



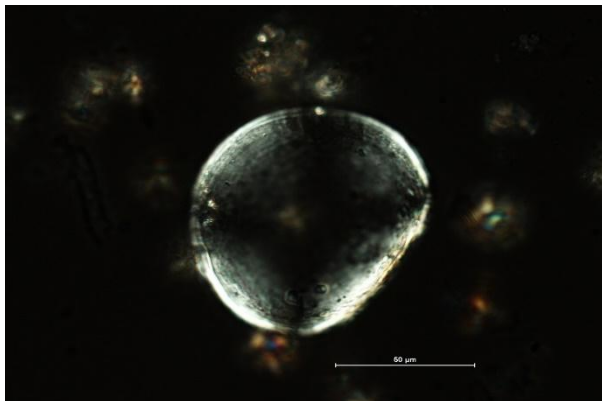
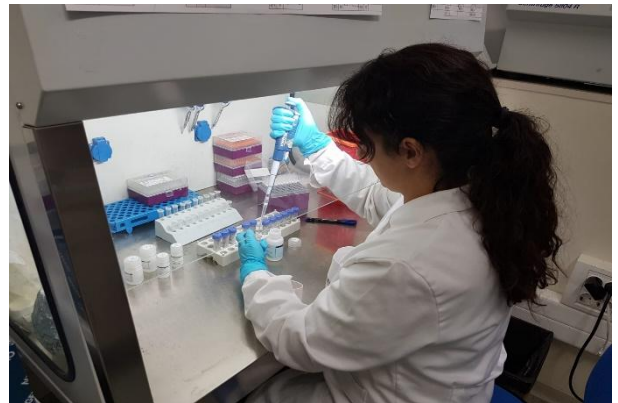
MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA



CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO

2019

## DETERMINACIÓN LARVARIA DE *Dreissena polymorpha* MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO



ÁREA DE CONTROL DE DOMINIO PÚBLICO HIDRÁULICO  
CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO



---

## DETERMINACIÓN LARVARIA DE *Dreissena polymorpha* MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO

---

**PROMOTOR:**

CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO



**ÁREA:**

CONTROL DEL DOMINIO PÚBLICO HIDRÁULICO

**DIRECCIÓN DEL PROYECTO:**

Elena Pérez Gallego

**EMPRESA CONSULTORA:**

Ecohydros SL.



**EQUIPO DE TRABAJO:**

Agustín Monteoliva (Dirección Técnica), Laura Miralles (Análisis Genéticos), Javier Morales (Análisis Biológicos), Alberto Criado (Técnico de Proyecto).

**PRESUPUESTO DE LA ADJUDICACIÓN:**

17.987,55 Euros

**CONTENIDO:**

MEMORIA/CD

**AÑO DE EJECUCIÓN:**

2019

**FECHA ENTREGA:**

OCTUBRE 2019

REFERENCIA IMÁGENES PORTADA:

Superior izquierda: Embalse de Alloz durante el muestreo

Superior derecha: Análisis de eDNA en laboratorio

Inferior izquierda: Imagen de larva D con polarización cruzada

Inferior derecha: Zona de cola del embalse de Camarasa

CITA DEL DOCUMENTO: Confederación Hidrográfica del Ebro (2019). Determinación larvaria de *Dreissena polymorpha* mediante técnicas genéticas en embalses prioritarios de la cuenca del Ebro. 52 pág. Disponible en PDF en la web: <http://www.chebro.es>

El presente informe pertenece al Dominio Público en cuanto a los Derechos Patrimoniales recogidos por el Convenio de Berna. Sin embargo, se reconocen los Derechos de los Autores y de la Confederación Hidrográfica del Ebro a preservar la integridad del mismo, las alteraciones o la realización de derivados sin la preceptiva autorización administrativa con fines comerciales, o la cita de la fuente original en cuanto a la infracción por plagio o colusión. A los efectos prevenidos, las autorizaciones para uso no científico del contenido deberán solicitarse a la Confederación Hidrográfica del Ebro.



## DETERMINACIÓN LARVARIA DE *Dreissena polymorpha* MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO

---

*El presente trabajo ha consistido en la aplicación de la técnica del ADN ambiental (eDNA) para la monitorización del mejillón cebra (*Dreissena polymorpha*) en cuatro embalses de la demarcación hidrográfica del Ebro. En el mes de septiembre de 2019 se han tomado muestras directas de agua y muestras de agua filtradas a través de red de zooplancton de 55 µm de malla, en diferentes puntos de los cuatro embalses incluidos en el estudio: Alloz, La Peña, Canelles y Camarasa, además del embalse de Sobrón, en el que se ha tomado una muestra como control positivo. En cada muestra obtenida por filtración en la red de plancton se ha realizado un recuento mediante métodos ópticos visuales, y se han realizado análisis por triplicado de eDNA para la detección de esta especie, tanto en las muestras de agua como en las filtradas con red de plancton.*

*En ninguna de las 24 muestras tomadas en los cuatro embalses se han detectado larvas en los análisis mediante microscopio, exceptuando el embalse de Sobrón. Sin embargo, en los análisis de eDNA en agua se han obtenido positivos en uno y tres puntos de muestreo de los embalses de La Peña y Alloz, respectivamente, pero en ninguna de las muestras procedentes del filtrado en red de plancton. En el embalse de Sobrón todas las réplicas en ambos tipos de muestras (agua y red) han resultado positivas.*

## LARVAL DETERMINATION OF *DREISSENA POLYMORPHA* BY GENETIC TECHNIQUES IN PRIORITY RESERVOIRS IN THE EBRO BASIN

---

*This study is the first application of the environmental DNA technique (eDNA) for monitoring zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in four reservoirs of the Ebro Hydrographic Demarcation. In September 2019, water and filtering samples were taken using a zooplankton net with a mesh of 55 µm, at different points in the four reservoirs included in the study: Alloz, La Peña, Canelles and Camarasa, in addition to the Sobron reservoir, where a positive control sample was taken. In each sample obtained by filtration in the plankton net, a count was carried out using visual optical methods. In addition, triplicate analyses of eDNA have been carried out for the detection of this species, both in water samples and in those filtered with plankton nets.*

*In none of the 24 samples taken in the four reservoirs included in the study have larvae been detected by microscopic analysis, with the exception of the Sobron reservoir. However, in the eDNA analyses in water, positive results were obtained at one and three sampling points in La Peña and Alloz reservoirs, respectively, but in none of the samples from plankton net filtering. In the Sobron reservoir, all the replicates in both types of samples (water and network) were positive.*



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. ÁMBITO DE ESTUDIO.....</b>	<b>13</b>
<b>3. METODOLOGÍA.....</b>	<b>17</b>
3.1. TRABAJOS DE CAMPO .....	17
3.1.1. Toma de muestras y datos de campo .....	17
3.1.2. Procedimiento de limpieza y desinfección.....	19
3.2. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y CONTEO LARVARIO MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA.....	22
3.3. DETECCIÓN MEDIANTE ADN AMBIENTAL.....	24
3.4. ESCALA DE EVALUACIÓN ADAPTADA .....	25
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
4.1. EMBALSE DE ALLOZ .....	33
4.1.1. Datos físico-químicos .....	33
4.1.2. Análisis de larvas por métodos ópticos .....	34
4.1.3. Análisis de eDNA.....	34
4.2. EMBALSE DE LA PEÑA.....	35
4.2.1. Datos físico-químicos .....	36
4.2.2. Análisis de larvas por métodos ópticos .....	36
4.2.3. Análisis de eDNA.....	36
4.3. EMBALSE DE CANELLES .....	37
4.3.1. Datos físico-químicos .....	38
4.3.2. Análisis de larvas por métodos ópticos .....	38
4.3.3. Análisis de eDNA.....	38
4.4. EMBALSE DE CAMARASA .....	39
4.4.1. Datos físico-químicos .....	40
4.4.2. Análisis de larvas por métodos ópticos .....	40
4.4.3. Análisis de eDNA.....	41
4.5. EMBALSE DE SOBRÓN.....	42
4.5.1. Análisis de larvas por métodos ópticos .....	42
4.5.2. Análisis de eDNA.....	42
4.6. RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS COMPARADOS.....	44

5. REFERENCIAS ..... 51

## ÍNDICE DE ANEXOS

---

Anexo I. Boletines de muestreo  
Anexo II. Perfiles físico-químicos verticales  
Anexo III. Boletines de ensayo de identificación y recuento de zooplancton  
Anexo IV. Boletines de ensayo para detección de especies mediante eDNA  
Anexo V. Reportaje fotográfico

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 1. Resumen de embalses y puntos de control ..... 14  
Tabla 2. Ubicación y detalles de los puntos de control ..... 15  
Tabla 3. Resultados por punto de muestreo ..... 29

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

Figura 1. Ubicación de los embalses estudiados en la demarcación hidrográfica del Ebro ..... 14  
Figura 2. Imágenes del proceso de análisis óptico, cámaras de sedimentación y microscopio invertido ... 23  
Figura 3. Muestrario de filtros tras el filtrado de agua procedente de diferentes puntos ..... 25  
Figura 4. Mapa de evaluación final por embalse ..... 31  
Figura 5. Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de Alloz ..... 35  
Figura 6. Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de La Peña ..... 37  
Figura 7. Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de Canelles ..... 39  
Figura 8. Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de Camarasa ..... 41  
Figura 9. Mapa de resultados de eDNA en muestra de agua en el embalse de Sobrón ..... 43  
Figura 10. Transparencia del agua en los puntos de muestreo ..... 45

Figura 11. Representación gráfica de la regla ecológica de Shelford (1911) .....	46
Figura 12. Temperatura y pH del agua en los puntos de muestreo y rangos de habitabilidad planteados para el mejillón cebra. ....	48
Figura 13. Conductividad eléctrica del agua en los puntos de muestreo.....	49



## 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETO

El presente documento constituye el informe final del Contrato de Servicios para la ejecución de servicios para la “Determinación larvaria de *Dreissena polymorpha* mediante técnicas genéticas en embalses prioritarios de la cuenca del Ebro” adjudicado a Ecohydros, S. L. por la Confederación Hidrográfica del Ebro (en adelante, CHE).

Durante los últimos años se vienen desarrollando anualmente campañas de control larvario de especies exóticas invasoras en las masas de agua superficiales de la cuenca del Ebro, en los que se aplica un protocolo clásico de identificación y recuento mediante microscopía de luz polarizada y contraste de fases.

Las nuevas herramientas de monitorización basadas en el ADN ambiental (eDNA, en adelante) pueden proporcionar capacidades de detección muy superiores y de hecho están ya recomendadas por la comunidad científica para su aplicación a gran escala en este tipo de problemas. Es también del máximo interés su uso en estudios intensivos, que requieren el análisis cuantitativo de un número elevado de muestras, porque permitiría procesar tandas de muestras de forma simultánea, lo que conllevaría costes y tiempos de respuesta reducidos y la posibilidad de incrementar el conocimiento de la dinámica de la especie en la masa de agua y, por tanto, las opciones de manejo y control de la especie.

Actualmente se utilizan determinados umbrales de densidad larvaria para clasificar los embalses en grupos de afectación o riesgo de invasión por mejillón cebra; en particular, se aplica un umbral de 0,05 larvas/L para pasar de una situación de riesgo a una clasificación como masa de agua afectada.

Es importante destacar también que en masas de agua donde se pueden observar colonias de adultos en las orillas o fondos se podrían obtener muestreos larvarios negativos, ya que esta fase vital se encuentra en el agua sólo temporalmente. Y además está muy ligada a las características locales de tipo de ecosistema y a la climatología (dinámica térmica e hidrológica del embalse), por lo que es difícilmente reproducible en cuanto a su distribución espacio-temporal entre años diferentes.

Por ello, y considerando el carácter piloto de este trabajo, se aplica un protocolo combinado que pretende contrastar el método óptico convencional para la detección de las larvas microscópicas de este molusco, con una técnica innovadora para la detección de la especie independientemente de su estadio (eDNA). Mediante este doble procedimiento, se combina la elevada sensibilidad en la detección de ADN liberado al medio acuático por los adultos y larvas, con una técnica clásica de laboratorio, que además se ha mejorado en los siguientes aspectos:

- a) Muestreo con red de zooplancton nueva para cada embalse.
- b) Filtrado de un volumen de 200 L
- c) Recuento completo de la muestra fijada, utilizando sucesivas cámaras de sedimentación de pequeños volúmenes de submuestra (3, 5 y 10 ml según el caso).

De esta manera, con la combinación de metodologías se asegura la detección de la especie incluso en las peores condiciones para poder hacerlo. Es decir, cuando la densidad sea inferior a la posibilidad de detección por técnicas habituales e incluso cuando no haya larvas en el agua, ya que los adultos siguen liberando ADN al medio.

Por estas razones, se plantea el presente estudio, en el que se abordarán una serie de casos que presentan resultados poco concluyentes en los seguimientos previos o un mayor riesgo de invasión no constatada. También se incluye un caso de un embalse afectado, que sirva como control positivo.

El objeto de este contrato es ejecutar un control de larvas de mejillón cebra en cuatro embalses de la demarcación hidrográfica del Ebro, seleccionados por la incertidumbre y alto riesgo en cuanto a la presencia de mejillón cebra y evaluar las posibilidades que ofrece una adaptación del protocolo que incorpora la técnica del eDNA. Esto se realiza aplicando tanto el protocolo convencional de los seguimientos que viene realizando la CHE en los últimos y al mismo tiempo, una innovadora técnica de detección basada en el eDNA.



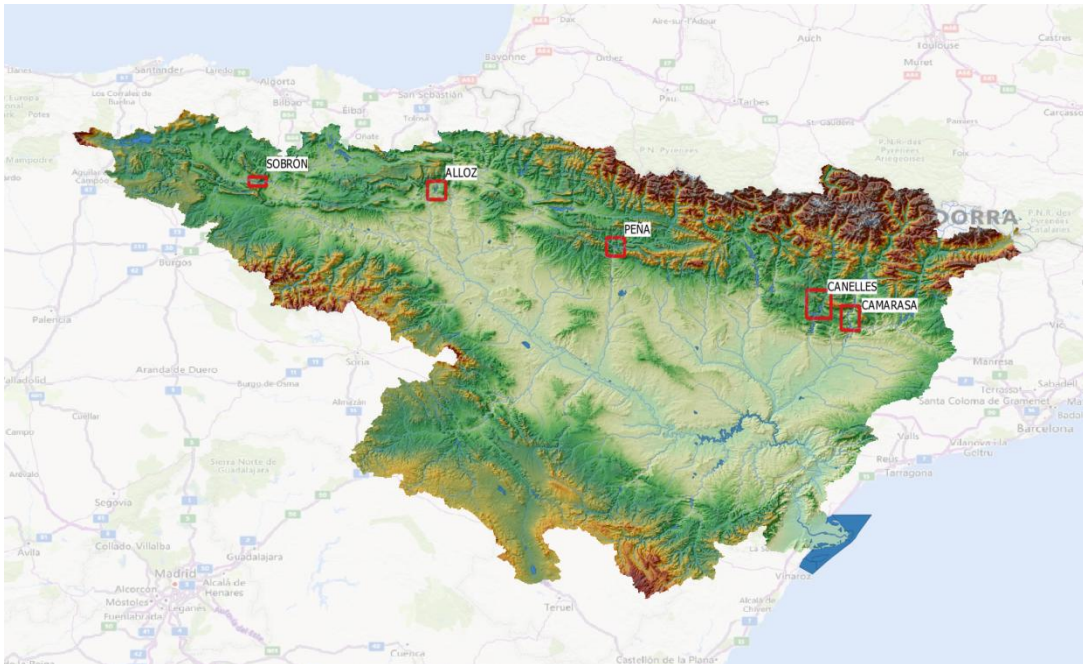
## 2. ÁMBITO DE ESTUDIO

En el presente trabajo se han incluido cuatro embalses y un punto de control positivo en el embalse de Sobrón, en el que la colonización por mejillón cebra está confirmada desde el año 2006 y ratificada todos los años.

Los embalses seleccionados (**Figura 1**) se han priorizado para su inclusión en esta primera aplicación de técnicas de detección precoz mediante eDNA, porque presentan incertidumbres en los controles clásicos en cuanto a la presencia o el grado de colonización por mejillón cebra.

En concreto, las razones particulares para su inclusión han sido las siguientes:

- El embalse de Alloz pertenece al grupo de riesgo 3, según criterio de trabajo de la CHE: masas de agua en riesgo por el hecho de situarse aguas abajo de una masa afectada o con indicios de presencia larvaria (resultados positivos y densidades inferiores a 0,05 larvas/l en muestreos anteriores). En este embalse han aparecido desde el año 2015 algunos positivos esporádicos y poco consistentes, que hacen dudar del arraigo de la especie en la masa de agua.
- El embalse de Camarasa pertenece también al grupo de riesgo 3. En este embalse se registró por primera vez algún indicio larvario en 2009 y 2010, y de nuevo, se han registrado larvas en el control del año 2018.
- El embalse de La Peña está también clasificado en el grupo 3 y anteriormente a la aparición de positivos en el control del año 2018, hubo una detección en el año 2014.
- Por último, el embalse de Canelles es también un caso perteneciente al grupo de riesgo 3 de la CHE. Sin embargo, en este embalse no han aparecido hasta ahora larvas en ninguno de los controles anteriores. Éste es un embalse seleccionado para su seguimiento por la elevada presión recreativa que presenta y que hace que aumente el riesgo de entrada de la especie.



**Figura 1.** Ubicación de los embalses estudiados en la demarcación hidrográfica del Ebro

En cada uno de los cuatro embalses a estudiar, se han planteado tres (3) puntos de muestreo en superficie (en orillas) y otros tres (3) en profundidad (zonas más cercanas al eje principal del cauce), respetando la ubicación de puntos de los seguimientos de años anteriores.

**Tabla 1.** Resumen de embalses y puntos de control

EMBALSE	CAUCE	PROVINCIA	Nº de puntos en superficie	Nº de puntos en profundidad
Alloz	Salado	Navarra	3	3
Camarasa	Noguera - Pallaresa	Lleida	3	3
La Peña	Gállego	Huesca	3	3
Canelles	Noguera - Ribagorzana	Huesca-Lleida	3	3
Sobrón	Ebro	Burgos-Álava	1	0

**Tabla 2.** Ubicación y detalles de los puntos de control

MASA DE AGUA	PROVINCIA	TÉRMINO MUNICIPAL	CAUCE PRINCIPAL	CÓDIGO DE MASA DE AGUA	CÓDIGO DE PUNTO DE MUESTREO	UTM_X (HUSO 30 ETRS 89)	UTM_Y (HUSO 30 ETRS 89)	TIPO DE PUNTO DE MUESTREO
EMBALSE DE LA PEÑA	HUESCA	Las Peñas de Riglos	GÁLLEGO	E004	E044-A01	686.384	4.694.908	P
EMBALSE DE LA PEÑA	HUESCA	Las Peñas de Riglos	GÁLLEGO	E004	E044-A02	687.706	4.694.812	P
EMBALSE DE LA PEÑA	HUESCA	Las Peñas de Riglos	GÁLLEGO	E004	E044-A03	687.225	4.694.878	P
EMBALSE DE LA PEÑA	HUESCA	Las Peñas de Riglos	GÁLLEGO	E004	E044-01	686.383	4.694.899	S
EMBALSE DE LA PEÑA	HUESCA	Las Peñas de Riglos	GÁLLEGO	E004	E044-02	685.194	4.696.033	S
EMBALSE DE LA PEÑA	HUESCA	Las Peñas de Riglos	GÁLLEGO	E004	E044-04	687.070	4.694.677	S
EMBALSE DE ALLOZ	NAVARRA	Merindad de Estella	SALADO Y UBÁGUA	E027	E027-03	586.359	4.728.878	P
EMBALSE DE ALLOZ	NAVARRA	Merindad de Estella	SALADO Y UBÁGUA	E027	E0027-A03	586.265	4.730.280	P
EMBALSE DE ALLOZ	NAVARRA	Merindad de Estella	SALADO Y UBÁGUA	E027	E0027-A05	586.810	4.730.507	P
EMBALSE DE ALLOZ	NAVARRA	Merindad de Estella	SALADO Y UBÁGUA	E027	E0027-02	587.101	4.730.525	S
EMBALSE DE ALLOZ	NAVARRA	Merindad de Estella	SALADO Y UBÁGUA	E027	E0027-05	587.515	4.730.769	S
EMBALSE DE ALLOZ	NAVARRA	Merindad de Estella	SALADO Y UBÁGUA	E027	E0027-04	585.691	4.729.301	S
EMBALSE DE CANELLES	HUESCA/LL EIDA	Canelles y otros	NOGUERA RIBAGORZANA	E0058	E0058-A01	802.390	4.658.776	P
EMBALSE DE CANELLES	HUESCA/LL EIDA	Canelles y otros	NOGUERA RIBAGORZANA	E0058	E0058-A02	802.951	4.656.718	P
EMBALSE DE CANELLES	HUESCA/LL EIDA	Canelles y otros	NOGUERA RIBAGORZANA	E0058	E0058-A03	800.631	4.654.601	P
EMBALSE DE CANELLES	HUESCA/LL EIDA	Canelles y otros	NOGUERA RIBAGORZANA	E0058	E0058-03	800.941	4.653.501	S
EMBALSE DE CANELLES	HUESCA/LL EIDA	Canelles y otros	NOGUERA RIBAGORZANA	E0058	E0058-04	799.654	4.653.885	S



MASA DE AGUA	PROVINCIA	TÉRMINO MUNICIPAL	CAUCE PRINCIPAL	CÓDIGO DE MASA DE AGUA	CÓDIGO DE PUNTO DE MUESTREO	UTM_X (HUSO 30 ETRS 89)	UTM_Y (HUSO 30 ETRS 89)	TIPO DE PUNTO DE MUESTREO
EMBALSE DE CANELLES	HUESCA/LL EIDA	Canelles y otros	NOGUERA RIBAGORZANA	E0058	E0058-06	799.430	4.656.292	S
EMBALSE DE CAMARASA	LLEIDA	Camarasa y otros	NOGUERA PALLARESA	E0065	E0065-02	822.254	4.646.850	S
EMBALSE DE CAMARASA	LLEIDA	Camarasa y otros	NOGUERA PALLARESA	E0065	E0065-03	820.352	4.657.597	S
EMBALSE DE CAMARASA	LLEIDA	Camarasa y otros	NOGUERA PALLARESA	E0065	E0065-04	819.526	4.649.374	S
EMBALSE DE CAMARASA	LLEIDA	Camarasa y otros	NOGUERA PALLARESA	E0065	E0065-A02	820.225	4.647.816	P
EMBALSE DE CAMARASA	LLEIDA	Camarasa y otros	NOGUERA PALLARESA	E0065	E0065-A03	819.575	4.647.030	P
EMBALSE DE CAMARASA	LLEIDA	Camarasa y otros	NOGUERA PALLARESA	E0065	E0065-A04	818.401	4.655.570	P
EMBALSE DE SOBRÓN	BURGOS/A LAVA	Bozoo	ALTO EBRO	E0022	E0022-01	491.791	4.735.052	S

### 3. METODOLOGÍA

Los trabajos de campo se han desarrollado buscando la máxima fidelidad a los protocolos que se vienen aplicando en los seguimientos de larvas de mejillón cebrá por la CHE, con el fin de que los resultados sean lo más comparables posibles.

Siguiendo esta premisa, se ha mantenido la ubicación de los puntos de muestreo históricos en cada embalse y, salvo ligeras modificaciones que se comentan más adelante, también los procedimientos de muestreo y análisis por métodos ópticos. Al protocolo habitual, se ha añadido en cada punto el muestreo de agua para análisis del eDNA en laboratorio, que ha consistido en muestras de agua tomadas directamente y muestras de agua filtradas a través de una red de zooplankton, siguiendo el mismo procedimiento que para la toma de muestra para identificación y recuento mediante métodos ópticos.

