integrada per la cambra: 78 cm²
- Volum de la cambra: 1.171 dm³

Variables elaborades/secundàries:

- Taxes d'intercanvi de CO₂ per a cada punt de mostreig ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

Estructura dels arxius de dades

Els arxius de dades obtinguts al camp (extensió *dat*) tenen format ASCII i l'estructura següent:

Logged EGM-4 Data																			
SoftwareVersion=1.05																			
Plot	RecNo	Day	Month	Hour	Min	CO2 Ref	mb Ref	mbR Temp	Input A	Input B	Input C	Input D	Input E	Input F	Input G	Input H	ATMP	Probe	Type
6	28	8	3	5	19	464'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	0	+00.00	0	0	921	8	
6	28	8	3	5	19	415'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	0	+00.00	0	0	922	8	
6	29	8	3	5	19	415'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	0	+00.00	0	0	922	8	
6	29	8	3	5	19	416'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	0	+00.00	0	0	921	8	
6	29	8	3	5	19	415'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	4	+00.00	0	0	922	8	
6	30	8	3	5	19	416'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	4	+00.00	0	0	922	8	
6	30	8	3	5	19	417'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	4	+00.00	0	0	921	8	
6	30	8	3	5	19	415'00.0	+00.0		0'000.0	0'000.0		0	0	+00.00	0	0	922	8	

Cada fila correspon a una captura de les dades enviades per l'IRGA i les columnes són les diferents variables mesurades. En el nostre cas les columnes d'interès són:

- *CO2_Ref*: concentració de CO₂ en ppm ($\mu\text{l l}^{-1} = \mu\text{bar bar}^{-1} = \mu\text{mol mol}^{-1}$).
- *input E*: temps transcorregut (s)
- *input F*: taxa d'intercanvi de CO₂ ($\text{g CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) estimada internament per l'IRGA segons els algorismes de càlcul definits en cada cas.
- *ATMP*: pressió atmosfèrica (mb).

L'IRGA emmagatzema dades cada 4,8 segons i té un temps de resposta de 1,6 segons, que és la freqüència amb la qual es transmeten les dades a l'ordinador. Per tant, si en el moment de la captura de dades s'ha emprat l'opció *Capture All Records* del software, aquesta és la freqüència amb la qual s'han emmagatzemat les dades en l'arxiu generat. D'aquesta manera, cada fila de l'arxiu correspon a 1,6 segons transcorreguts des de la fila anterior. Per contra, si no s'ha emprat l'ordinador i s'han descarregat més tard les dades internes de l'IRGA amb l'opció 4-DMP, cada fila de l'arxiu correspon a 4,8 segons transcorreguts des de la fila anterior. Cal doncs construir una columna que sigui el temps real (s) corresponent a cada lectura i utilitzar aquesta columna en els càlculs. Sigui com sigui, la utilització d'aquesta columna o del temps reportat per l'aparell (columna *input E*) té poca transcendència en els nostres càlculs perquè treballem amb els pendents de les corbes d'evolució temporal de CO₂.

Estima de les taxes d'intercanvi de CO₂

Per determinar la taxa d'intercanvi de CO₂ cercarem la funció que expressi la concentració de CO₂ en funció del temps. En l'aproximació més senzilla emprarem un ajust lineal:

$$CO_2(t) = a + bt$$

És a dir farem fer una regressió lineal de la concentració de CO₂ sobre la variable temps. El pendent de la recta obtinguda (*b*) correspon a la taxa de canvi de CO₂ per unitat de temps, expressada doncs en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Per expressar aquestes taxes estimades en relació a unitats de superfície de sòl, necessitem la relació entre el volum de gas i la superfície de la cambra:

$$b \left(\frac{\mu\text{mol CO}_2}{\text{mol s}} \right) \cdot \frac{1 \text{ mol}}{V_{t,p} (\text{dm}^3)} \cdot \frac{1.171 (\text{dm}^3)}{78 \cdot 10^{-4} (\text{m}^2)} = \text{taxa en } \frac{\mu\text{mol CO}_2}{\text{m}^2 \text{ s}}$$

On $V_{t,p}$ és el volum ocupat per un mol de gas (uns 22,4 L a pressió i temperatura estàndard). El valor exacte de $V_{t,p}$ en les condicions de mesura es desprèn de la llei dels gasos ideals, que descriu la relació entre el volum, la pressió i la temperatura d'un gas:

$$PV_{t,p} = nRT_K$$

On P és la pressió (atm), V és el volum ocupat pel gas (l), n és el nombre de mols de gas, R és la constant dels gasos ($0,082 \text{ atm} \cdot \text{l} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$) i T_K és la temperatura expressada en Kelvin. Aplicant els canvis d'unitats pertinents (equivalències: $1 \text{ atm} = 1013,25 \text{ mbar}$, i $T_K = 273 + T$), podem calcular el volum ocupat per un mol de gas ideal a les condicions de pressió ($ATMP$) i temperatura (T) durant el mostreig:

$$V_{t,p} = \frac{0.082(273 + T)}{ATMP/1013.25}$$

Altres unitats interessants per a la taxa de respiració són $\text{g CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ o $\text{g C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

Referències en el text

Benke A.C., Huryn A.D., Smock L.A. i Wallace J.B. 1999. Length-mass relationships for freshwater macroinvertebrates in North America with particular reference to the southeastern United States. *Journal of North American benthological Society*, 18(3): 308-343.

Hammer Ø., Harper D.A.T. i Ryan P.D. 2001. *PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis*. Palaeontologia Electronica 4(1). <http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>

Meyer E. 1989. The relationship between body length parameters and dry mass in running water invertebrates. *Archiv für Hydrobiologie*, 117: 191–203.

Olson J.S. 1963. Energy stores and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology*, 44: 322–331.

Tachet E., Richoux P., Bournaud M. i Usseglio-Polatera P. 2000. *Invertébrés d'eau douce: Systématique, biologie, écologie*. CNRS Édition, Paris. 588 p.