#### 3.1. TRABAJOS DE CAMPO

##### 3.1.1. Toma de muestras y datos de campo

Entre el 1 y el 11 de septiembre de 2019 se realizaron los trabajos de campo, dirigidos a obtener las muestras para el doble análisis (óptico y eDNA) de larvas de mejillón cebrá, así como los datos ambientales, físico-químicos *in situ* y metadatos del muestreo, incluyendo mapas de localización (boletines de campo en Anejo I).

Excepto en algunos puntos de orilla concretos a los que se accedió a pie, en general los trabajos de muestreo se realizaron desde una embarcación, propulsada con motor fuera borda y acondicionada para muestreos limnológicos y sondeos en embalses.

En cada uno de los puntos de muestreo planteados previamente, se realizaron mediciones de transparencia con disco de Secchi y toma de datos de los principales parámetros del agua con una sonda multiparamétrica Hydrolab\_DS4a (temperatura, conductividad eléctrica, pH, y oxígeno disuelto) que permiten encuadrar las condiciones ecológicas que necesitan estos moluscos para sobrevivir en el agua dulce. En las estaciones profundas, se realizó un perfil continuo de estas mediciones hasta llegar a la termoclina, para determinar la profundidad del arrastre vertical. Todos estos datos se facilitan individualmente para cada estación de muestreo en los Anexos I (boletines de campo) y II (perfiles verticales).

Las muestras para análisis microscópico larvario se tomaron mediante el filtrado *in situ* en red de zooplancton (25 cm de diámetro y de 53  $\mu\text{m}$  de luz de malla) de un volumen total de 200 L de agua superficial, en cada punto somero o de orilla, y un arrastre vertical en cada uno de los puntos profundos, desde la termoclina hasta la superficie, o en su defecto desde el límite inferior de la zona fótica (2,5 veces la profundidad de visión del disco de Secchi). En los arrastres con red se ha utilizado un flujómetro para medir el volumen filtrado.

En cada embalse se ha utilizado una red diferente y de primer uso, con lo que se minimiza el riesgo de contaminación cruzada en los análisis. Las muestras fueron fijadas “in situ” en el momento de la toma con etanol 70% y se transportaron en un recipiente estéril hasta el laboratorio para su análisis biológico.

En todos los casos se midió el volumen de agua filtrado utilizando cubos aforados (uno para cada sistema), y se extremaron las precauciones para evitar contaminaciones entre los distintos puntos de toma de agua. En las zonas de toma de agua se hizo una inspección visual del entorno para detectar la posible presencia de subadultos o adultos adheridos al sustrato sumergido.

Para los análisis de ADN ambiental se tomaron 3 muestras de agua (1L cada una) en cada uno de los puntos establecidos para el muestreo de larvas. Cada una de estas muestras se mantiene por separado hasta su análisis en el laboratorio, por lo que no se trata de una muestra compuesta por punto, sino que son réplicas del punto de muestreo a todos los efectos. Además, se tomaron en cada punto muestras con red de zooplancton para el recuento de larvas, como réplica de las mismas tomadas para microscopía. Todas las muestras se recogieron en recipientes estériles y se transportaron en frío hasta el laboratorio donde se almacenaron congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Con posterioridad se filtraron y analizaron cada embalse independientemente, para evitar cualquier posible contaminación de las muestras.

Como punto de contraste positivo, se realizó en el embalse de Sobrón (Álava-Burgos) y desde la orilla, una toma de muestras de agua y filtrado en red, que es un punto de máximo desarrollo de la invasión de la especie en aguas del río Ebro. Para evitar contaminaciones cruzadas, este muestreo se efectuó un día distinto y posterior al del resto, y utilizando otro instrumental. Así mismo, las muestras se procesaron también independientemente.

### **3.1.2. Procedimiento de limpieza y desinfección**

El procedimiento de limpieza y desinfección de los equipos de muestreo aplicado en este trabajo cumple lo establecido en el protocolo de 12 de abril de 2007, aprobado en Junta de Gobierno de la Confederación Hidrográfica del Ebro, referente a las “Medidas relativas a la navegación con motivo de la expansión del mejillón cebra”.

Además, se han tenido presentes las recomendaciones recibidas de la Dirección técnica de los trabajos, antes de su inicio, y por último las precauciones adicionales que plantea Ecohydros en su procedimiento interno para el trabajo con especies exóticas e invasoras, tanto en campo como el laboratorio, para evitar contaminaciones cruzadas en los análisis.

Seguidamente se facilitan los detalles de su aplicación en este trabajo:

#### **Protocolos de campo**

Los muestreos se planifican de forma que se dejan para el final las masas de agua afectadas, y se dedican juegos de elementos replicables exclusivos para su uso en este tipo de masas de agua. Además, en todos los casos se han utilizado redes de zooplancton únicas para cada masa de agua con el fin de evitar el recuento de larvas muertas retenidas en la malla después de la desinfección.

Dependiendo de la disponibilidad de estaciones de limpieza, al término del muestreo en cada masa de agua se opta por acudir a una estación oficial de limpieza y desinfección cercana. Cuando no se dispone de una facilidad de ese tipo en el entorno cercano se realiza la limpieza y desinfección *in situ* con medios propios, al término del muestreo.

Se procede al vaciado de restos de agua de lastre y viveros de la embarcación, depósitos, sentinas, así como de los equipos que hayan estado en contacto con el agua. Mediante agua caliente a presión, se eliminan los ejemplares y los restos de vegetación acuática que hayan podido adherirse al casco o al motor de la embarcación.

A la salida del embalse, se aplica una pequeña aceleración antes de parar el motor para elevar la velocidad de circulación del agua y temperatura del motor, provocando así la muerte de las larvas. Ya en la estación de limpieza, se enjuaga el motor sumergiéndolo en un recipiente con agua clorada y acelerando. Se renuevan los circuitos de refrigeración de los motores con agua limpia.



Se procede a la fumigación con presión de todas aquellas partes de la embarcación, remolque y vehículo que hayan estado en contacto con el agua, así como los recipientes o departamentos utilizados. Se aplica para ello una solución desinfectante (para una concentración de lejía del 5% se debe añadir 1 mL/L, es decir unas 20 gotas a cada litro), prestando especial atención a aquellas partes que puedan contener accidentalmente ejemplares de mejillón, como suelas de calzado, ganchos, tornillos, etc.

Las artes de muestreo (hidrocaptoreos, cabos, redes, nasas, etc.) se desinfectan por inmersión o fumigación con solución desinfectante. La solución desinfectante (agua clorada), se prepara añadiendo 25 mL de lejía por m<sup>3</sup> de agua (concentración final de cloro libre: 1 mg/L).

Los elementos más resistentes, tales como remolque, cascos de embarcaciones, bajos del coche, ruedas, se limpian con hidrolimpiadora cuyas características aproximadas son:

- Presión: 160 bar y agua a 60 °C procedente de la red, posteriormente clorada.
- Caudal: 600-1200 l/h
- Una manguera de suficiente longitud para alcanzar todas las partes a lavar con comodidad
- Alimentación: eléctrica.

Los elementos más delicados (equipos y complementos), tales como toldos o neopreno se limpian mediante inmersión en cubas con cloro en la misma concentración anterior, o por fumigación mediante un rociador manual de mochila cuyas características aproximadas son:

- Presión: 1,5-6,0 bar aproximadamente y agua fría tomada del embalse posteriormente clorada
- Capacidad del depósito: 16 L
- Un rociador de acero extensible para facilitar el acceso a todas las áreas
- Alimentación: manual

Las sondas, sensores y equipos electrónicos que no admiten desinfección con presión y lejía, se lavan *in situ* con abundante agua destilada y se secan concienzudamente antes de su embalaje.

### **Protocolos de laboratorio**

Durante el análisis microscópico del plancton se utilizaron cámaras y columnas de sedimentación limpias, pipetas estériles desechables, así como cubreobjetos y portaobjetos nuevos en cada muestra para evitar la contaminación cruzada entre los embalses. Entre los análisis de cada embalse, se realizó la limpieza manual de las cámaras y se desinfectaron antes



de cada sedimentación mediante hipoclorito sódico diluido (1 hora) y posterior baño ácido en clorhídrico 5% (1 hora) para eliminar cualquier resto de elementos bióticos o abióticos carbonatados. Para la muestra positiva de contraste (embalse de Sobrón) se utilizó un material de manipulación y de microscopía diferente.

Para el análisis del ADN ambiental, se aplican rigurosas normas de esterilización en el laboratorio, intrínsecas a la propia técnica y necesarias para evitar falsos positivos y contaminaciones cruzadas entre muestras, como se detalla más adelante.

### 3.2. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y CONTEO LARVARIO MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA

Las 24 muestras de los 4 embalses estudiados, más la del control positivo en Sobrón, se examinaron en un microscopio óptico invertido LEICA DM-LI con luz directa y, en su caso, utilizando luz polarizada cruzada en campo oscuro para comprobación de los detalles y descartar posibles equivocaciones con otros elementos del plancton que poseen conchas o cubiertas carbonatadas, siguiendo las indicaciones de Johnson (1995). Las determinaciones semi-cuantitativas del plancton en campo claro de las muestras y las cuantitativas para los datos de densidad larvaria de mejillones cebra, se hicieron utilizando la técnica de Utermöhl (1958) adaptada para la especie.

En todos los casos, se hizo el recuento total del contenido de la muestra sin aplicar centrifugación, mediante sedimentación (al menos 25 minutos) de sucesivas submuestras; y utilizando barridos a 100 aumentos de todo el contenido de las cámaras de sedimentación. Además de la determinación de todos los taxones y elementos presentes en el plancton, se realizó una clasificación del estadio metamórfico de las larvas, para lo cual se utilizaron en su caso magnificaciones x200 y x400, y también luz en contraste diferencial de fases.

En el Anexo III se facilitan para cada uno de los embalses los boletines de ensayo de identificación y recuento de zooplancton (*Dreissena polymorpha*), que recogen el trabajo ejecutado por un bioanalista experto en moluscos de aguas continentales con amplia experiencia en la identificación de esta especie. Incluyen, por este orden, información sobre el estado de las muestras en el momento de su recepción en el laboratorio y el volumen filtrado en campo, los detalles del proceso de preparación de la muestra (volumen sedimentado y número de recuentos de alícuotas), y los recuentos obtenidos en términos de abundancia (n), porcentaje respecto al total (%) y densidad de cada etapa larvaria (larvas/L).

Los análisis se realizan para cada una de las etapas larvarias planctónicas (trocóforas, velíferas y pedivelíferas) y postlarvarias bentónicas; siguiendo la clasificación de Ackerman *et al.* (1994):

**FORMAS LARVARIAS (TODAS PLANCTÓNICAS)**

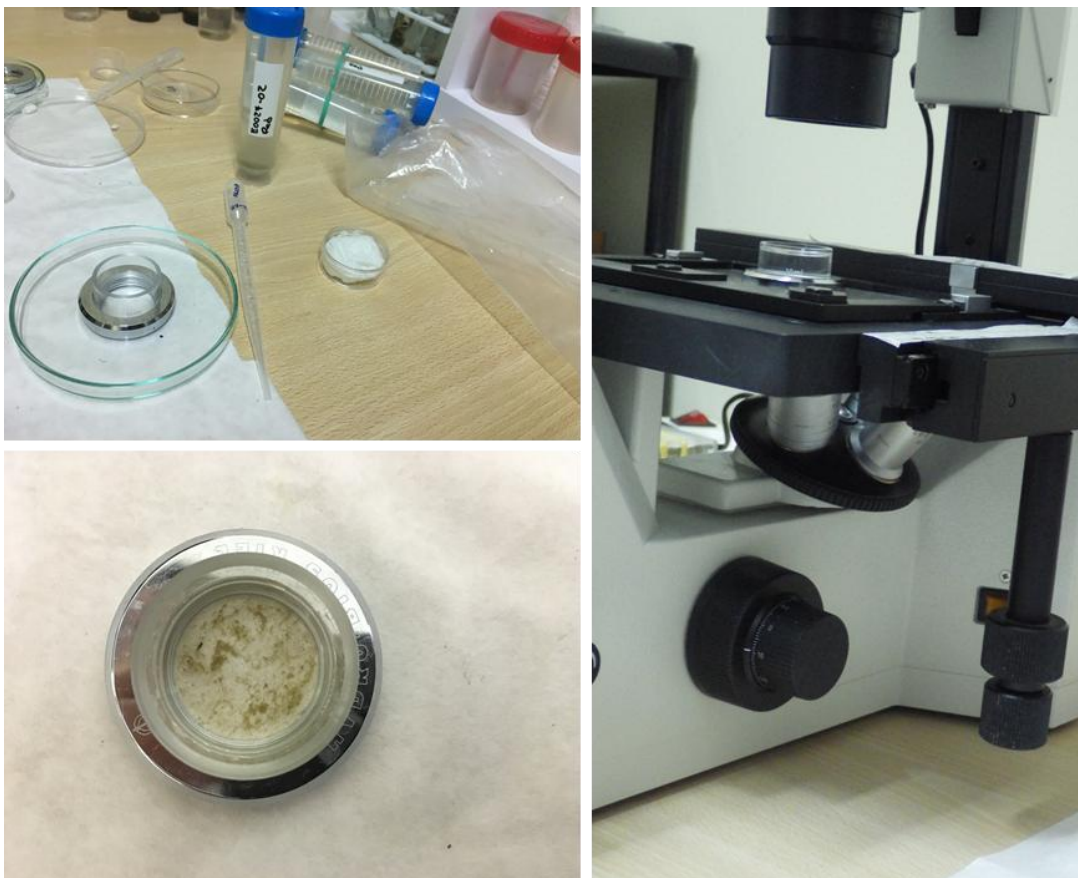
- Larvas trocóforas
- Larvas velíferas:
  - D-veliger (silueta “D mayúscula” o de charnela recta)
  - V-veliger (umbonadas)”
- Larvas pedivelíferas:
  - Pediveliger (colonizantes)

**FORMAS POST-LARVARIAS (BENTÓNICAS)**

- Larvas postvelíferas
- Plantígradas (forma plana o espátula)

**FORMAS POST-LARVARIAS (BENTÓNICAS Y SÉSILES)**

- Juveniles (formando los sifones)
- Adultos (con sifones y branquias)



**Figura 2.** Imágenes del proceso de análisis óptico, cámaras de sedimentación y microscopio invertido

### 3.3. DETECCIÓN MEDIANTE ADN AMBIENTAL

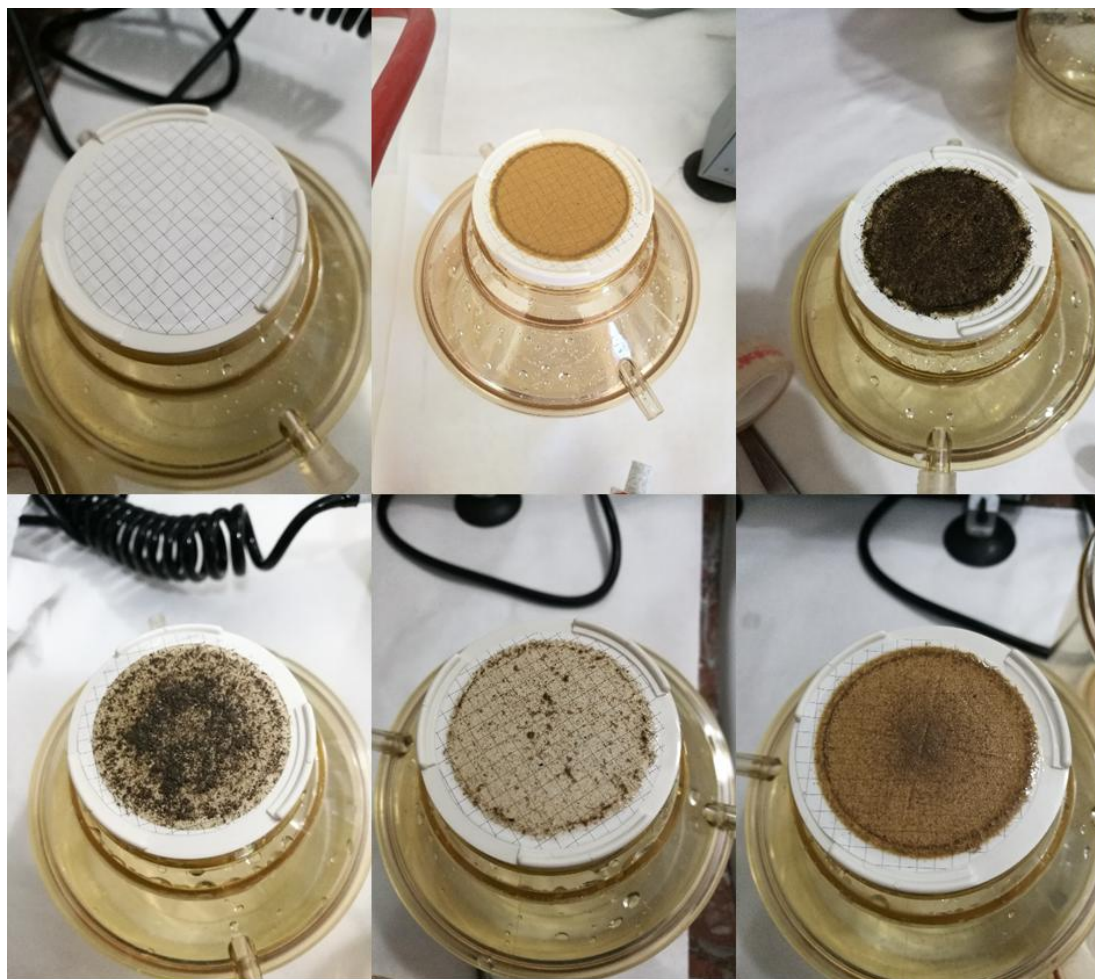
Para la detección de mejillón cebra mediante ADN ambiental se requiere someter la muestra a filtración, para retener el ADN y extraer el material genético de los filtros. Posteriormente, el ADN obtenido es sometido a amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando un marcador o “primer” especie-específico de *Dreissena polymorpha*. El último paso es la visualización del resultado mediante técnicas de electroforesis.

Las muestras fueron filtradas con un sistema de presión en condiciones de esterilidad en el laboratorio. Todo el material se esterilizaba entre muestras, para evitar contaminaciones. Las extracciones de ADN ambiental se realizaron también en laboratorio bajo estrictas condiciones de esterilidad, siguiendo los protocolos internacionales publicados en revistas científicas contrastadas, que incluyen la incorporación de controles negativos durante todo el proceso (filtración y extracción), la utilización de material desechable y trabajar en todo momento en cabina de flujo laminar con luz UV. Adicionalmente, como medida de control de posibles contaminaciones se procesaron las muestras de cada embalse independientemente. En el proceso se incluyó un test de calidad que permite saber si se está obteniendo ADN en general de cada una de las muestras y permite descartar la presencia de inhibidores de la PCR, si los hubiera, así como controles para evitar posibles falsos negativos y/o positivos durante las diferentes etapas del proceso para asegurar el correcto funcionamiento del procesado de las muestras.

Para confirmar la obtención de ADN de calidad y descartar posibles inhibidores de la PCR se amplificó un gen universal (gen ribosomal 18s) en todas las muestras de ADN ambiental, esto sirve como control de las amplificaciones o ausencia de las mismas, con el fin de si los resultados obtenidos con el marcador específico fueran negativos, poder descartar que se debiera a una mala calidad del ADN, una escasa cantidad del mismo o debido a la presencia de inhibidores. Una vez descartada la presencia de inhibidores y confirmada la obtención de ADN, se realizaron amplificaciones por PCR con el marcador especie-específico capaz de detectar exclusivamente la presencia de *Dreissena polymorpha*, tanto larvas como adultos, a muy bajas concentraciones. Las amplificaciones se realizaron por triplicado en reacciones independientes para confirmar y garantizar la certeza de los resultados obtenidos.

Finalmente, todos los resultados fueron visualizados por electroforesis, con marcadores de tamaño estandarizados.

En el Anexo IV se facilitan los boletines de ensayo del eDNA para cada uno de los embalses. Incluyen, por este orden, información sobre el estado de las muestras en el momento de su recepción en el laboratorio, los detalles del proceso de filtración y de extracción y el resultado en términos de detección para cada una de las réplicas.



**Figura 3.** Muestrario de filtros tras el filtrado de agua procedente de diferentes puntos

### 3.4. ESCALA DE EVALUACIÓN ADAPTADA





En el presente estudio se ha incorporado al seguimiento larvario del mejillón cebra una técnica nueva (eDNA) y de mayor sensibilidad, y esto permite incrementar la discriminación en el rango bajo de detección, es decir, en aquellos casos en los que las densidades de mejillón cebra



son bajas. Mediante la ampliación de la resolución en el rango bajo de densidad, se pretende tener la capacidad de intervenir en la fase de colonización incipiente, antes de que la especie se asiente de forma permanente y extensiva en la masa de agua, periodo que resulta ser el del máximo interés desde el punto de vista de la gestión para la erradicación o el control de la invasión.

En los controles larvarios que viene realizando la CHE desde el año 2009, se aplican 3 categorías de resultados de los recuentos, según la presencia y concentración de larvas obtenida en la muestra. Al utilizar la técnica de detección del eDNA, se habilita una nueva posibilidad, que corresponde a las situaciones en las que se producen positivos mediante la técnica del eDNA en puntos donde no se detectan mediante la técnica clásica. Esto podría representar una alerta más temprana que la detección de larvas en concentraciones inferiores a 0,05 ind/L. Por este motivo, se define y aplica a los resultados de este trabajo una escala adaptada que contiene cuatro categorías que recogen las situaciones posibles al aplicar ambas técnicas, a las que se asigna un código que va de R0 a R4. Tres de estas categorías corresponden a las situaciones preexistentes (R0, R2 y R3) y se designa una nueva (R1) que recoge esta posibilidad.

De esta manera, la escala modificada quedaría con los siguientes códigos de color y alfanuméricos:

	Sin detección de ADN de mejillón cebrado: R0
	Detección de ADN de mejillón cebrado: R1
	Detección de larvas en concentración < 0,05 Larvas/litro (Presencia): R2
	Detección de larvas en concentración ≥ 0,05 Larvas/litro (Positivo): R3

Esta escala podrá perfeccionarse y desarrollarse completamente en el futuro, incorporando riesgos de presencia de adultos o de otros factores mediante una adecuada estrategia espacio-temporal de muestreo de eDNA y añadiendo el potencial de cuantificación que esta técnica puede ofrecer.

#### 4. RESULTADOS

En la muestra tomada como control positivo en el embalse de Sobrón se han obtenido detecciones claras con ambos métodos, confirmando la correcta aplicación de ambos procedimientos (óptico y eDNA).

De las 24 muestras analizadas (**Tabla 3**) en los embalses sometidos a control en este trabajo, no se ha obtenido ni un solo positivo en los análisis larvarios por microscopía, a pesar de que el volumen de agua filtrada ha sido de 200 L en las muestras superficiales y de que se ha realizado un esfuerzo de análisis exhaustivo de la muestra por un taxónomo experimentado en moluscos de aguas continentales. Las dificultades de detección en situaciones de baja densidad y especialmente cuando hay muchas partículas en suspensión, han quedado de manifiesto durante el desarrollo de los análisis.

En los análisis de eDNA en agua se han obtenido un total de 4 positivos<sup>1</sup> en dos de los cuatro embalses estudiados. Por otro lado, solamente en la mitad de esos casos se han reproducido los positivos en los análisis de eDNA realizados en las muestras obtenidas por filtrado del agua a través de la red de zooplancton (siguiendo el mismo procedimiento que en la toma de muestra para análisis por método óptico convencional). Esto confirma que es innecesaria e inadecuada esta replicación en la toma de muestra, tal y como se cabía esperar si se tiene en cuenta que las moléculas de eDNA pueden pasar por la malla de la red de zooplancton, lo que reduce la probabilidad de su presencia en la muestra final, por mucho que el volumen originalmente filtrado sea muy superior.

Los positivos han aparecido en los embalses de La Peña y Alloz. En el primer caso solamente en un punto de muestreo profundo y en 2 de las 3 réplicas, mientras que en Alloz han sido en tres puntos (todos de orilla) y en dos de ellos se han obtenido en todas las réplicas.

En los embalses de Canelles y Camarasa la probabilidad de que la especie esté presente en este momento es muy baja porque se han muestreado zonas cercanas a potenciales hábitats de

---

<sup>1</sup> Se considera positivo si más de una réplica lo es, pero no ha habido ningún caso en el que lo sea solamente una réplica.

asentamiento por adultos y no se ha detectado nada con la técnica de detección más sensible (en órdenes de magnitud) que existe (eDNA).

A partir de estos resultados y aplicando la escala provisional del grado de afectación actual por mejillón cebra descrita en el apartado 3.4, se obtiene una evaluación final de dos embalses en estado R0 (sin detección): Canelles y Camarasa y otros dos en R1 (con detección de ADN de mejillón cebra pero no de larvas en estudio microscópico): La Peña y Alloz (Figura 4).

En resumen, los resultados han sido:

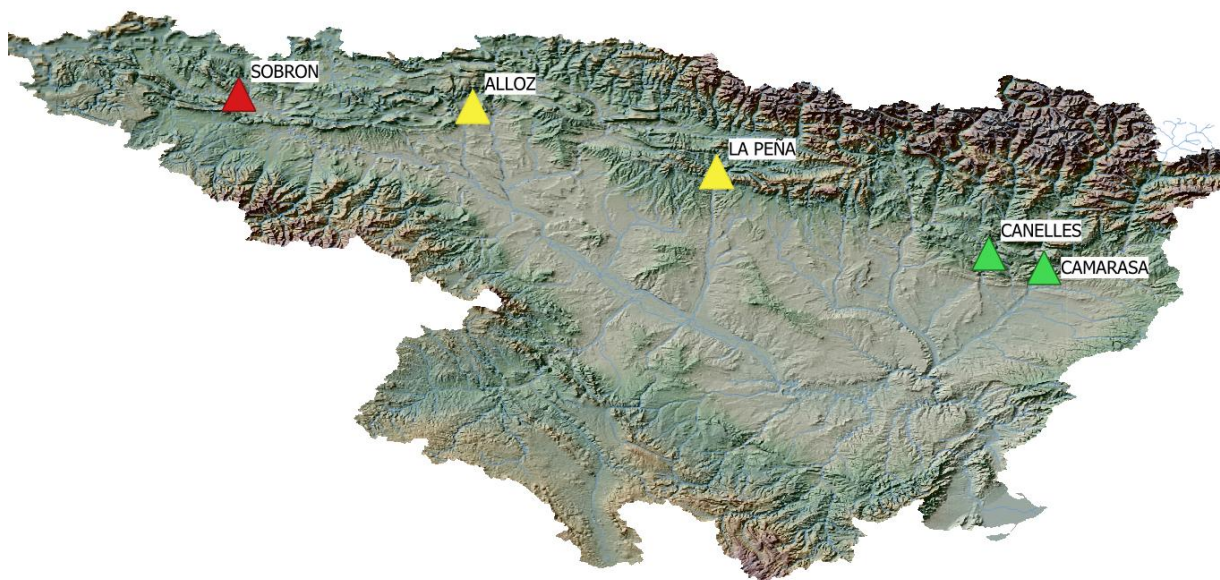
- En los embalses de **La Peña y Alloz** se han obtenido POSITIVOS en uno y tres puntos de muestreo, respectivamente, en los análisis de eDNA en agua, pero no en los de filtrado en red de plancton.
- En los embalses de **Canelles y Camarasa** no se han detectado POSITIVOS, ni mediante análisis de ADN ni mediante microscopía.
- En el embalse de **Sobrón**, se han obtenido POSITIVOS con todas las técnicas empleadas.



**Tabla 3.** Resultados por punto de muestreo

MASA DE AGUA	CÓDIGO DE MASA DE AGUA	CÓDIGO DE PUNTO DE MUESTREO	TRANSPARENCIA DE SECCHI (m)	Tª AGUA (°C)	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (µS/cm)	pH (Uds.)	OXÍGENO DISUELTTO (mg/L)	SATURACIÓN OXÍGENO (%)	TERMOCLINA (m)	DETECCIÓN eDNA (AGUA)	DETECCIÓN eDNA (RED)	LARVAS TOTALES (Larvas/L)	TROCOFORAS (Larvas/L)	D-VELIGER (Larvas/L)	VELIGER (Larvas/L)	PEDIVELIGER (Larvas/L)	PLANTIGRADAS (Larvas/L)	EVALUACIÓN FINAL
LA PEÑA	E004	E044-A01	0,7	19,5	365	8,6	8,1	90	-	2	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R1
	E004	E044-A02	0,6	18,7	358	8,7	8,3	89	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E004	E044-A03	0,8	18,7	360	8,7	8,1	87	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E004	E044-01	1,0	20,3	363	8,6	8,1	90	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E004	E044-02	0,6	19,8	373	8,5	7,4	81	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E004	E044-04	0,5	19,2	361	8,8	7,9	85	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
ALLOZ	E027	E027-03	2,7	23,6	1115	8,7	8,2	96	-	2	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R1
	E027	E0027-A03	2,6	23,2	1106	8,7	8,2	96	9	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E027	E0027-A05	2,2	22,9	1120	8,8	8,2	95	13	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E027	E0027-02	-	23,6	1115	8,7	8,2	96	-	3	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R1
	E027	E0027-05	-	23,9	1106	8,7	8,2	97	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E027	E0027-04	-	23,4	1131	8,7	8,7	102	-	3	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R1

MASA DE AGUA	CÓDIGO DE MASA DE AGUA	CÓDIGO DE PUNTO DE MUESTREO	TRANSPARENCIA DE SECCHI (m)		CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (µS/cm)		pH (Uds.)	OXÍGENO DISUELTTO (mg/L)	SATURACIÓN OXÍGENO (%)	TERMOCLINA (m)	DETECCIÓN eDNA (AGUA)	DETECCIÓN eDNA (RED)	LARVAS TOTALES (Larvas/L)	TROCOFORAS (Larvas/L)	D-VELIGER (Larvas/L)	VELIGER (Larvas/L)	PEDVELIGER (Larvas/L)	PLANTIGRADAS (Larvas/L)	EVALUACIÓN FINAL
<b>CANELLES</b>	E0058	E0058-A01	5,6	24,5	296	8,9	5,9	71	9	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0058	E0058-A02	5,2	24,1	300	8,9			9	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0058	E0058-A03	5,4	24,5	302	9,0			9	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0058	E0058-03	-	15,4	298	8,1	13,9	138	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0058	E0058-04	-	15,4	299	8,1	13,8	137	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0058	E0058-06	-	15,5	295	8,2	13,9	139	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
<b>CAMARASA</b>	E0065	E0065-02	-	23,0	202	9,1	9,0	104	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0065	E0065-03	-	19,9	246	8,8	8,3	95	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0065	E0065-04	-	24,0	203	9,1	8,0	92	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0065	E0065-A02	4,0	21,7	253	9,2	8,1	92	24	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0065	E0065-A03	4,0	21,3	255	9,1	8,2	92	23	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
	E0065	E0065-A04	0,7	20,5	275	8,8	8,0	89	-	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	R0
<b>SOBRÓN</b>	E0022	E0022-01	-	-	-	-	-	-	-	3	3	2,255	0,000	1,510	0,655	0,090	0,000	R3	



<p><b>Evaluación final de los análisis para detección de ADN y larvas de <i>Dreissena polymorpha</i></b></p> <p>SEPTIEMBRE DE 2019</p>	<p><b>Legenda:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li> Sin detección de ADN de mejillón cebra: R0</li> <li> Detección de ADN de mejillón cebra: R1</li> <li> Detección de larvas en concentración &lt; 0,05 Larvas/litro (Presencia): R2</li> <li> Detección de larvas en concentración ≥ 0,05 Larvas/litro (Positivo): R3</li> </ul>
<p><b>DETERMINACIÓN LARVARIA DE DREISSENA POLYMORPHA MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO</b></p>	
<p><b>Ejecuta:</b></p> 	<p><b>Contrata:</b></p> 

**Figura 4.** Mapa de evaluación final por embalse

En los 4 embalses estudiados, la CHE lleva realizando seguimientos larvarios varios años, y únicamente el **embalse de Canelles** ha presentado todos los análisis negativos (96 muestras tomadas entre noviembre de 2014 y 2018), incluyendo los del actual estudio. En este embalse se recomienda mantener un nivel de vigilancia basal, para que en el caso de que se exponga a una colonización por mejillón cebra en el futuro, se pueda detectar en los primeros estadios, lo que aumenta las posibilidades de controlarlo a tiempo.

En el **embalse de Camarasa** desde el año 2014, se han analizado un total de 96 muestras entre noviembre de 2014 y 2018, mediante el método de microscopía óptica de recuento, solamente en dos de ellas se han obtenido positivos (julio y septiembre de 2018), en ambos casos con recuentos inferiores a 0,05 larvas/L. En el presente control (septiembre de 2019), no se ha detectado *Dreissena polymorpha* en ningún punto ni con ninguno de los dos métodos aplicados. Esto indica que podría haber una presencia muy escasa de esta especie o una deriva desde otras masas de agua situadas aguas arriba, que en esta fase tan incipiente se detecta dependiendo del momento y lugar del muestreo. Es por ello muy recomendable intensificar el seguimiento.

En el **embalse de Alloz** se han realizado 93 controles entre noviembre de 2014 y 2018, hasta en 10 puntos diferentes, y se han obtenido 4 positivos, siempre con valores de densidad larvaria inferiores a 0,05 larvas/L. De ellos, 3 se han producido en el punto E0027-02, en junio y septiembre de 2015 y en septiembre de 2016. El último se obtuvo en el punto E0027-06 en el mes de julio de 2017. En el presente control (septiembre de 2019), no se ha detectado en ningún punto aplicando el método de microscopía óptica, Sin embargo, sí se han obtenido positivos mediante la técnica del eDNA en 3 puntos de los 6 muestreados, todos ellos en superficie (en las márgenes del embalse). Esto indica que pueden existir larvas o ejemplares adultos en un entorno cercano a estos puntos de muestreo y sería altamente recomendable intensificar la monitorización para localizar la fuente.

En el **embalse de La Peña** se han realizado un total de 118 controles de larvas entre noviembre de 2014 y 2018, con solamente 3 positivos, uno en noviembre de 2014 y otros dos en junio y septiembre de 2018 (en el punto de muestreo E0044-04). En el presente estudio se ha obtenido un positivo en el análisis de eDNA en el punto E0044-A01, que se ubica en la zona central de la masa de agua, es decir, no asociado a las orillas. Todo parece indicar que hay una presión cercana por colonización de mejillón cebra, podría explicar las apariciones esporádicas

recientes, lo que implica que se deberían intensificar los controles para intentar localizar la fuente y neutralizar el avance de la invasión.

Por último, en el **embalse de Sobrón**, utilizado únicamente como control positivo en el presente estudio, se cuenta con 14 análisis de larvas desde el año 2008 y siempre se han obtenido valores holgadamente por encima de 0,05 larvas/L, habiéndose alcanzado un máximo de 765 larvas/L en el año 2017. En la muestra tomada en la orilla cercana a la presa en septiembre de 2019, el recuento ha sido de 2,26 larvas/L y en las 3 réplicas de los análisis realizados mediante la técnica de eDNA, tanto en agua como en filtrado de red de zooplancton, se han obtenido claros positivos. En el esfuerzo reproductor de finales de primavera, todos los años se encuentran valores unas 20-22 veces superiores a los de septiembre, incluido el año 2015 en que tras el vaciado del mismo no disminuyó la presencia larvaria en el plancton, debido muy probablemente a la existencia en zonas profundas de una población estable que no se vio afectada.

Atendiendo a los resultados obtenidos se considera que, para mejorar el rendimiento de los programas de monitorización del mejillón cebra que se vienen aplicando en esta demarcación hidrográfica, resulta recomendable incorporar el potencial que tiene el eDNA como técnica de alta sensibilidad, y progresar hacia un diseño muestral optimizado, tanto en el espacio como en el tiempo. Se debe también tener presente la ventaja de aplicar en determinados casos una versión cuantitativa de esta técnica.

#### **4.1. EMBALSE DE ALLOZ**

Entre los días 2 y 3 de septiembre de 2019 se completó el muestreo en este embalse, en condiciones de moderado viento que producía agitación del agua y cierta turbidez en las zonas más someras.

##### **4.1.1. Datos físico-químicos**

La transparencia del agua en las estaciones profundas oscilaba entre 2 y 2,5 m aproximadamente y la columna de agua presentaba estratificación térmica, con la termoclina entre los 9 y 12 m de profundidad (Anexo II). La temperatura del agua en las capas superficiales se situaba en torno a los 23 °C y el pH en valores moderadamente básicos (8,5 a 9). La

conductividad eléctrica en este embalse es alta (> 1100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), debido a la influencia del arroyo Salado, y en el hipolimnion se incrementa notablemente, lo que contribuye a reforzar la estratificación. Todos los parámetros analizados se encuentran en valores en el rango tolerable para todas las fases vitales del mejillón cebra.

#### **4.1.2. Análisis de larvas por métodos ópticos**

No se han identificado larvas de mejillón cebra en ninguna de las 6 muestras analizadas en este embalse, a pesar de que se ha filtrado un volumen de agua de 200 L y de haberse sedimentado y revisado el 100% de la muestra.

Las muestras, especialmente las de orilla, presentan un alto contenido en sólidos en suspensión y moderado contenido en fitoplancton, muy fragmentado por la acción del oleaje y las partículas inertes. Esto podría limitar la sensibilidad de esta técnica convencional de control larvario.

#### **4.1.3. Análisis de eDNA**

En el Anexo IV se facilitan los boletines de laboratorio referentes a este tipo de ensayo (eDNA), con la información pormenorizada de los diferentes procesos implicados y de los resultados por punto y réplica. Mediante esta técnica se han obtenido positivos en 3 de los 6 puntos evaluados, todos ellos de orilla (Figura 5). A efectos de claridad, y dado que es el protocolo original y el que se ha mostrado más sensible en este trabajo, se representan solamente los resultados de los análisis de eDNA en las muestras de agua.

En el punto profundo más cercano a la presa han resultado positivas 2 de las 3 réplicas, tanto en la muestra de agua como en la filtrada con red de zooplancton. Sin embargo, hay dos puntos someros (de un total de tres) en los que se han obtenido positivos, y además en todas las réplicas de la muestra de agua en esos dos casos. Sin embargo, en las muestras tomadas con red de zooplancton en esos mismos puntos someros se obtuvieron positivos solamente en uno de ellos (y únicamente en 2 de las 3 réplicas). Este resultados parecen indicar que la el método de análisis del eDNA aplicado sobre muestras filtradas con red tiene menor sensibilidad que cuando se aplica a muestras de agua tomadas directamente del embalse. Esto tiene cierta lógica, porque en el caso del agua filtrada se pueden haber lavado parte de las moléculas de ADN no contenidas en partículas y larvas, capaces de atravesar una malla de 55  $\mu\text{m}$ .



Esto indica la presencia de mejillón cebra en bajas densidades y con distribución preferente del ADN en las zonas de orilla del embalse, que podría ser consecuencia de derivas a zonas laterales de la masa de agua por causas hidrodinámicas; en esta época del año podrían corresponder a larvas generadas en un segundo pulso reproductor de 2019.

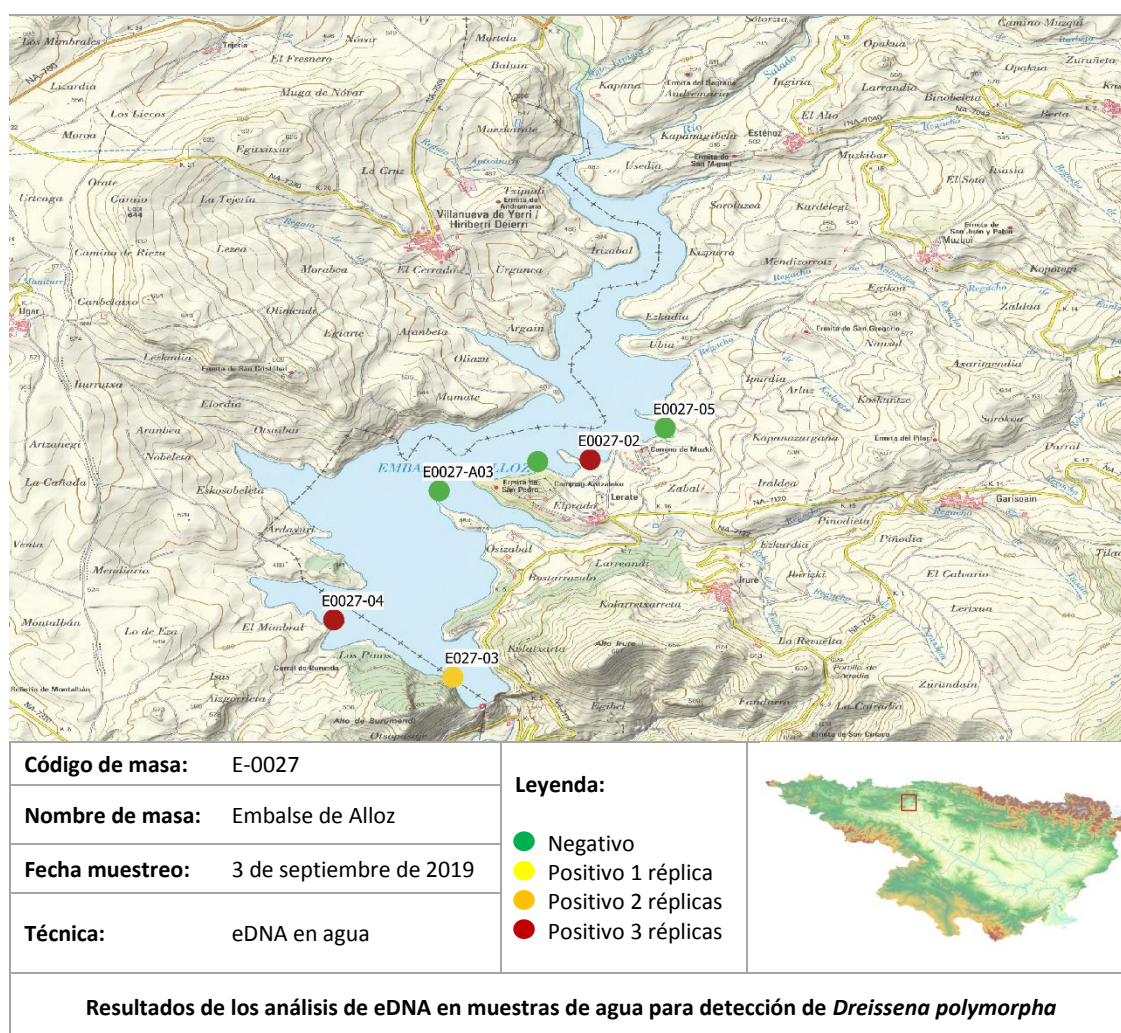


Figura 5. Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de Allos

#### 4.2. EMBALSE DE LA PEÑA

El día 11 de septiembre de 2019 se completó el muestreo en este embalse, en buenas condiciones meteorológicas. Todos los puntos de muestreo se hicieron desde la embarcación, cuya botadura presentó algunas dificultades por la inexistencia de un buen acceso. La limpieza y desinfección de los equipos se realizó in situ con medios propios.

#### **4.2.1. Datos físico-químicos**

La transparencia del agua era muy baja, entre 0,5 y 0,78 m, y la escasa profundidad del embalse no permite el desarrollo de una estratificación térmica (Anexo II). La temperatura del agua en las capas superficiales se situaba en torno a los 20 °C y el pH en valores moderadamente básicos (8,6 a 8,9). La conductividad eléctrica en este embalse es moderada (en torno a 360  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) y la columna de agua presenta un buen nivel de oxigenación, con alta densidad de fitoplancton como indican los valores *in situ* de fluorescencia de la clorofila *a*, que en algún punto alcanzan 8  $\mu\text{g}/\text{L}$ . Todos los parámetros analizados se encuentran en valores en el rango tolerable para todas las fases vitales del mejillón cebra.

#### **4.2.2. Análisis de larvas por métodos ópticos**

No se han identificado larvas de mejillón cebra en ninguna de las 6 muestras analizadas en este embalse, a pesar de que se ha filtrado un volumen de agua de 200 L y de haberse sedimentado y revisado el 100% de la muestra.

Se han observado altas densidades del microalga *Dynobryon* sp., organismos mixotróficos, capaces de obtener energía y carbono a través de la fotosíntesis y de la fagotrofia de las bacterias, lo que refleja un estado trófico y saprofítico elevado, y una situación cercana a una proliferación masiva de fitoplancton.

El nivel de precisión del muestreo se considera adecuado para la detección de la especie con esta técnica, al integrar puntos cerca de paredes rocosas y otras zonas en las ensenadas y puntos rocosos cerca de la presa. Sin embargo, la baja transparencia provocada por la elevada concentración de algas en el plancton podría dificultar la detección de larvas en muy bajas concentraciones.

#### **4.2.3. Análisis de eDNA**

En el Anexo IV se facilitan los boletines de laboratorio referentes a este tipo de ensayo (eDNA), con la información pormenorizada de los diferentes procesos implicados y de los resultados por punto y réplica. Mediante esta técnica se han obtenido detecciones positivas únicamente en un punto de los 6 puntos evaluados, en concreto en el punto de profundidad E0044\_A01 (**Figura 6**). Sin embargo, no se han presentado positivos en ninguna de las muestras con red.



El hecho de que solamente se haya detectado en un punto, y además con una intensidad leve, indica que nos encontramos en una situación de muy baja densidad de *Dreissena polymorpha*, que resulta indetectable con otros métodos pero que permite presumir la presencia de esta especie en la masa de agua.

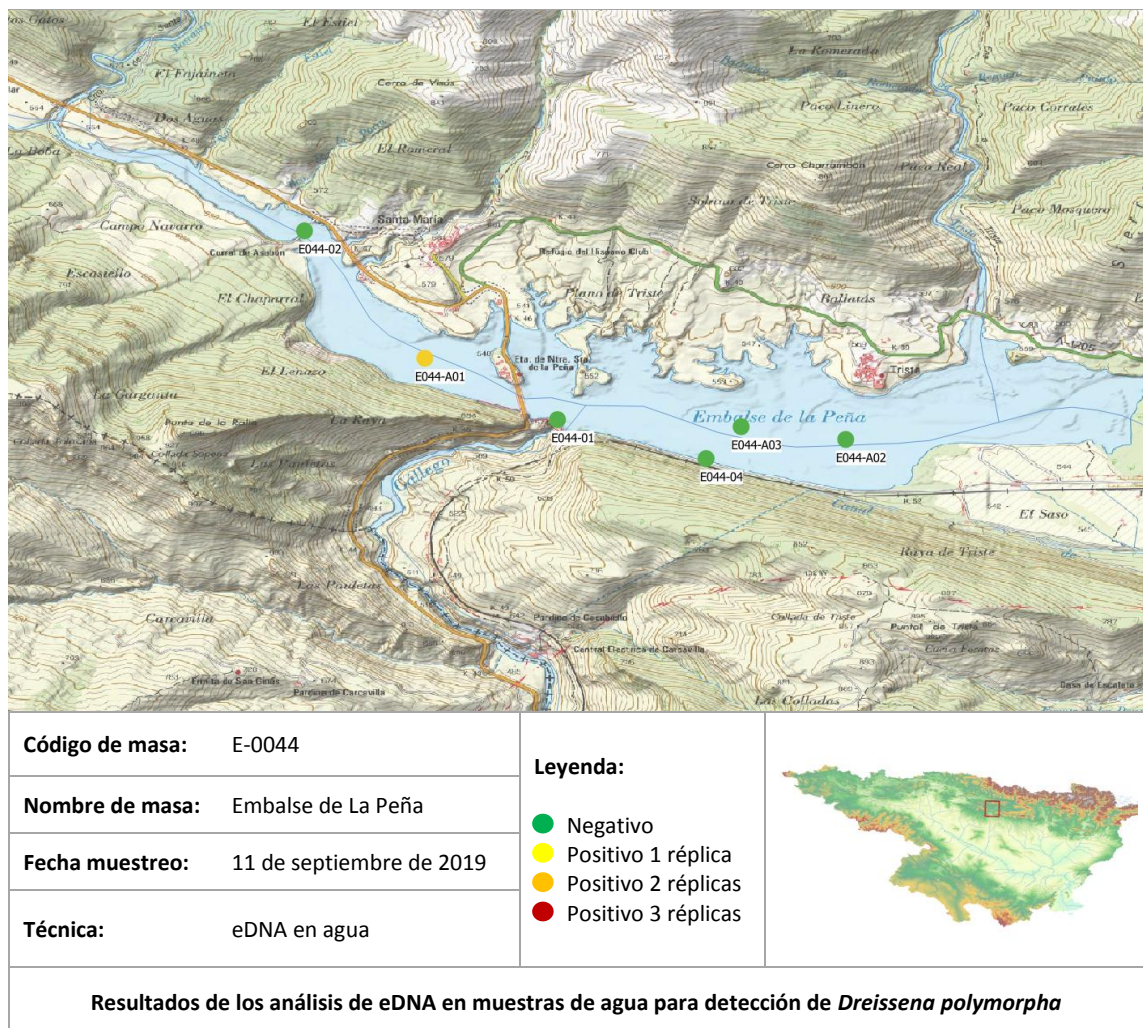


Figura 6. Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de La Peña

#### 4.3. EMBALSE DE CANELLES

El día 5 de septiembre de 2019 se completó el muestreo en este embalse, en buenas condiciones meteorológicas y sin dificultad para el acceso.

#### **4.3.1. Datos físico-químicos**

La transparencia del agua era moderadamente buena, entre 5 y 5,5 m, y la columna de agua presentaba estratificación térmica, con la termoclina a unos 9 m de profundidad (Anexo II). La temperatura del agua en las capas superficiales se situaba en torno a los 25 °C y el pH en valores moderadamente alcalinos, con máximos cercanos a 9,3 en algún punto, que podrían estar en el límite de tolerancia de la especie (Bowman & Bailey, 1998). La conductividad eléctrica en este embalse es moderada (en torno a 360  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) y la columna de agua presenta un moderado nivel de oxigenación por debajo de la termoclina. Exceptuando el pH en la zona fótica de la estación A03, los parámetros analizados se encuentran en valores en el rango tolerable para todas las fases vitales del mejillón cebra.

#### **4.3.2. Análisis de larvas por métodos ópticos**

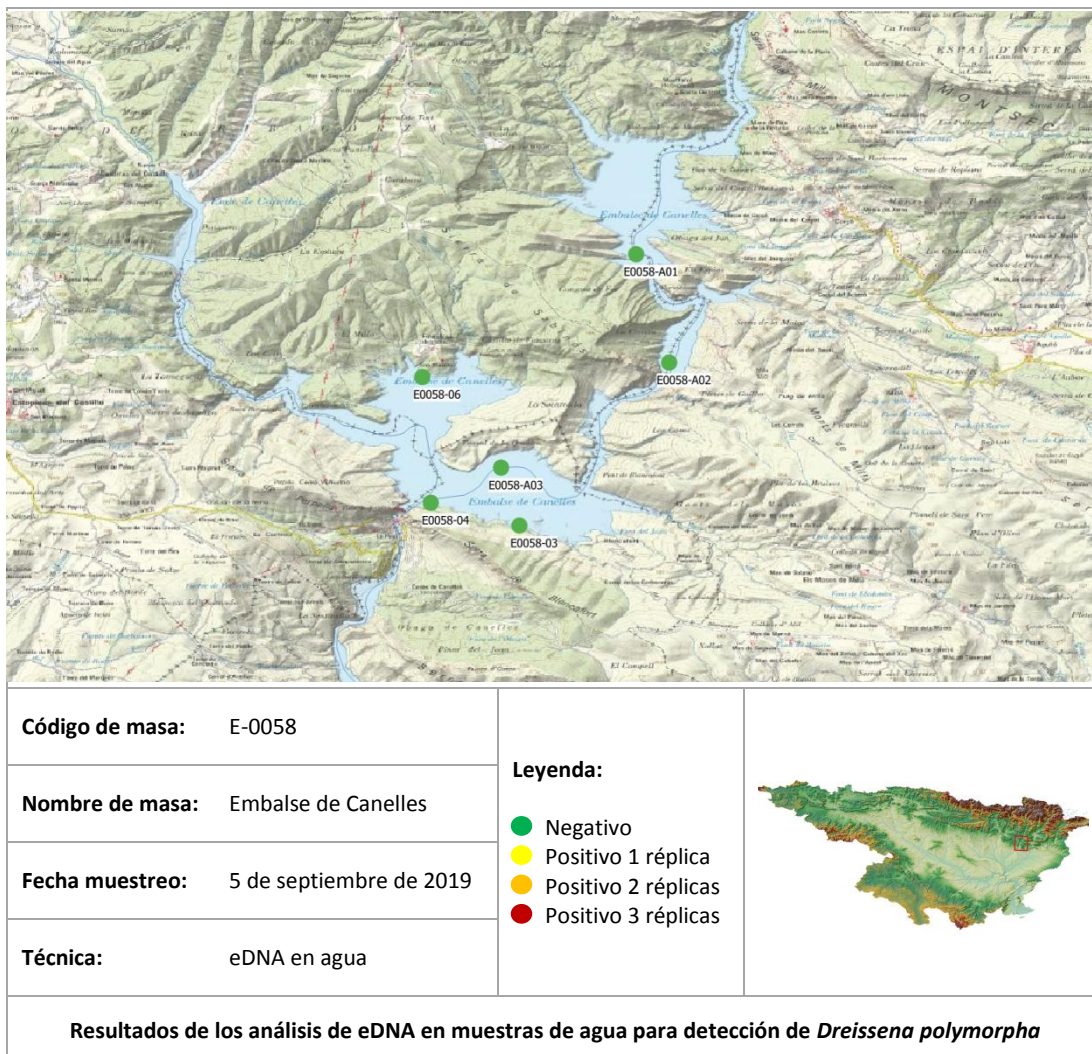
No se han identificado larvas de mejillón cebra en ninguna de las 6 muestras analizadas en este embalse, a pesar de que se ha filtrado un volumen de agua de 200 L y de haberse sedimentado y revisado el 100% de la muestra.

Algunas de las muestras de orilla contienen altas concentraciones de partículas sólidas sedimentarias, pero el nivel de precisión del muestreo se considera adecuado para la detección de la especie con esta técnica, al integrar puntos cerca de paredes rocosas y otras zonas en las ensenadas y puntos rocosos cerca de la presa.

#### **4.3.3. Análisis de eDNA**

En el Anexo IV se facilitan los boletines de laboratorio referentes a este tipo de ensayo (eDNA), con la información pormenorizada de los diferentes procesos implicados y de los resultados por punto y réplica. Mediante esta técnica no se han obtenido detecciones positivas en ninguno de los 6 puntos evaluados, ni en las muestras de filtrado de red de zooplankton ni tampoco en las de agua.

Dada la alta sensibilidad de este ensayo, se puede descartar en el embalse de Canelles la presencia de mejillón cebra en la época del muestreo (septiembre de 2019), lo que indica la ausencia de larvas y probablemente también de adultos.



**Figura 7.** Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de Canelles

#### 4.4. EMBALSE DE CAMARASA

El día 5 de septiembre de 2019 se completó el muestreo en este embalse, en condiciones de viento moderado a fuerte por la mañana y considerable dificultad de acceso debido al bajo nivel de embalse. La limpieza y desinfección de los equipos se realizó *in situ* con medios propios, a la finalización del muestreo.



#### **4.4.1. Datos físico-químicos**

La transparencia del agua era moderada (4 m) en las estaciones de la zona anterior y central del embalse, pero muy baja en la zona de cola (0,7 m). La columna de agua presentaba estratificación térmica, con la termoclina a unos 23 m de profundidad (Anexo II). La temperatura del agua en las capas superficiales se situaba en torno a los 22 °C y el pH en valores moderadamente alcalinos, con máximos que alcanzaban 9,3 en algún punto de la zona fótica en la estación de cabecera, y que podrían estar en el límite de tolerancia de la especie (Bowman & Bailey, 1998). La conductividad eléctrica en este embalse es moderada (en torno a 250  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) y la columna de agua presenta un moderado nivel de oxigenación por debajo de la termoclina. Exceptuando el pH en la zona fótica de la estación A02, los parámetros analizados se encuentran en valores en el rango tolerable para todas las fases vitales del mejillón cebra.

#### **4.4.2. Análisis de larvas por métodos ópticos**

No se han identificado larvas de mejillón cebra en ninguna de las 6 muestras analizadas en este embalse, a pesar de que se ha filtrado un volumen de agua de 200 L y de haberse sedimentado y revisado el 100% de la muestra.

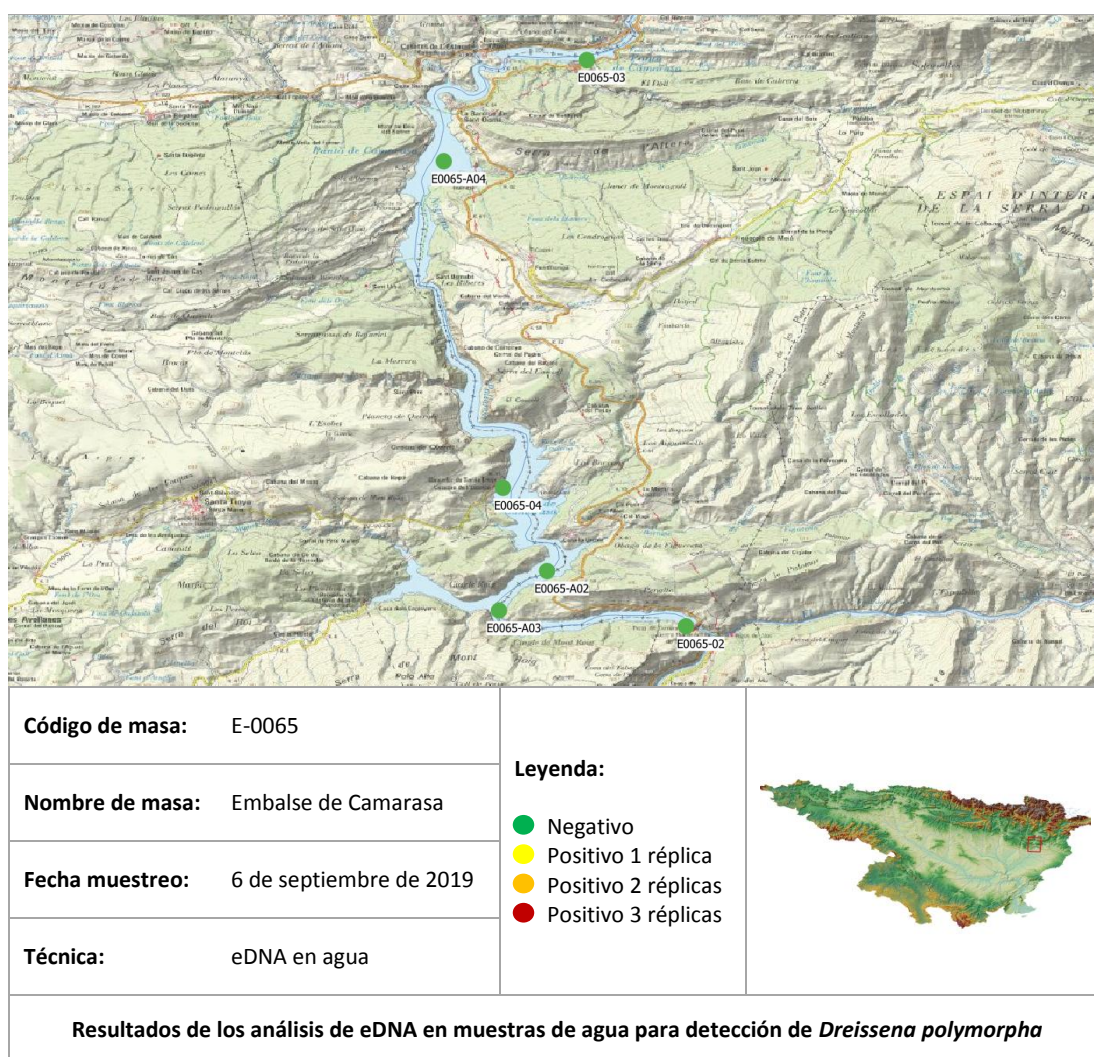
El fuerte oleaje, frecuente en las orillas durante el muestreo, puede introducir distorsión en la resolución de la técnica debido a la fragmentación de los elementos del plancton y a la gran cantidad de sedimentos inertes que atrapa la red; aspecto relevante en este muestreo de septiembre con el nivel de embalse por debajo del 50% de su capacidad. Por otro lado, esto representa también una mayor cercanía del punto de muestreo a potenciales zonas cotas de arraigo de adultos en zonas que no quedan habitualmente expuestas a la emersión.

Algunas de las muestras de orilla contienen altas densidades de diatomeas planctónicas de los géneros *Fragillaria* sp. y *Asterionella* sp., y en algún caso también de cladóceros, pero el nivel de precisión del muestreo se considera adecuado para la detección de la especie con esta técnica, al integrar puntos cerca de paredes rocosas y otras zonas en las ensenadas y puntos rocosos cerca de la presa.

### 4.4.3. Análisis de eDNA

En el Anexo IV se facilitan los boletines de laboratorio referentes a este tipo de ensayo (eDNA), con la información pormenorizada de los diferentes procesos implicados y de los resultados por punto y réplica. Mediante esta técnica no se han obtenido detecciones positivas en ninguno de los 6 puntos evaluados, ni en las muestras de filtrado de red de zooplancton ni tampoco en las de agua.

Dada la alta sensibilidad de este ensayo, se puede descartar en el embalse de Camarasa la presencia de mejillón cebra en la época del muestreo (septiembre de 2019), lo que indica la ausencia de larvas y probablemente también de adultos.



**Figura 8.** Mapa de resultados de eDNA en muestras de agua en el embalse de Camarasa

## 4.5. EMBALSE DE SOBRÓN

El día 10 de septiembre de 2019 se completó el muestreo en este embalse, en un punto de orilla cercano a la presa y en buenas condiciones meteorológicas. No hubo que introducir equipamiento ni sondas de ningún tipo al agua, excepto los medios para tomar muestras de agua y de plancton. Se utilizó material y equipamiento de muestreo exclusivo para este embalse, con el fin de eliminar cualquier riesgo de contaminación de otras masas de agua, y se desvinculó de cualquier otro trabajo de campo. El objeto de este muestreo, en un punto único, es únicamente disponer de un control positivo en los diferentes protocolos de seguimiento de larvas de mejillón cebrá aplicados en el estudio.

### 4.5.1. Análisis de larvas por métodos ópticos

La muestra de orilla analizada en este embalse ha resultado **POSITIVA** y con densidades de las formas larvarias D-veliger, V-veliger y pediveliger por encima del umbral de 0,05 larvas/L, cada una de ellas. La densidad total de todas las formas ha sido de 2,3 larvas/L (Anexo III).

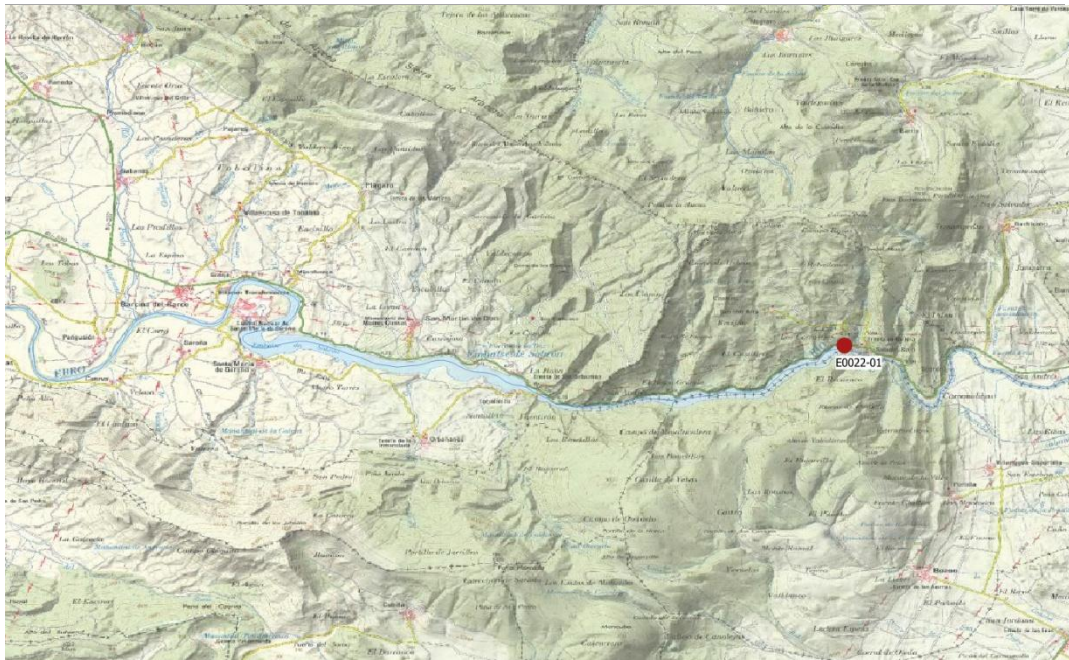
Esto indica la presencia de larvas viables de mejillón cebrá en altas densidades en esta época del año, que se corresponden con un importante segundo pulso reproductor en el año 2019, aunque el valor en este punto es inferior a las cifras habituales en el principal pulso de finales de primavera. Se recomienda intensificar el seguimiento con eDNA para detectar correctamente la presencia de material genético de *Dreissena polymorpha* en el embalse durante el invierno o periodos en los que no es posible capturar larvas en el agua. Asimismo se podría monitorizar mensualmente el estado gonatosomático de los adultos en el invierno para prever de forma anticipada la freza de larvas al agua y centrar las medidas de lucha y control en esos momentos críticos.

### 4.5.2. Análisis de eDNA

En el Anexo IV se facilitan los boletines de laboratorio referentes a este tipo de ensayo (eDNA), con la información pormenorizada de los diferentes procesos implicados y de los resultados por punto y réplica.

Mediante esta técnica se han obtenido detecciones positivas en ambas muestras (agua y filtrado de red) tomadas en este punto, lo que proporciona una validación del protocolo a escala de campo.





<b>Código de masa:</b> E-0022	<b>Leyenda:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li><span style="color: green;">●</span> Negativo</li> <li><span style="color: yellow;">●</span> Positivo 1 réplica</li> <li><span style="color: orange;">●</span> Positivo 2 réplicas</li> <li><span style="color: red;">●</span> Positivo 3 réplicas</li> </ul>	
<b>Nombre de masa:</b> Embalse de Sobrón		
<b>Fecha muestreo:</b> 10 de septiembre de 2019		
<b>Técnica:</b> eDNA en agua		
<b>Resultados de los análisis de eDNA en muestras de agua para detección de <i>Dreissena polymorpha</i></b>		

Figura 9. Mapa de resultados de eDNA en muestra de agua en el embalse de Sobrón

#### 4.6. RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS COMPARADOS

Los valores de los parámetros físico-químicos medidos *in situ* durante los muestreos reflejan una heterogeneidad interna debida a la estratificación térmica, en todos los embalses menos en La Peña, en el que la profundidad no es suficiente para que se genere esa variación vertical. También se evidencia una heterogeneidad superficial en algunos casos, que es especialmente notoria en la transparencia.

Efectivamente, en las zonas someras se pueden reducir notablemente la transparencia cuando hay agitación por el oleaje, y también en las zonas donde hay mayor desarrollo del fitoplancton, o aquellas en las que hay influencia hidrodinámica directa de los tributarios.

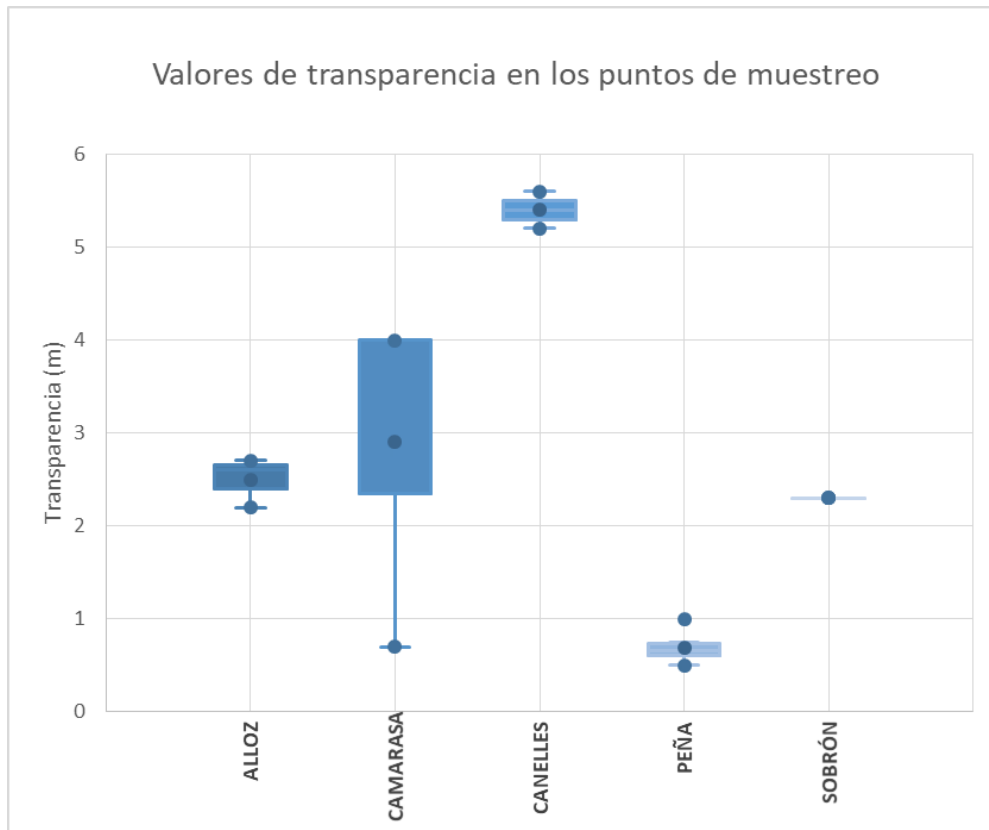
La **transparencia del agua** condiciona la profundidad a la que penetra la luz (espesor de la zona fótica) y por lo tanto es esperable que sea un factor relevante en la localización de las larvas planctónicas del mejillón cebra, ya que poseen un cierto carácter fototáctico positivo (Koback and Nowacki, 2007; Morales et al. 2019).

Por ello, estas variaciones en la transparencia del agua pueden condicionar la distribución espacial, horizontal y vertical, de las larvas planctónicas cuya captura con las redes dependería en determinadas circunstancias de patrones estocásticos.

Dado el carácter fototáctico de las fases larvarias (sobre todo las de metamorfosis más avanzada) de esta especie y las limitaciones que se dan en el hipolimnion de los embalses (bajas temperaturas y contenido en oxígeno), parece más interesante centrar los análisis en las condiciones ambientales de la zona fótica.

Como se puede apreciar en la Figura 10, destaca la baja transparencia (< 1m) en todos los puntos del embalse de La Peña y también en el punto de cola del embalse de Camarasa. El embalse de Canelles presenta la mayor transparencia, con valores entre 5 y 6 m en todos los casos.





**Figura 10.** Transparencia del agua en los puntos de muestreo

Dado el carácter fotófilo de las larvas de esta especie y las limitaciones que se dan en el hipolimnion de los embalses (bajas temperaturas y contenido en oxígeno), tiene sentido centrarse en las condiciones ambientales de la zona fótica, razón por la que las apreciaciones que se facilitan a continuación se centran en los valores obtenidos en ese estrato superficial.

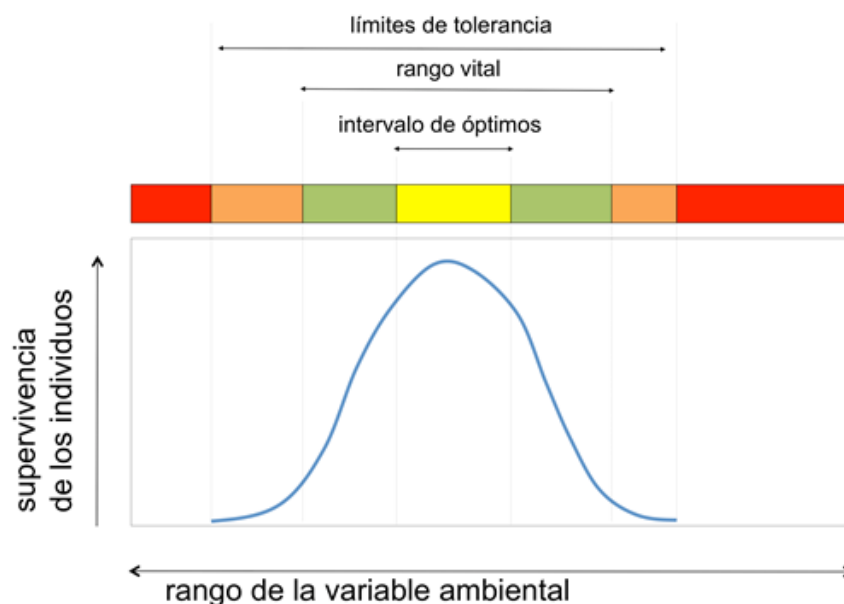
De las diferentes variables medidas, la temperatura y el pH tienen especial relevancia como potenciales condicionantes del desarrollo del mejillón cebrá, pero hay que tener muy presente que este análisis de variables físico-químicas en relación a la autoecología de la especie se debería hacer utilizando cuantiles sobre múltiples registros obtenidos a lo largo del periodo anual, para poder extraer conclusiones más robustas sobre potenciales limitaciones para la colonización de las masas de agua por esta especie invasora.

No obstante, se facilita a continuación un **resumen actualizado de los requerimientos ecológicos de esta especie**, que luego se utiliza para encuadrar los valores obtenidos durante este muestreo en estas variables más relevantes.

Según reflejan multitud de estudios ecológicos realizados en Norteamérica, y en el este y norte de Europa, de todas las condiciones y recursos, las que resultan más relevantes para la especie son la **temperatura** y el **pH**, entre las primeras, y la cantidad de **calcio disuelto** (junto con nutrientes como el fósforo total, magnesio o potasio) entre los segundos.

A partir de la regla de tolerancia de Shelford (1911), se definen las curvas de rangos vitales. Cada ser vivo presenta frente a los diversos factores ecológicos unos límites de tolerancia entre los que sobrevive, y otros más estrechos entre los cuales se encuentra su óptimo ecológico y la mayor probabilidad de supervivencia.

Además, se debe tener en cuenta que para cada factor ambiental importante para la especie, la amplitud de los límites puede ser modificable y sus valores variables a lo largo del ciclo vital de la especie.



**Figura 11.** Representación gráfica de la regla ecológica de Shelford (1911)

Siguiendo este planteamiento, y a partir de la profusa literatura sobre esta especie, podemos establecer los umbrales de tolerancia para el mejillón cebra en cuanto a la temperatura del agua

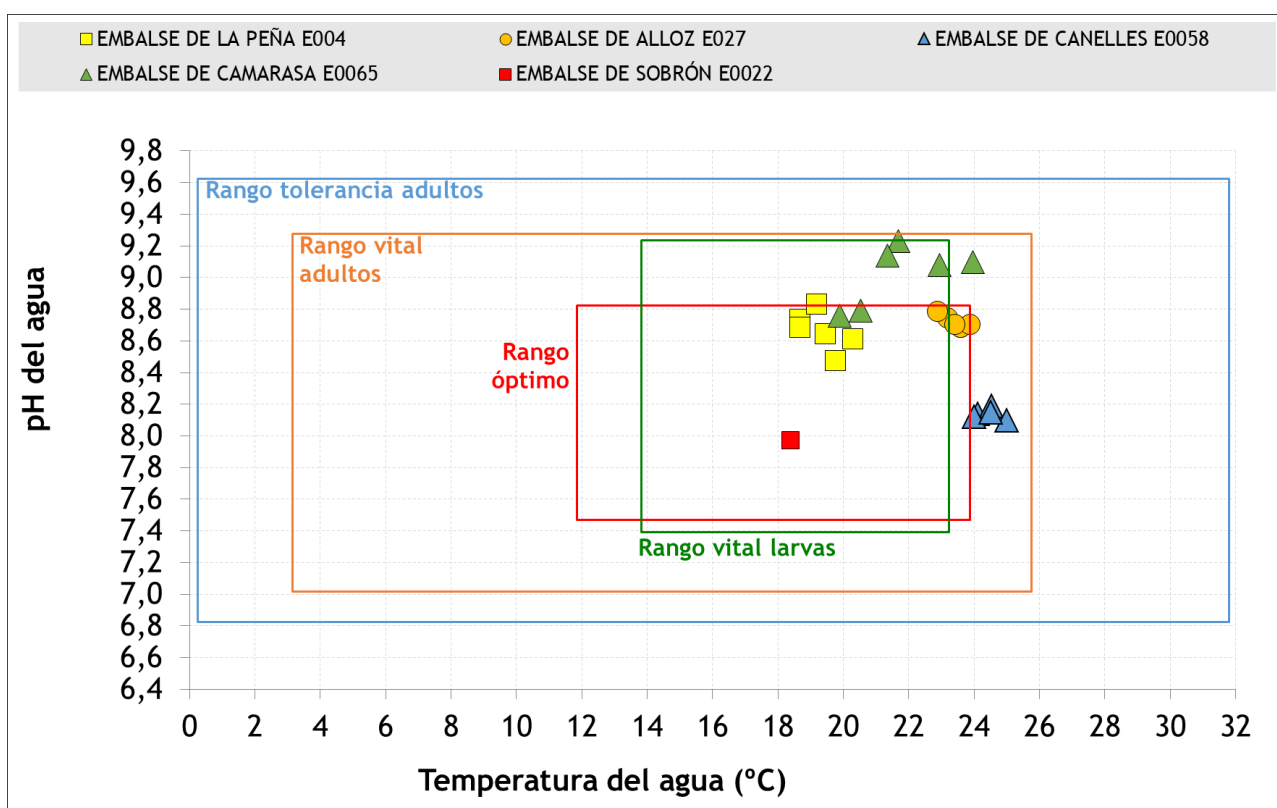
en el intervalo  $-2^{\circ}$  -  $31^{\circ}$  C, con un intervalo que incluye los óptimos para diferentes fases entre  $6^{\circ}$  y  $26^{\circ}$  C, en el que puede desarrollar sus funciones de alimentación, engorde y gametogénesis. Por lo tanto, se trata de una especie euritérmica, aunque cada etapa de su ciclo vital tiene distintos óptimos que nos permiten anticipar los momentos del año en los que los adultos están produciendo gametos en el agua y en consecuencia se formará una población larvaria planctónica. Un umbral de temperatura importante es el de  $12-14^{\circ}$  C, que representa el momento en el que se empiezan a producir embriones en el agua tras el paso del invierno. La variabilidad interanual de este momento es clave en el proceso de monitorización temprana de la especie.

Sin embargo, para la condición del pH del agua, *Dreissena polymorpha* presenta un intervalo de tolerancia más estrecho ( $6,5 - 9,5$ ), con preferencia por aguas básicas, y se desarrolla con dificultad en las aguas neutras con niveles escasos de mineralización. No obstante, el carácter eurioico de la especie para múltiples factores ambientales y su gran potencial reproductivo, permiten que pueden sobrevivir colonias pequeñas o ejemplares aislados en condiciones no óptimas. Dada su naturaleza de moluscos bivalvos, y la relación entre pH y mineralización de las aguas epicontinentales, es una característica importante en la potencial colonización de nuevos tramos en los ríos, y en su invasión de nuevos cauces e instalaciones.

Por último, para el caso del contenido de calcio disuelto en el agua, imprescindible para su metabolismo y para la formación de la concha, los límites de tolerancia y los rangos vitales son relativamente amplios en esta especie, aunque contenidos inferiores a  $5-6$  mg/L parecen no ser aptos para los mejillones, o al menos para que se produzcan grandes poblaciones.

A partir de este conocimiento experimental de los rangos de tolerancia para la especie y los datos de análisis fisicoquímico de los embalses estudiados, se plantean marcos que podrían delimitar rangos de potencial presencia de la especie y que pueden contribuir a interpretar los resultados de las analíticas de larvas en el plancton o de presencia de material genético en el agua. En todo caso, este análisis no deja de ser una mera aproximación, considerando la multidimensionalidad del nicho ecológico de la especie y el hecho de que los datos se refieren a un único muestreo realizado en la primera mitad de septiembre de 2019.

Si se representan en ejes enfrentados la **temperatura** y **pH** del agua (Figura 12), las muestras de los embalses de Sobrón y de La Peña entran en el espacio de potencial desarrollo óptimo de los adultos, y todas las demás en el rango vital de los mismos. Las muestras del embalse de Canelles y la mayor parte de las de Alloz se han tomado en una zona en la que la temperatura del agua excede el umbral máximo teórico vital para las larvas, y también ha sido así en una de las del embalse de Camarasa. En este último embalse, los valores de pH en algunas de las zonas están en el límite superior del rango vital de la especie.

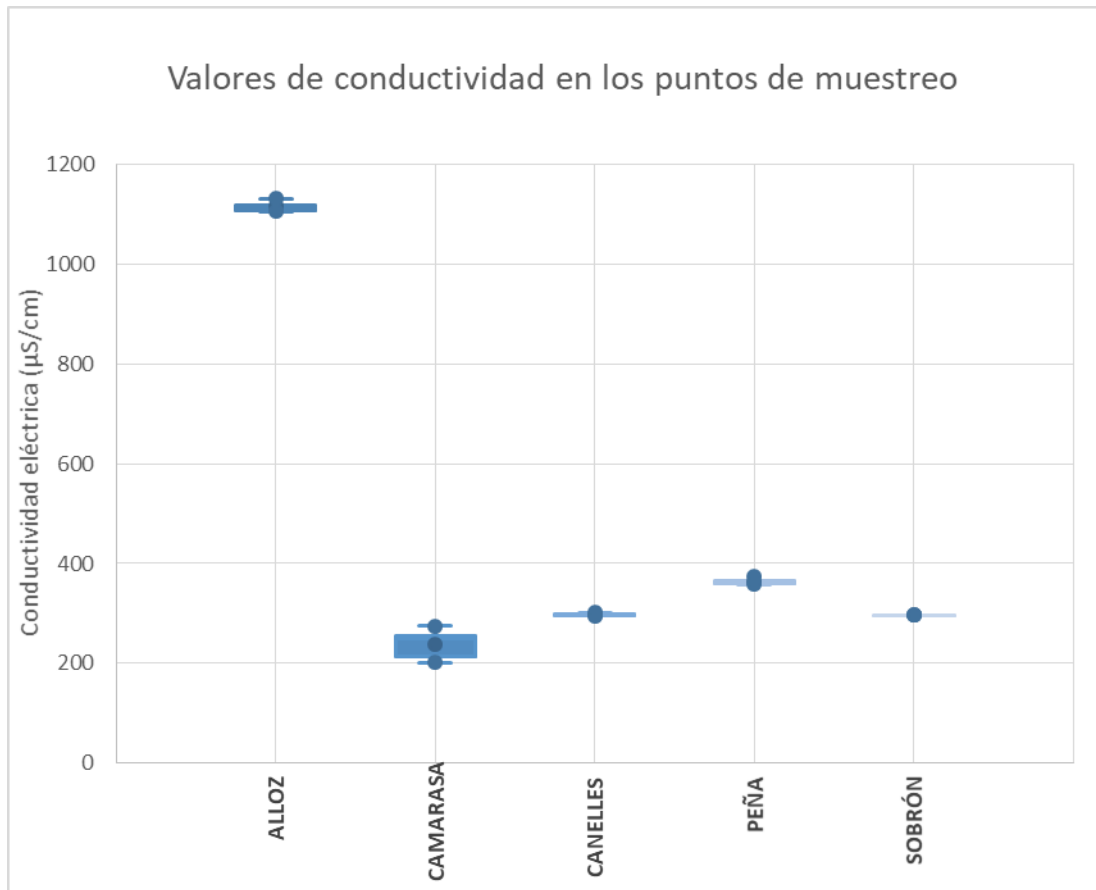


**Figura 12.** Temperatura y pH del agua en los puntos de muestreo y rangos de habitabilidad planteados para el mejillón cebra.

Todos los valores de **conductividad eléctrica** en los embalses estudiados, menos en el de Alloz (debido a la influencia salina del arroyo Salado), se encontraban entre 200 y 400  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (**Figura 13**).

Esto refleja un grado de mineralización del que se puede inferir que el contenido en **calcio disponible** en el agua se encuentre de forma constante dentro del rango de 4-24 mg/L, que

precisan los adultos de la especie. Pero este análisis se debería realizar más detalladamente a partir de datos de calcio en agua en diferentes momentos del año y estratos de profundidad para determinar posibles limitaciones para el desarrollo de los adultos de esta especie.



**Figura 13.** Conductividad eléctrica del agua en los puntos de muestreo



## 5. REFERENCIAS

- ACKERMAN JD, BLAIR S, NICHOLS SJ & CLAUDI R (1994) A review of the early life history of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*): comparisons with marine bivalves. *Canadian Journal of Zoology*, 72: 1169-1177.
- ALDRIDGE DC, ELLIOTT P, & MOGGRIDGE GD. (2004). The recent and rapid spread of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Great Britain. *Biological Conservation* 119:253-261.
- BOWMAN MF & BAILEY R. (1998). Upper pH tolerance limit of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Canadian Journal of Zoology* 76:2119-2123.
- CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO (2006). *Muestreo y determinación de larvas de mejillón cebrá*. 7 pág.
- CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO (2007). Manual de Instalaciones afectadas.  
<http://www.chebro.es/contenido.visualizar.do?idContenido=21671&idMenu=3898>
- CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO (2009). El impacto del mejillón cebrá en la Cuenca del Ebro.  
<http://www.chebro.es/contenido.visualizar.do?idContenido=21671&idMenu=3898>
- CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO (2010). Fichas de control de adultos de *Dreissena polymorpha* en la Cuenca del Ebro. CICAP S.L.  
<http://www.chebro.es/contenido.visualizar.do?idContenido=21731>
- CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO (2011) *Control and mitigation of the Zebra mussel within the EU regulations*. KEMA Report. The Netherlands.  
<http://www.chebro.es/contenido.visualizar.do?idContenido=28341&idMenu=4080>
- CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO (2011b) Protocolo de desinfección para pequeños equipos de trabajo en medios acuáticos.  
<http://www.chebro.es/contenido.streamFichero.do?idBinario=14831>
- CONFEDERACIÓN HIDROGRÁFICA DEL EBRO (2018). Control larvario de especies exóticas invasoras en las masas de agua superficiales (embalses) de la Cuenca del



Ebro. U.T.E. Cibera Estudios Aplicados S.L. INDROPS S.L.  
<http://www.chebro.es/contenido.visualizar.do?idContenido=21731>

COUNIHAN, T.D., & BOLLENS, S.M. (2017). Early detection monitoring for larval dreissenid mussels: how much plankton sampling is enough? *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(3), 98.

GINGERA, T. D., BAJNO, R., DOCKER, M. F., & REIST, J. D. (2017). Environmental DNA as a detection tool for zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) at the forefront of an invasion event in Lake Winnipeg, Manitoba, Canada. *Management of Biological Invasions*, 8(3), 287-300.

MORALES JJ, FLECHOSO F, LIZANA M, NEGRO A (2013) Patrones de colonización y ecología de poblaciones de dos bivalvos invasores (*Dreissena polymorpha* Pallas, 1771 y *Corbicula fluminea* Müller, 1774) en un tramo lótico del Ebro medio (Castejón, Navarra). *Munibe* 61: 47-69

ROLLA, M., CONSUEGRA, S., HALL, D. J., & DE LEANIZ, C. G. (2019). Seasonal and spatial variation in growth and abundance of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in a recently invaded lake: implications for management. bioRxiv, 656371.

UTERMÖHL H. (1958) Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik. Mitteilungen. Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte. *Limnologie*, 9: 1-38.



## ANEXOS

---



MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA

CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO



## ANEXO I. BOLETINES DE MUESTREO

---



MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA

CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO



<b>DETERMINACIÓN LARVARIA DE DREISSENA POLYMORPHA MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO</b>						
<b>MASA DE AGUA</b>						
Masa de agua	Código masa	Cota MNNE	Cota actual	Demarcación Hidrográfica	Subcuenca Hidrográfica	
EMBALSE DE ALLOZ	E027	469,7	460,6	EBRO		
RESPONSABLE DE CAMPO:	Javier Morales					
OPERARIOS:	Laura Miralles					
ENTIDAD:						
CONTACTO EN LA ZONA:						
<b>EQUIPAMIENTO</b>						
Embarcación	Sonda	Red zooplancton	Otros			
ESGUINA	Hydrolab-DS5	Alloz				
<b>DATOS DEL MUESTREO</b>						
Fecha	Hora inicio	Viento	Nubosidad	Precipitación	Tª aire (°C)	Otros
02/09/2015	16:15	1-10	0	0	21	
<b>OTRAS OBSERVACIONES</b>						
EEL_Invertebrados	EEL_Peces		Impactos y presiones			
	Black-bass y carpa común. Estudio censal de 2010 (CHE)		Cultivos y gran afluencia de gente en las orillas, navegación a vela y motor			
<b>DESINFECCIÓN EQUIPOS</b>						
Fecha	Estación				Nº Ticket	
02/09/2015	Estación CHE del club náutico del embalse				12468 (377)	
<b>INCIDENCIAS</b>						
Fuerte viento, dificultad para navegar y fondear						
<b>FIRMADO</b>						
Nombre:	Javier Morales					
Firma:						



**MAPA LOCALIZACIÓN ESTACIONES Y PUNTO DE ACCESO**



Acceso desde la RAMPA de embarque en la escuela de vela, en camping de Lerate. Allí también hay estación de desinfección de CHE que gestiona el camping.



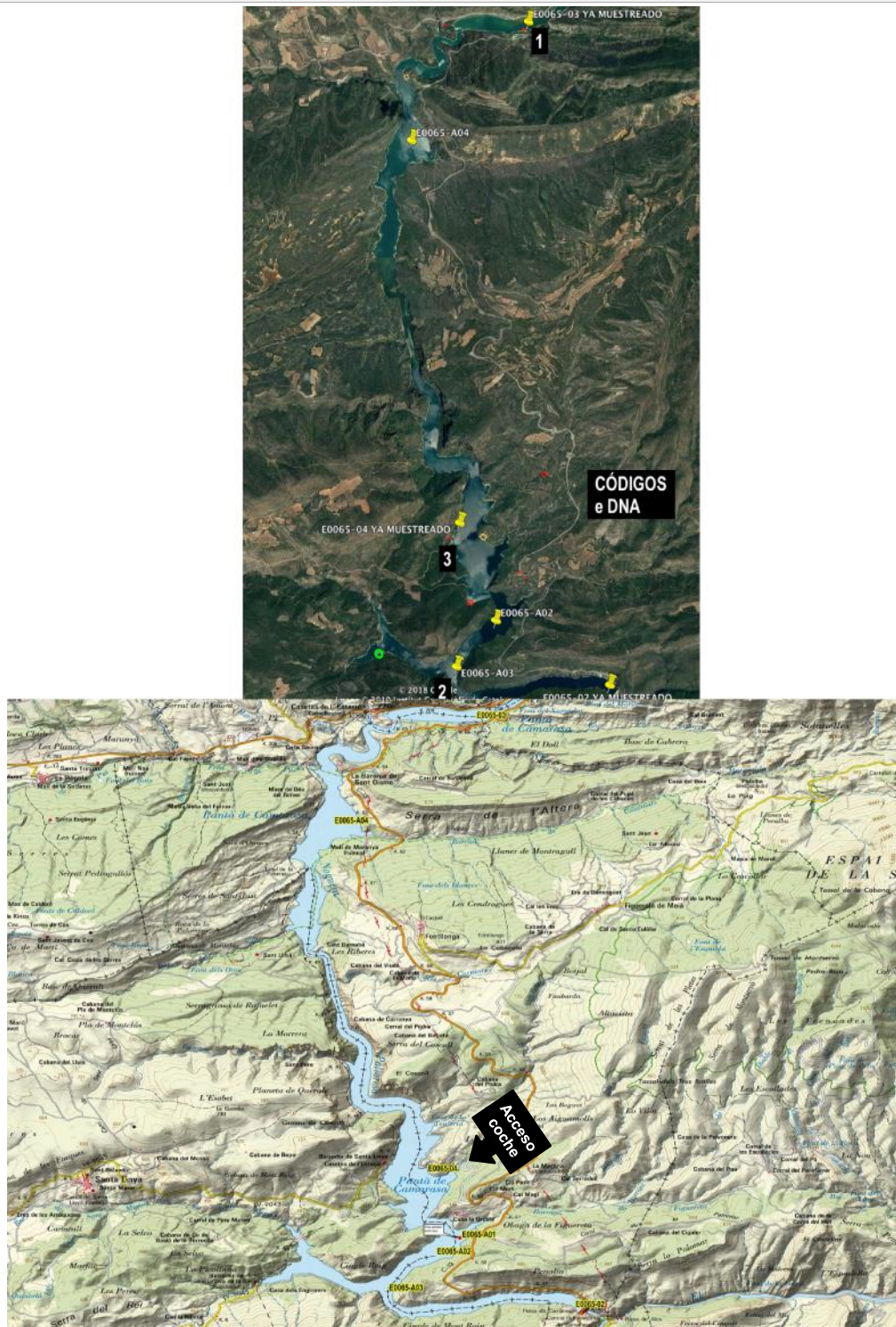


ESTACIONES DE MUESTREO							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0027-02	S	587.101	4.730.525	1,5	0,0	0	16:25
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
23,62	1115	8,68	96,4	8,19			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0027-04	S	585.691	4.729.301	1,5	0,0	0	19:30
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
23,43	1131	8,7	101,5	8,66			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0027-05	S	587.515	4.730.769	1,5	0,0	0	17:15
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
23,9	1106	8,7	97,4	8,23			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0027-A05	P	586.810	4.730.507	16,1	2,2	5,5	20:15
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
270	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): E027_A05.CSV							
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E027-03	P	586.359	4.728.878	19,8	2,7	6,75	16:15
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
180	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): E027_03.CSV							
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0027-A03	P	586.265	4.730.280	19,6	2,6	6,5	18:35
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): E027_A06.CSV							
Presencia de adultos y otras observaciones:							



DETERMINACIÓN LARVARIA DE DREISSENA POLYMORPHA MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO						
<b>MASA DE AGUA</b>						
Masa de agua	Código masa	Cota MNNE	Cota actual	Demarcación Hidrográfica	Subcuenca Hidrográfica	
EMBALSE DE CAMARASA	E0065	336,2	319,4	EBRO	NOGUERA PALLARESA	
RESPONSABLE DE CAMPO:	Javier Morales / Alberto Criado					
OPERARIOS:	Laura Miralles, José Talavera					
ENTIDAD:						
CONTACTO EN LA ZONA:						
<b>EQUIPAMIENTO</b>						
Embarcación	Sonda	Red zooplancton	Otros			
ESGUINA	Hydrolab-DS5	Camara	6/9/19 sólo muestreo de orillas			
<b>DATOS DEL MUESTREO</b>						
Fecha	Hora inicio	Viento	Nubosidad	Precipitación	Tª aire (°C)	Otros
05/09/2015	10:00	0-5	0	0	22	
<b>OTRAS OBSERVACIONES</b>						
EEl_Invertebrados	EEI_Peces		Impactos y presiones			
	Alburno, Black-bass, Rutilo, Carpa común		Pesca en barca de peces autóctonos, vertido de inertes desde arroyos tributarios, captaciones de agua urbana			
<b>DESINFECCIÓN EQUIPOS</b>						
Fecha	Estación					Nº Ticket
05/09/2015	En orillas de embarque. Medios propios.					-
<b>INCIDENCIAS</b>						
Accesos muy dificultosos, banda árida muy amplia y nivel muy bajo del embalse						
<b>FIRMADO</b>						
Nombre:	Javier Morales					
Firma:						

MAPA LOCALIZACIÓN ESTACIONES Y PUNTO DE ACCESO



Acceso por pista forestal desde La Masana hasta rampa de Club Náutico abandonado



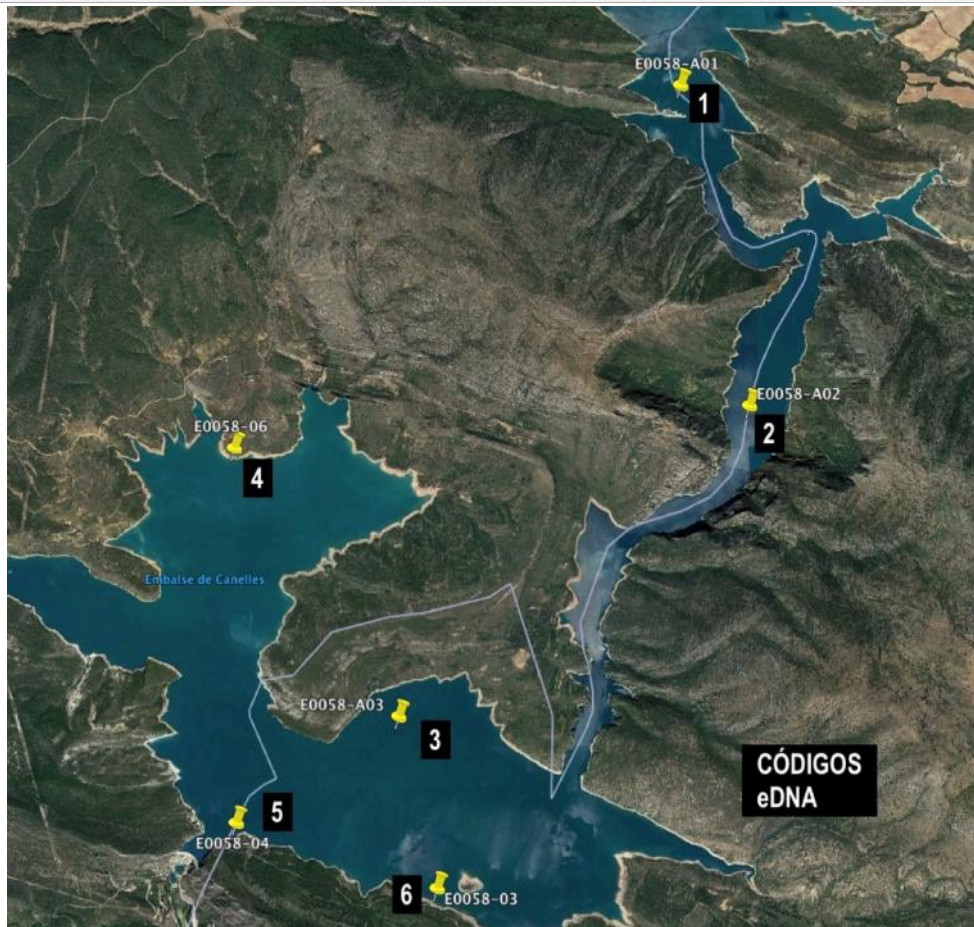
ESTACIONES DE MUESTREO							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0065-02	S	822.254	4.646.850	0	0,0	0	12:45
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1	3				
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
22,95	202	9,08	104,3	9,01			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0065-03	S	820.352	4.657.597	0	0,0	0	10:15
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1	3				
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
19,9	246	8,76	94,5	8,3			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0065-04	S	819.526	4.649.374	0	0,0	0	16:05
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1	3				
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
23,96	203	9,1	91,7	8,02			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0065-A02	P	820.225	4.647.816	24	4,0	10	10:15
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1	3				
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): <i>camarasa02.CSV</i>							
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0065-A03	P	819.575	4.647.030	24	4,0	10	16:05
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1	3				
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): <i>camarasa03.CSV</i>							
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E0065-A04	P	818.401	4.655.570	4,5	0,7	1,75	11:05
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1	3				
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): <i>camarasa04.CSV</i>							
Presencia de adultos y otras observaciones:							



DETERMINACIÓN LARVARIA DE DREISSENA POLYMORPHA MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO						
<b>MASA DE AGUA</b>						
Masa de agua	Código masa	Cota MNNE	Cota actual	Demarcación Hidrográfica	Subcuenca Hidrográfica	
EMBALSE DE CANELLES	E0058	508,0	482,1	EBRO	NOGUERA RIBAGORZANA	
RESPONSABLE DE CAMPO:	Javier Morales					
OPERARIOS:	Laura Miralles					
ENTIDAD:						
CONTACTO EN LA ZONA:						
<b>EQUIPAMIENTO</b>						
Embarcación	Sonda	Red zooplancton	Otros			
ESGUINA	Hydrolab-DS5	Canelles				
<b>DATOS DEL MUESTREO</b>						
Fecha	Hora inicio	Viento	Nubosidad	Precipitación	Tª aire (°C)	Otros
04/09/2015	10:35	1	0	0	23	muy soleado
<b>OTRAS OBSERVACIONES</b>						
EEl_Invertebrados	EEl_Peces		Impactos y presiones			
Procambarus clarkii	Black-bass, rutilo, alburno y carpa común. Estudio censal de 2018 (CHE)		Pesca en barca de peces autóctonos, motoras de gran cilindrada			
<b>DESINFECCIÓN EQUIPOS</b>						
Fecha	Estación					Nº Ticket
04/09/2015	En orillas de embarque. Medios propios.					-
<b>INCIDENCIAS</b>						
Vientomoderado, orillas turbias en algunos puntos						
<b>FIRMADO</b>						
Nombre:	Javier Morales					
Firma:						



MAPA LOCALIZACIÓN ESTACIONES Y PUNTO DE ACCESO



Acceso por larga pista forestal desde Os de Balaguer hasta la zona de campamento de pesca de blackbass; hay un acceso fuera de las instalaciones cerradas con barrera y candado; se llega bien al borde del agua por gravas, y hay un pantalán flotante.





ESTACIONES DE MUESTREO							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0058-03	S	800.941	4.653.501	0	0,0	0	13:30
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
24,52	296	8,865	71,125	5,93			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0058-04	S	799.654	4.653.885	0	0,0	0	14:00
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
24,18	299	9,11	0	0			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0058-06	S	799.430	4.656.292	0	0,0	0	15:10
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
24,68	301	9,12	0	0			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0058-A01	P	802.390	4.658.776	25	5,6	14	10:15
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): canelles03.CSV							
Presencia de adultos y otras observaciones:							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0058-A02	P	802.951	4.656.718	18	5,2	13	11:15
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): canelles04.CSV							
Presencia de adultos y otras observaciones:							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E0058-A03	P	800.631	4.654.601	30	5,4	13,5	12:30
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): canelles05.CSV							
Presencia de adultos y otras observaciones:							



<b>DETERMINACIÓN LARVARIA DE DREISSENA POLYMORPHA MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO</b>						
<b>MASA DE AGUA</b>						
Masa de agua	Código masa	Cota MNNE	Cota actual	Demarcación Hidrográfica	Subcuenca Hidrográfica	
EMBALSE DE LA PEÑA	E004	539,0	537,1	EBRO	GÁLLEGO	
RESPONSABLE DE CAMPO:	Agustín Monteoliva					
OPERARIOS:	Laura Miralles y Alberto Criado					
ENTIDAD:						
CONTACTO EN LA ZONA:	Sindicato de Riego (pantanodelapena@sindicatoderiego.com)					
<b>EQUIPAMIENTO</b>						
Embarcación	Sonda	Red zooplancton	Otros			
ESGUINA	Hydrolab-DS5	Peña				
<b>DATOS DEL MUESTREO</b>						
Fecha	Hora inicio	Viento	Nubosidad	Precipitación	Tª aire (°C)	Otros
11/09/2015	11:20	0-1	0-10	0	19,6	
<b>OTRAS OBSERVACIONES</b>						
EEl_Invertebrados	EEl_Peces		Impactos y presiones			
	Alburno, rutilo, lucio, carpa común. Estudio censal de 2014 (CHE)		Algún pescador aislado de orilla con caña			
<b>DESINFECCIÓN EQUIPOS</b>						
Fecha	Estación					Nº Ticket
13/09/2019	In situ con medios propios y viaje directo a dependencias Ecohydros					-
<b>INCIDENCIAS</b>						
Reportaje en barca y entrevista en orilla de TV Aragón a A. Monteoliva. Reporteros enviados por departamento de prensa de la CHE						
<b>FIRMADO</b>						
Nombre:	Agustín Monteoliva					
Firma:						

MAPA LOCALIZACIÓN ESTACIONES Y PUNTO DE ACCESO



Acceso desde carretera a pista en Restaurante "El Jabalí". Maniobra con remolque complicada a través de setos hasta el agua. Más adelante, casi en el K47 existe una rampa de acceso en urbanización privada que es mejor opción pero no se nos informó de ello.



ESTACIONES DE MUESTREO							
Código	Tipo	UTM-X	UTM-Y	Profundidad (m)	SDT (m)	Zona fótica (m)	Hora CEST
E044-01	S	686.383	4.694.899	1,5	1,0	2,5	17:00
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
20,3	363	8,61	89,7	8,13			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E044-02	S	685.194	4.696.033	5,5	0,6	1,5	16:30
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
19,78	373	8,47	80,6	7,35			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E044-04	S	687.070	4.694.677	1,5	0,5	1,25	12:30
Filtrado red (L)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
200	1	1		3			
Tª agua (°C)	Conductividad (µS/cm)	pH	Oxígeno disuelto (%)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Otros		
19,21	361	8,83	85,1	7,9			
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E044-A01	P	686.384	4.694.908	8,3	0,7	1,75	17:00
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): <i>la pena a01.CSV</i>							
Presencia de adultos y otras observaciones:							
E044-A02	P	687.706	4.694.812	4,3	0,6	1,5	11:00
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): <i>la pena A02.CSV</i>							
Presencia de adultos y otras observaciones: Sensor de OD sin membrana, hubo que ponerlo en campo							
E044-A03	P	687.225	4.694.878	9,5	0,8	1,875	12:00
Arrastre red (m)	Muestra microscopio	Muestra eDNA red		Muestra eDNA agua (nº muestras 1 L)		Otras	
	1	1		3			
Perfil vertical multisonda (nombre archivo): <i>la pena a03.CSV</i>							
Presencia de adultos y otras observaciones:							

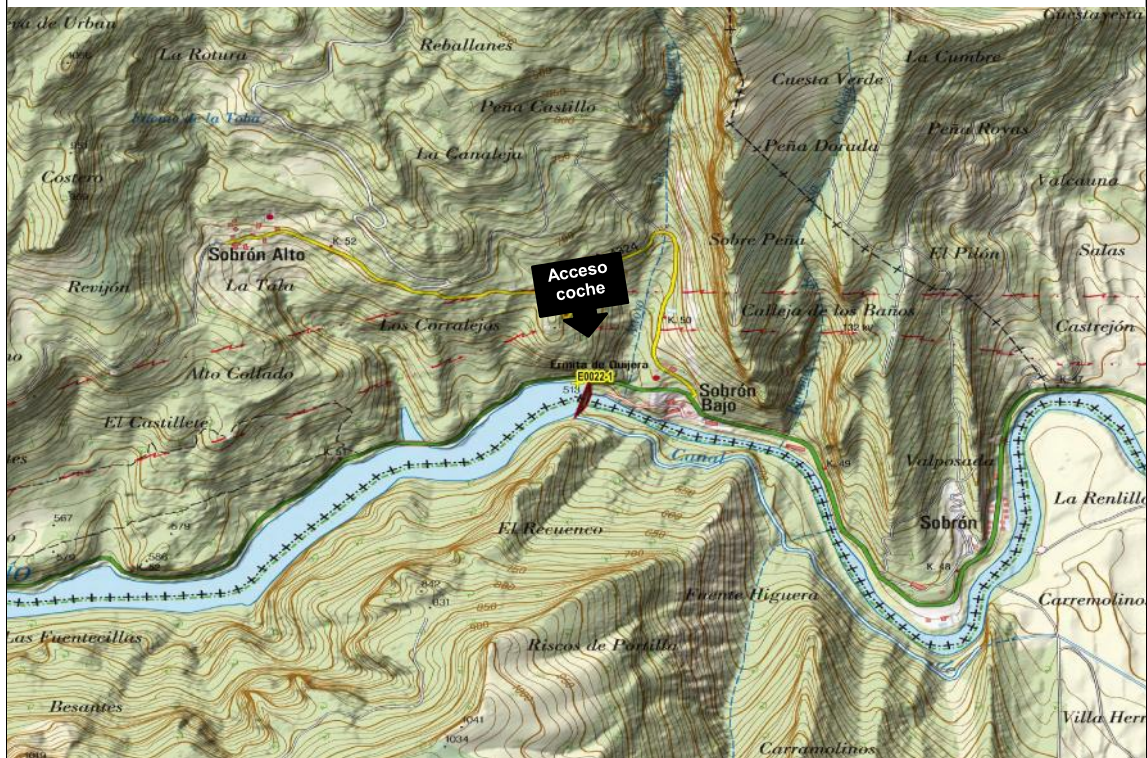


DETERMINACIÓN LARVARIA DE DREISSENA POLYMORPHA MEDIANTE TÉCNICAS GENÉTICAS EN EMBALSES PRIORITARIOS DE LA CUENCA DEL EBRO						
<b>MASA DE AGUA</b>						
Masa de agua	Código masa	Cota MNNE	Cota actual	Demarcación Hidrográfica	Subcuenca Hidrográfica	
EMBALSE DE SOBRÓN	E0022	511,0	510,6	EBRO	EBRO	
RESPONSABLE DE CAMPO:	Javier Morales					
OPERARIOS:						
ENTIDAD:						
CONTACTO EN LA ZONA:						
<b>EQUIPAMIENTO</b>						
Embarcación	Sonda	Red zooplancton	Otros			
-	-	Sobrón				
<b>DATOS DEL MUESTREO</b>						
Fecha	Hora inicio	Viento	Nubosidad	Precipitación	Tª aire (°C)	Otros
10/09/2015	18:00	0	0	0	19	
<b>OTRAS OBSERVACIONES</b>						
EEI_Invertebrados		EEI_Peces		Impactos y presiones		
		Black-bass, carpa común, percasol, siluro.				
<b>DESINFECCIÓN EQUIPOS</b>						
Fecha	Estación					Nº Ticket
10/09/2015	No se introdujo embarcación ni se acercó vehículo al agua. Se viajó directamente a las dependencias de Ecohydros donde se limpió y desinfectó el resto del material. Red de zooplancton etiquetada y exclusiva para este embalse.					-
<b>INCIDENCIAS</b>						
<b>FIRMADO</b>						
Nombre:	Javier Morales					
Firma:						





**MAPA LOCALIZACIÓN ESTACIONES Y PUNTO DE ACCESO**



Acceso desde carretera, en arcén justo pasada la presa. Muy visible y accesible, cartel de lucha contra el MC en el Ebro.





## ANEXO II. PERFILES FÍSICO-QUÍMICOS VERTICALES

---



MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA

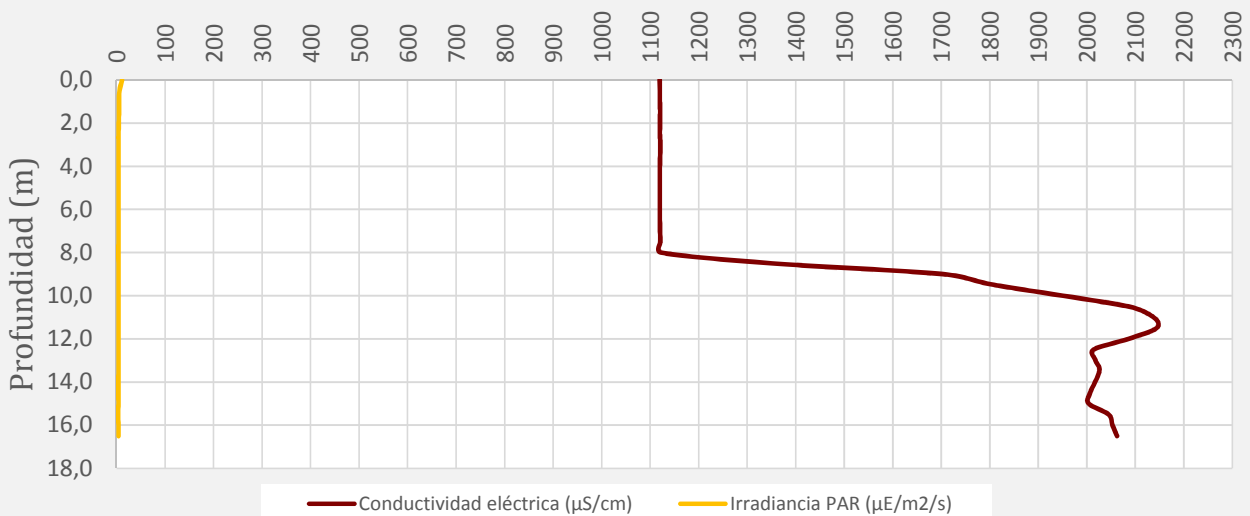
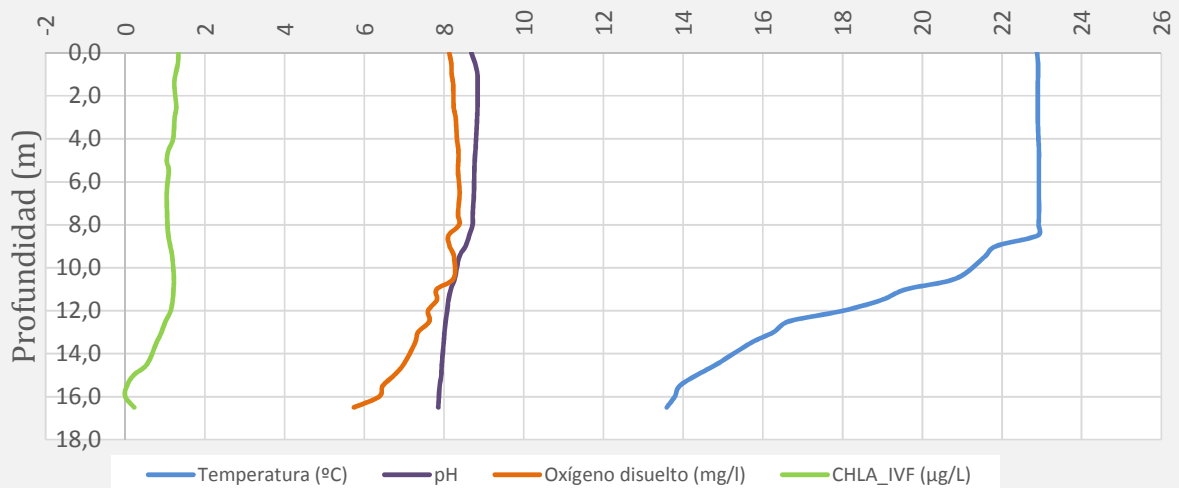
CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO

### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

EMBALSE:	ALLOZ	CAMPAÑA:	MEJILLÓN CEBRA
COT. MAX (msnm):	469,69	NIVEL (msnm):	460,60
Estación:	E0027-A05	Profundidad máxima (m):	16,1
Fecha:	02/09/2015	UTM-X (m):	586.810
Hora:	20:15	UTM-Y (m):	4.730.507
Transparencia Secchi (m):	2,2	Espesor zona fótica (m):	5,5

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

Temperatura (°C):	20,0	Termoclina (m):	12,5
Temperatura zona fótica (°C):	22,9	Temp. mínima (°C):	13,6
pH:	8,42	Conductividad (µS/cm):	1575
Oxígeno disuelto (mg/L):	7,8	Saturación oxígeno (%):	86,2
Hipoxia (m):	-	Anoxia (m):	-
Fluorescencia clorofila a (µg/L):	4,4		

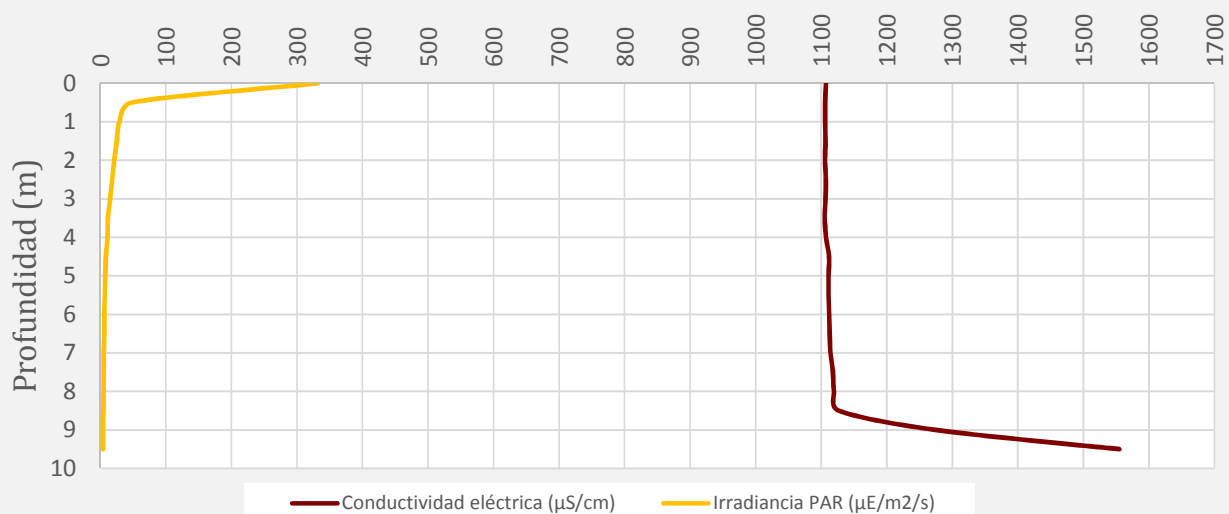
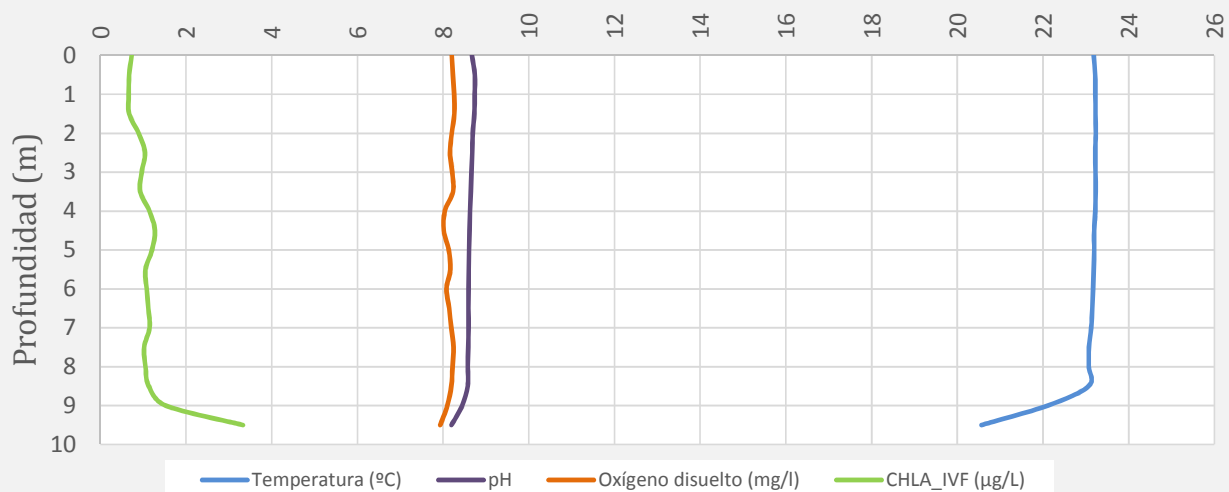


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

EMBALSE:	ALLOZ	CAMPAÑA:	MEJILLÓN CEBRA
COT. MAX (msnm):	469,69	NIVEL (msnm):	460,60
Estación:	E0027-A03	Profundidad máxima (m):	16,1
Fecha:	02/09/2015	UTM-X (m):	586.265
Hora:	18:35	UTM-Y (m):	4.730.280
Transparencia Secchi (m):	2,6	Espesor zona fótica (m):	6,5

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

Temperatura (°C):	23,0	Termoclina (m):	9
Temperatura zona fótica (°C):	23,2	Temp. mínima (°C):	20,6
pH:	8,61	Conductividad (µS/cm):	1141
Oxígeno disuelto (mg/L):	8,2	Saturación oxígeno (%):	94,9
Hipoxia (m):	-	Anoxia (m):	-
Fluorescencia clorofila a (µg/L):	4,4		

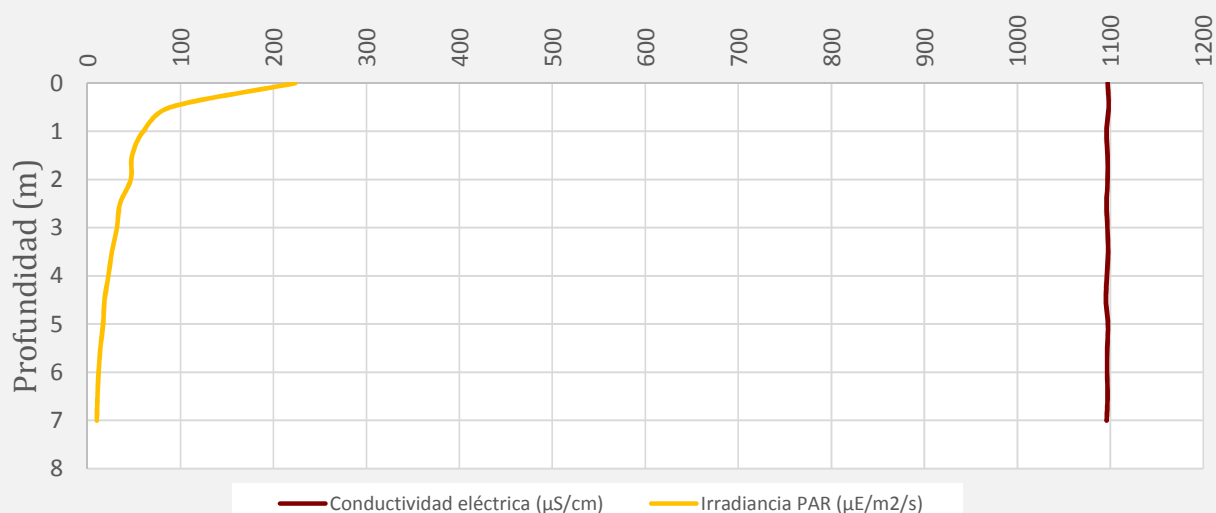
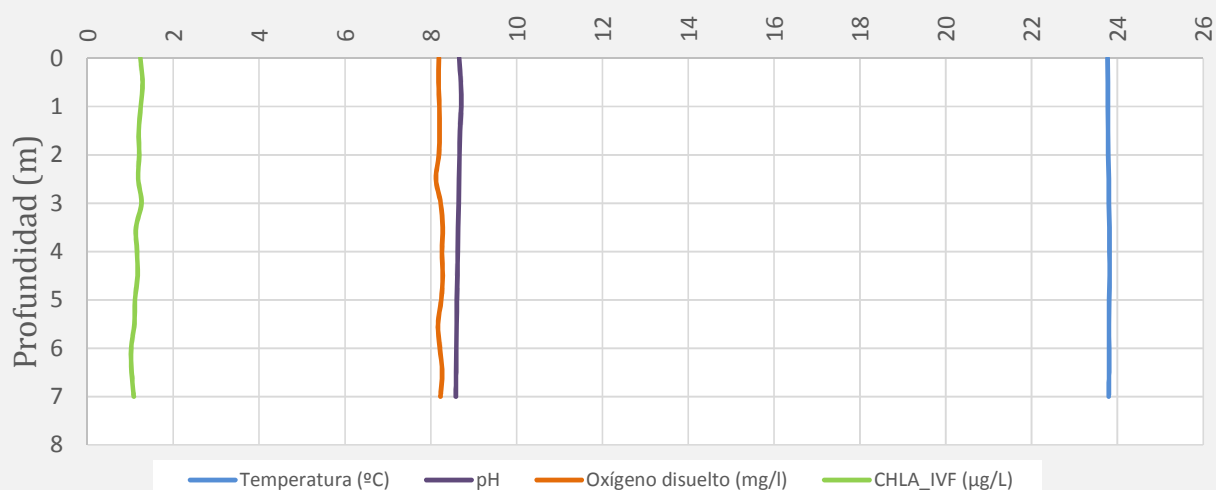


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

EMBALSE:	ALLOZ	CAMPAÑA:	MEJILLÓN CEBRA
COT. MAX (msnm):	469,69	NIVEL (msnm):	460,60
Estación:	E0027-03	Profundidad máxima (m):	19,8
Fecha:	02/09/2015	UTM-X (m):	586.265
Hora:	18:35	UTM-Y (m):	4.730.280
Transparencia Secchi (m):	2,6	Espesor zona fótica (m):	6,5

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

Temperatura (°C):	23,8	Termoclina (m):	-
Temperatura zona fótica (°C):	23,8	Temp. mínima (°C):	23,8
pH:	8,64	Conductividad (μS/cm):	1097
Oxígeno disuelto (mg/L):	8,2	Saturación oxígeno (%):	97,0
Hipoxia (m):	-	Anoxia (m):	-
Fluorescencia clorofila a (μg/L):	4,4		

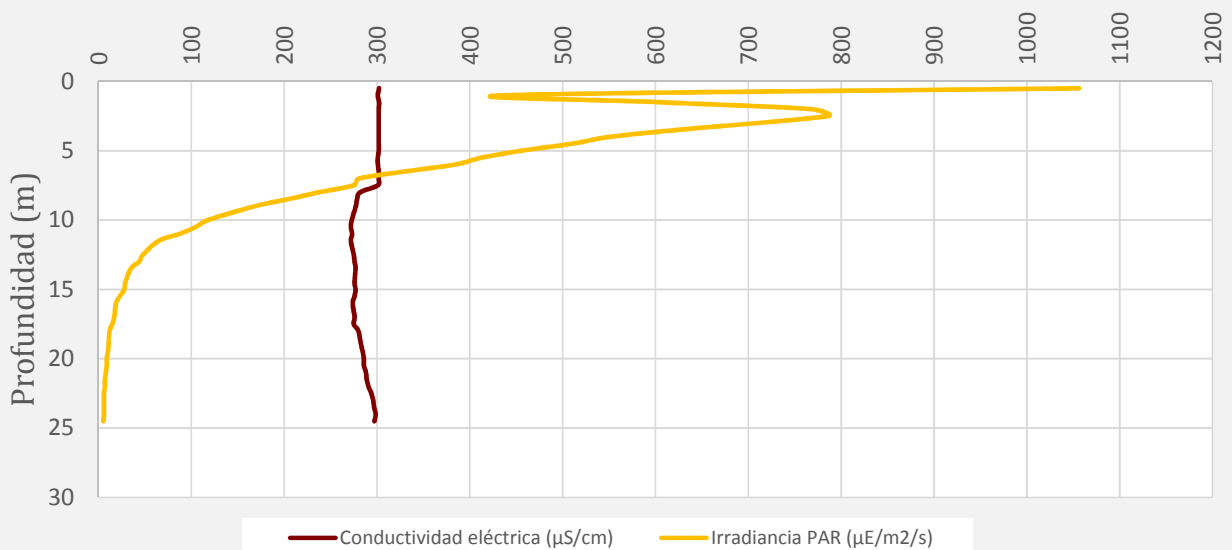
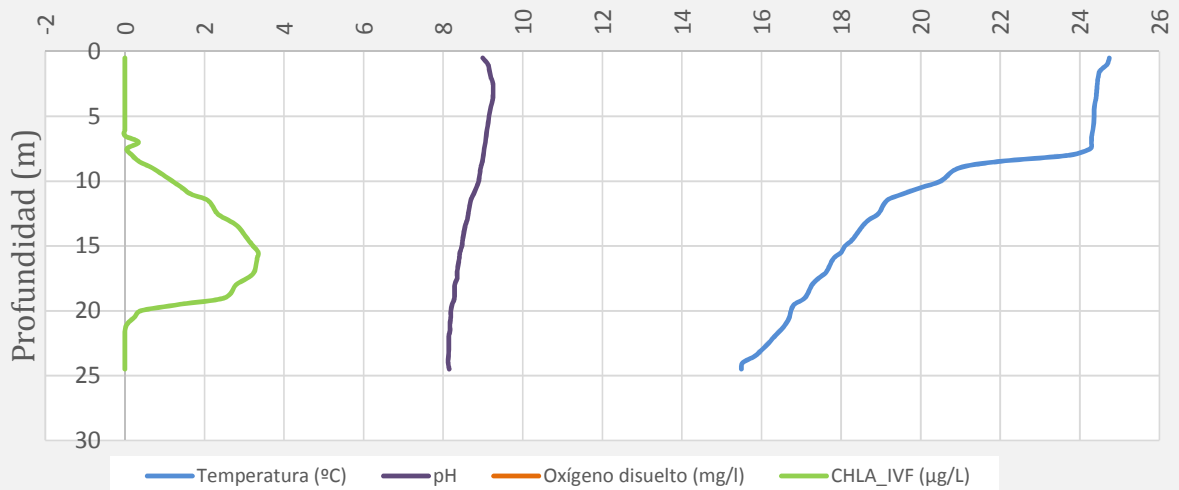


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	CANELLES	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	508,00	<b>NIVEL (msnm):</b>	482,14
<b>Estación:</b>	E0058-A03	<b>Profundidad máxima (m):</b>	30
<b>Fecha:</b>	04/09/2015	<b>UTM-X (m):</b>	800.631
<b>Hora:</b>	12:30	<b>UTM-Y (m):</b>	4.654.601
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	5,4	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	13,5

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	20,1	<b>Termoclina (m):</b>	8,5
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	22,8	<b>Temp. mínima (°C):</b>	15,5
<b>pH:</b>	8,67	<b>Conductividad (µS/cm):</b>	289
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>		<b>Saturación oxígeno (%):</b>	
<b>Hipoxia (m):</b>	-	<b>Anoxia (m):</b>	-
<b>Fluorescencia clorofila a (µg/L):</b>	4,4		



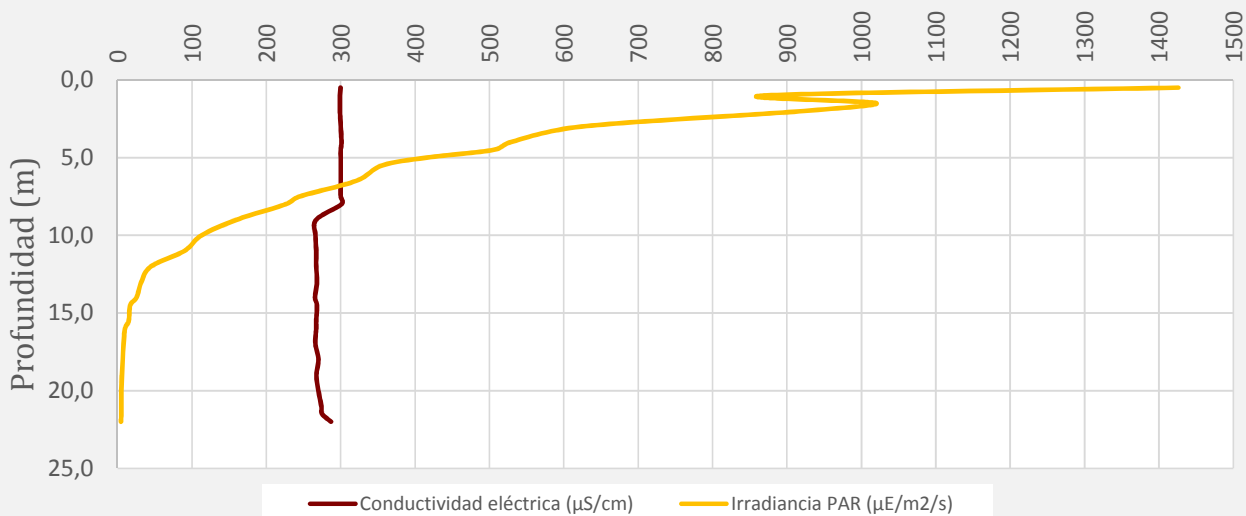
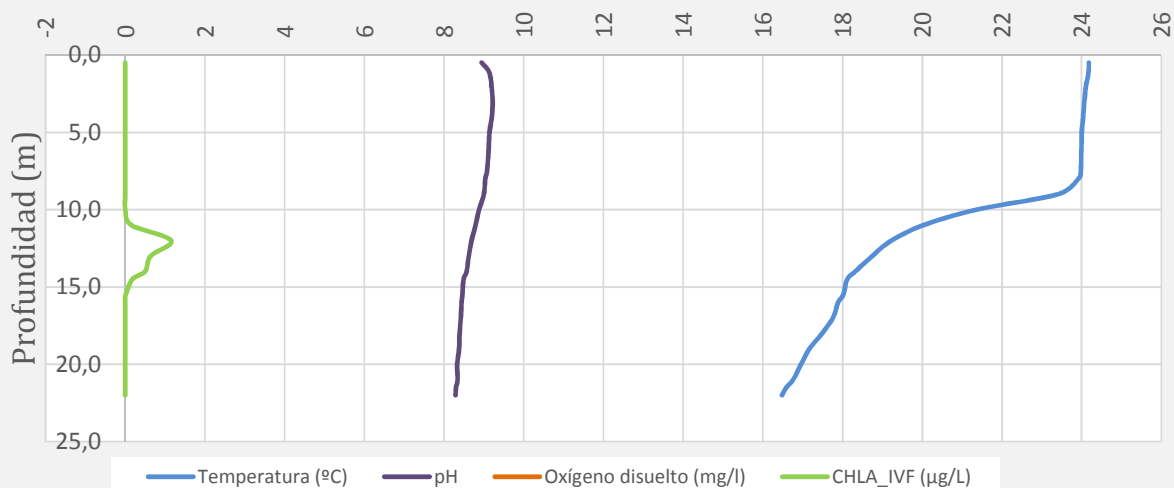


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

EMBALSE:	CANELLES	CAMPAÑA:	MEJILLÓN CEBRA
COT. MAX (msnm):	508,00	NIVEL (msnm):	482,14
Estación:	E0058-A02	Profundidad máxima (m):	18
Fecha:	04/09/2015	UTM-X (m):	802.951
Hora:	11:15	UTM-Y (m):	4.656.718
Transparencia Secchi (m):	5,2	Espesor zona fótica (m):	13,0

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

Temperatura (°C):	20,8	Termoclina (m):	9
Temperatura zona fótica (°C):	23,3	Temp. mínima (°C):	16,5
pH:	8,78	Conductividad (µS/cm):	283
Oxígeno disuelto (mg/L):		Saturación oxígeno (%):	
Hipoxia (m):	-	Anoxia (m):	-
Fluorescencia clorofila a (µg/L):	4,4		

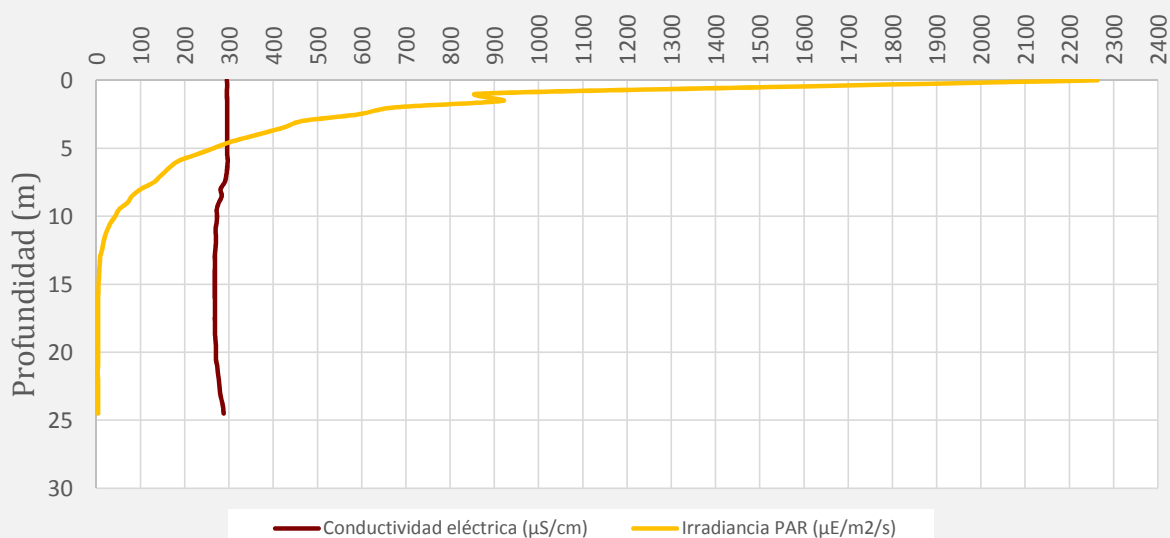
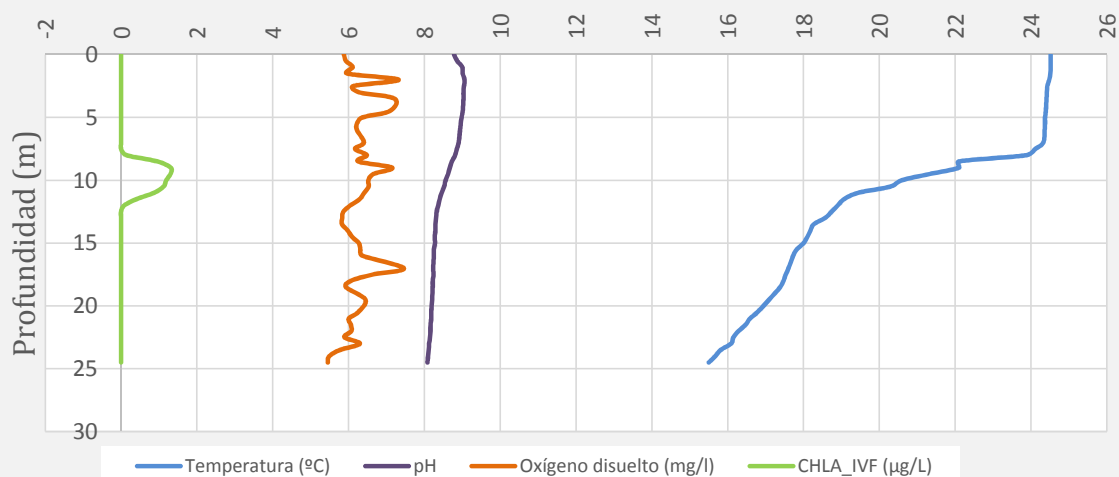


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	CANELLES	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	508,00	<b>NIVEL (msnm):</b>	482,14
<b>Estación:</b>	E0058-A01	<b>Profundidad máxima (m):</b>	19,8
<b>Fecha:</b>	04/09/2015	<b>UTM-X (m):</b>	802.390
<b>Hora:</b>	10:15	<b>UTM-Y (m):</b>	4.658.776
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	5,6	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	14,0

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	20,2	<b>Termoclina (m):</b>	8,5
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	22,5	<b>Temp. mínima (°C):</b>	15,5
<b>pH:</b>	8,52	<b>Conductividad (µS/cm):</b>	280
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>	6,3	<b>Saturación oxígeno (%):</b>	68,8
<b>Hipoxia (m):</b>	-	<b>Anoxia (m):</b>	-
<b>Fluorescencia clorofila a (µg/L):</b>	4,4		

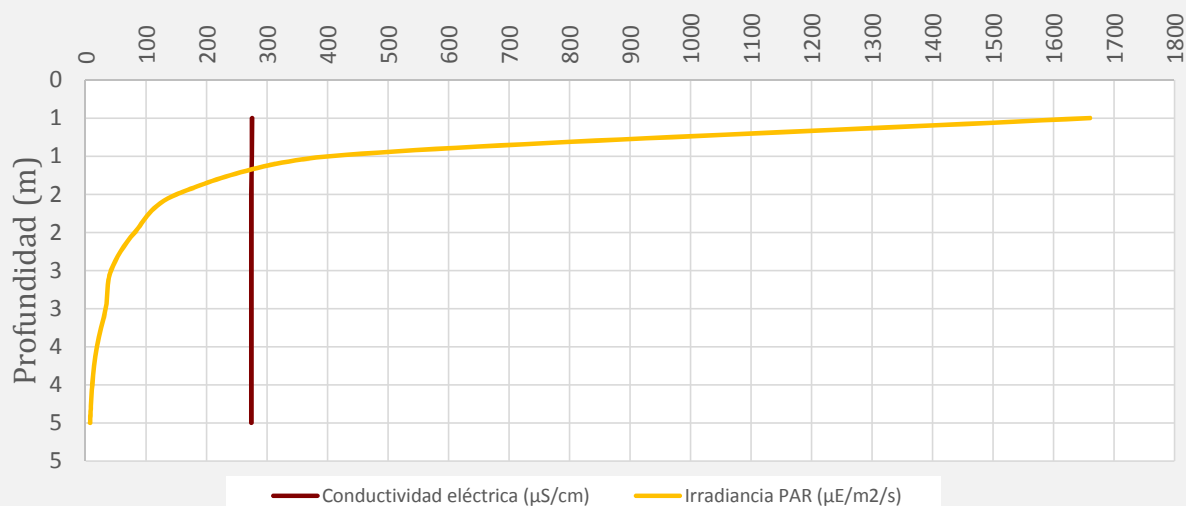
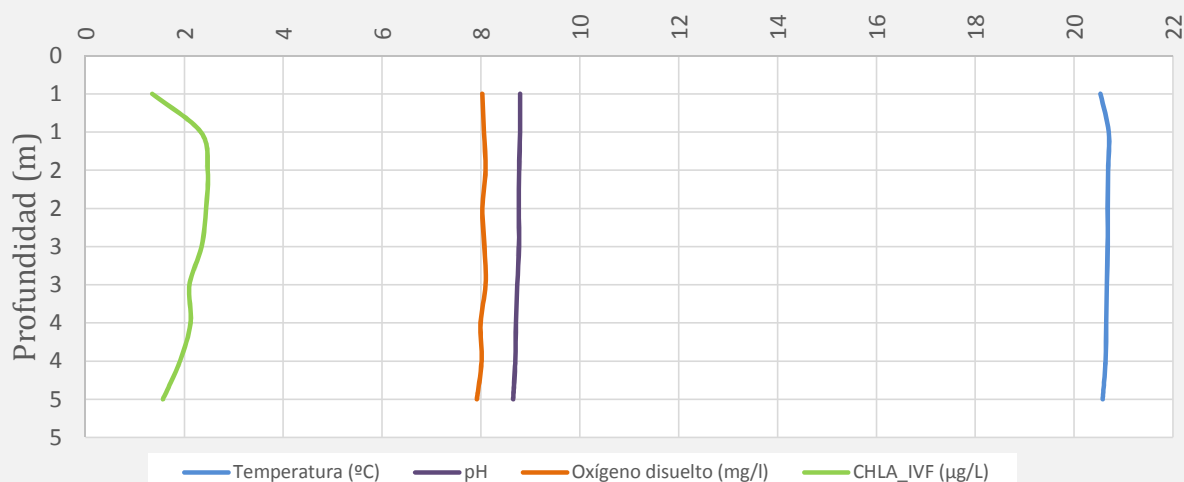


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	CAMARASA	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	336,17	<b>NIVEL (msnm):</b>	321,67
<b>Estación:</b>	E0065-A04	<b>Profundidad máxima (m):</b>	4,5
<b>Fecha:</b>	27/09/2019	<b>UTM-X (m):</b>	
<b>Hora:</b>	9:57	<b>UTM-Y (m):</b>	
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	0,7	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	1,8

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	20,6	<b>Termoclina (m):</b>	
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	20,6	<b>Temp. mínima (°C):</b>	20,5
<b>pH:</b>	8,74	<b>Conductividad (μS/cm):</b>	274
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>	8,0	<b>Saturación oxígeno (%):</b>	89,1
<b>Hipoxia (m):</b>		<b>Anoxia (m):</b>	
<b>Fluorescencia clorofila a (μg/L):</b>	4,4	<b>Turbidez (NTU):</b>	-

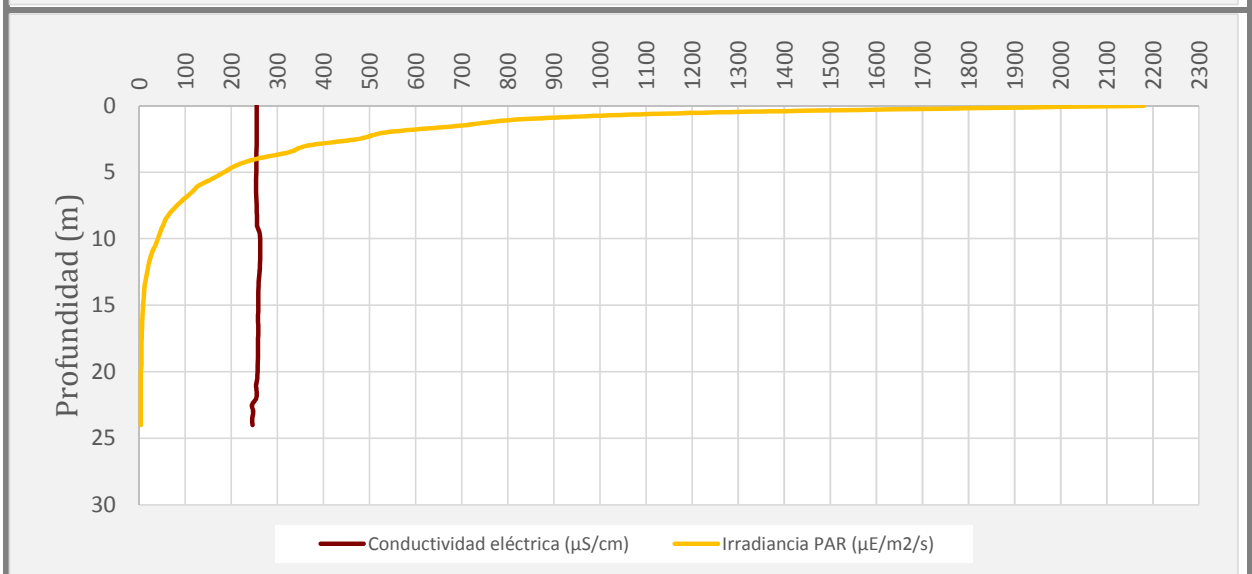
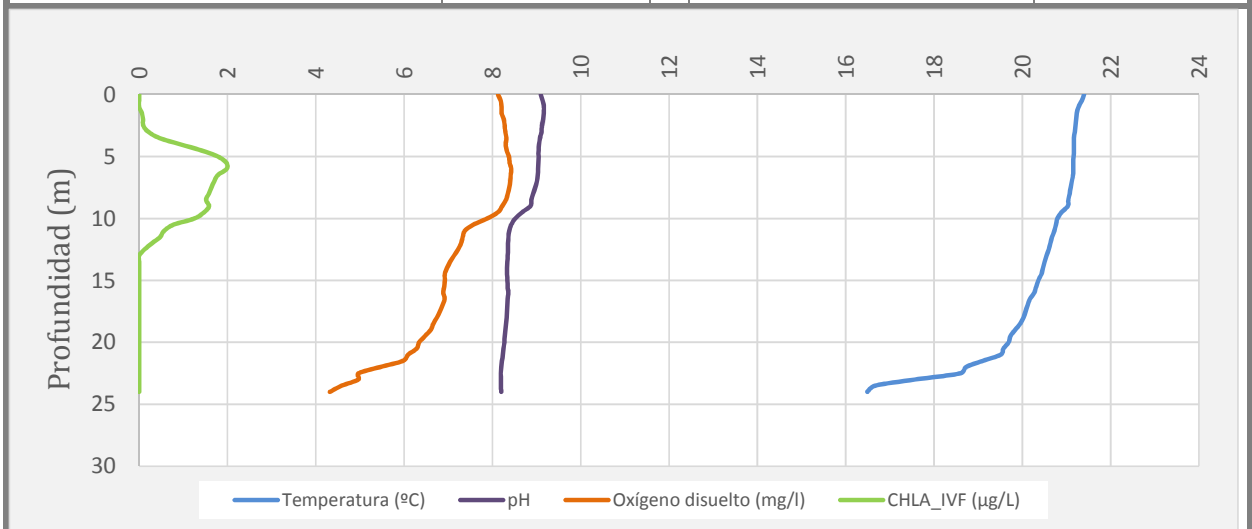


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	CAMARASA	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	336,17	<b>NIVEL (msnm):</b>	321,67
<b>Estación:</b>	E0065-A03	<b>Profundidad máxima (m):</b>	23,88
<b>Fecha:</b>	05/09/2015	<b>UTM-X (m):</b>	819575
<b>Hora:</b>	16:05	<b>UTM-Y (m):</b>	4647030
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	4,0	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	10,0

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	20,3	<b>Termoclina (m):</b>	23
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	21,2	<b>Temp. mínima (°C):</b>	16,5
<b>pH:</b>	8,60	<b>Conductividad (µS/cm):</b>	256
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>	7,3	<b>Saturación oxígeno (%):</b>	80,2
<b>Hipoxia (m):</b>		<b>Anoxia (m):</b>	
<b>Fluorescencia clorofila a (µg/L):</b>	4,4	<b>Turbidez (NTU):</b>	-

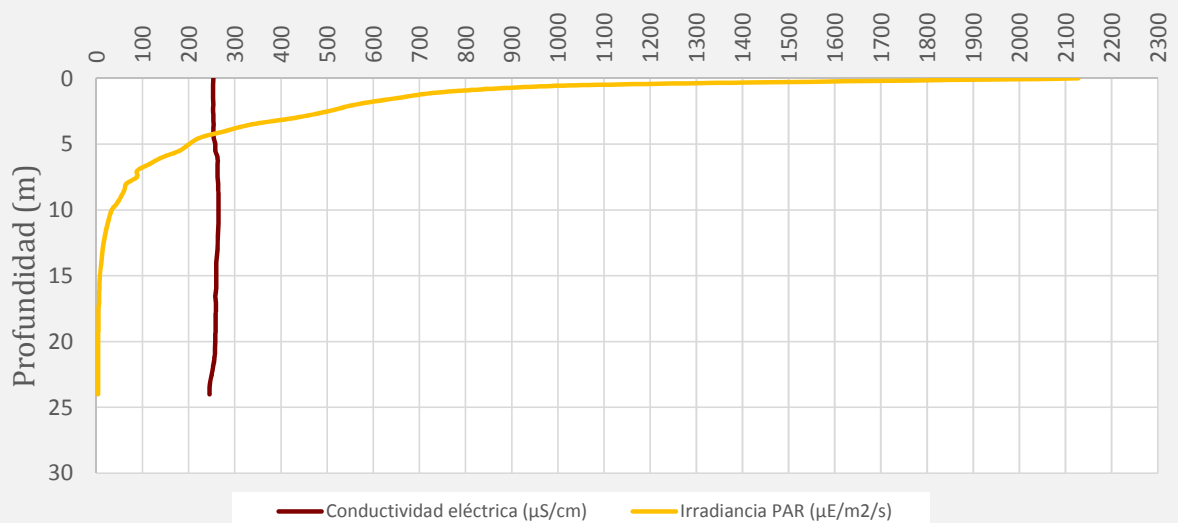
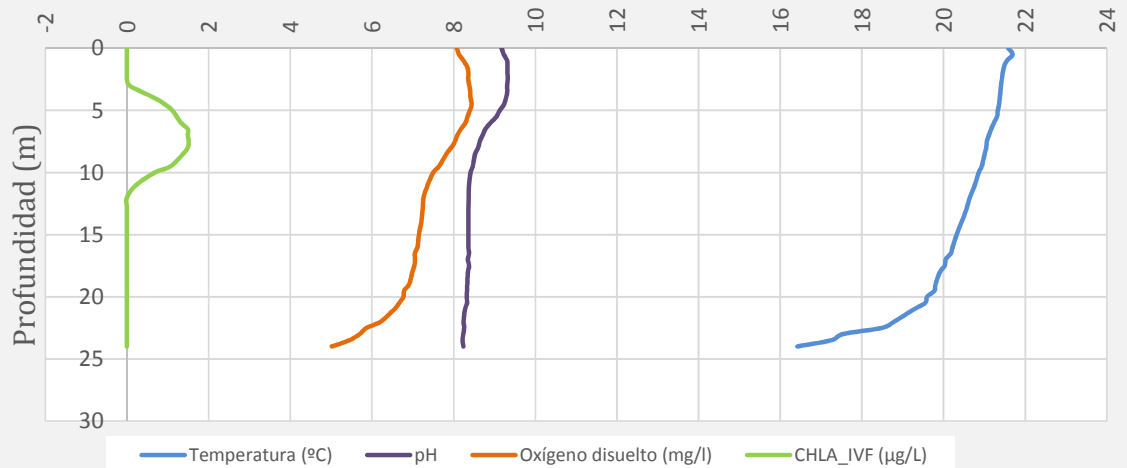


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	CAMARASA	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	336,17	<b>NIVEL (msnm):</b>	321,67
<b>Estación:</b>	E0065-A02	<b>Profundidad máxima (m):</b>	24,12
<b>Fecha:</b>	05/09/2015	<b>UTM-X (m):</b>	820225
<b>Hora:</b>	10:15	<b>UTM-Y (m):</b>	4647816
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	4,0	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	10,0

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	20,4	<b>Termoclina (m):</b>	24
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	21,3	<b>Temp. mínima (°C):</b>	16,4
<b>pH:</b>	8,66	<b>Conductividad (µS/cm):</b>	257
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>	7,4	<b>Saturación oxígeno (%):</b>	82,1
<b>Hipoxia (m):</b>		<b>Anoxia (m):</b>	
<b>Fluorescencia clorofila a (µg/L):</b>	4,4	<b>Turbidez (NTU):</b>	-

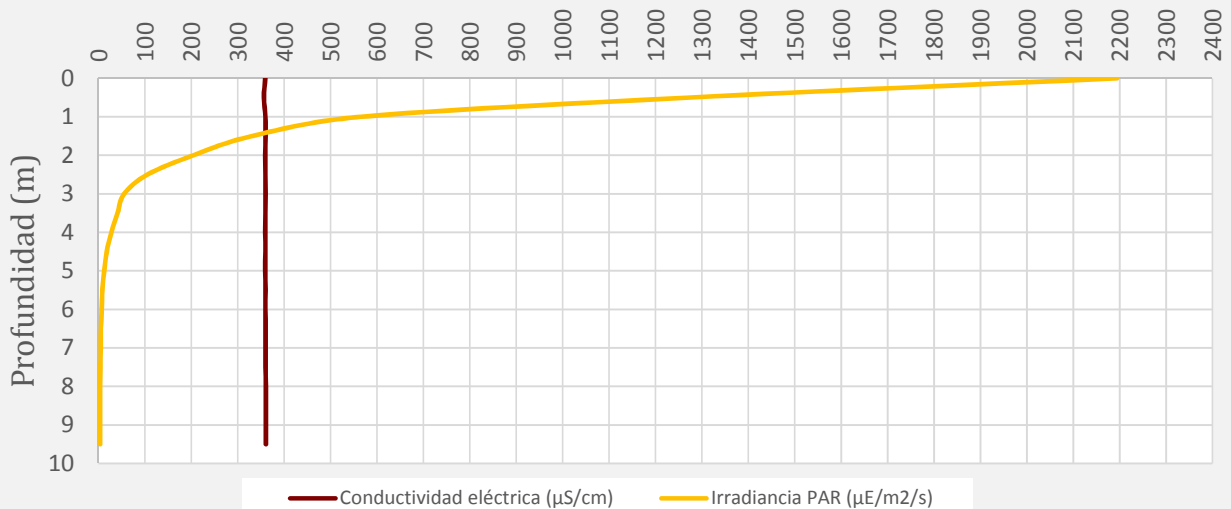
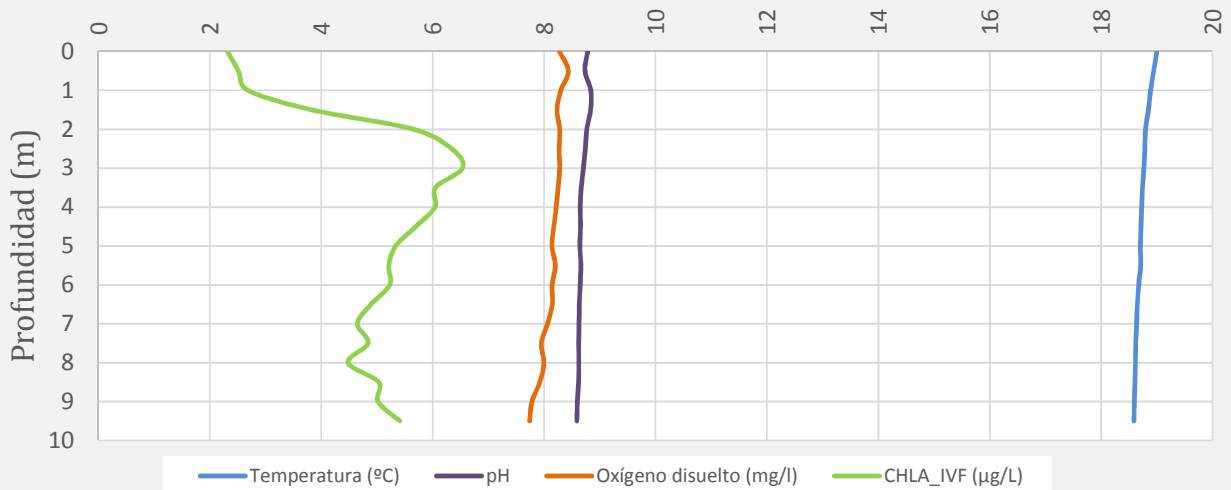


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	LA PEÑA	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	539,00	<b>NIVEL (msnm):</b>	537,08
<b>Estación:</b>	E044-A03	<b>Profundidad máxima (m):</b>	9,5
<b>Fecha:</b>	09/11/2019	<b>UTM-X (m):</b>	686384
<b>Hora:</b>	12:00	<b>UTM-Y (m):</b>	4694908
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	0,75	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	1,9

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	18,7	<b>Termoclina (m):</b>	-
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	18,9	<b>Temp. mínima (°C):</b>	18,6
<b>pH:</b>	8,68	<b>Conductividad (μS/cm):</b>	360
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>	8,1	<b>Saturación oxígeno (%):</b>	87,1
<b>Hipoxia (m):</b>	-	<b>Anoxia (m):</b>	-
<b>Fluorescencia clorofila a (μg/L):</b>	4,4		



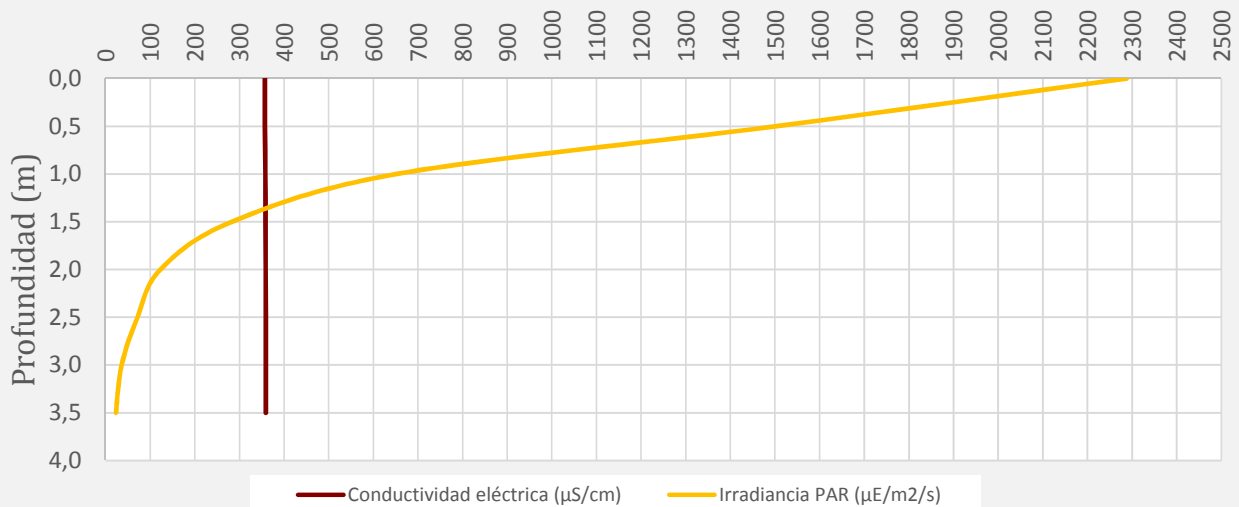
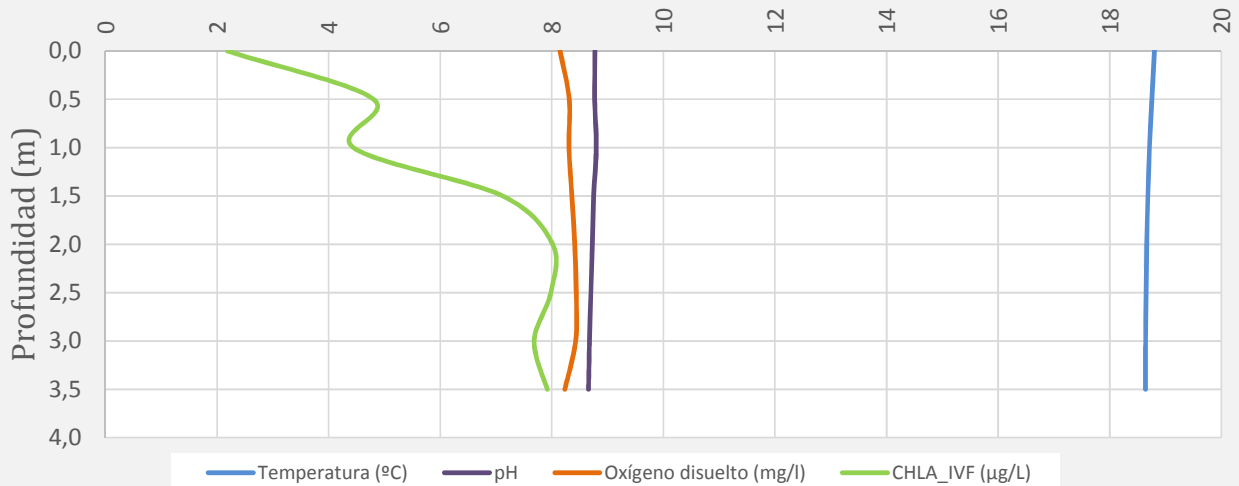


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	LA PEÑA	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	539,00	<b>NIVEL (msnm):</b>	537,08
<b>Estación:</b>	E044-A02	<b>Profundidad máxima (m):</b>	4,3
<b>Fecha:</b>	09/11/2019	<b>UTM-X (m):</b>	686384
<b>Hora:</b>	11:00	<b>UTM-Y (m):</b>	4694908
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	0,6	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	1,5

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	18,7	<b>Termoclina (m):</b>	-
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	18,8	<b>Temp. mínima (°C):</b>	18,6
<b>pH:</b>	8,73	<b>Conductividad (μS/cm):</b>	358
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>	8,3	<b>Saturación oxígeno (%):</b>	89,0
<b>Hipoxia (m):</b>	-	<b>Anoxia (m):</b>	-
<b>Fluorescencia clorofila a (μg/L):</b>	4,4		

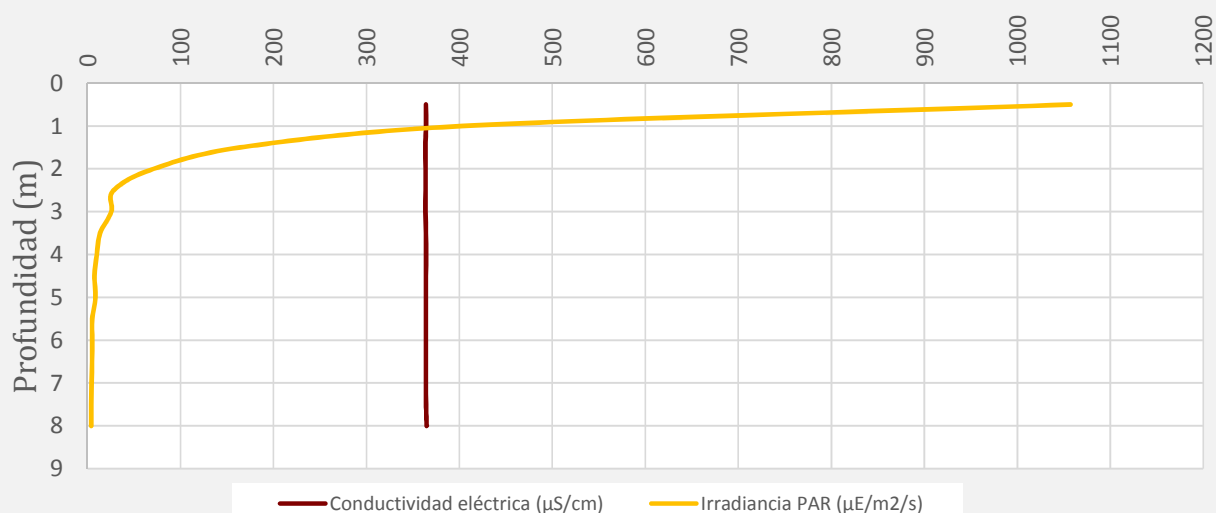
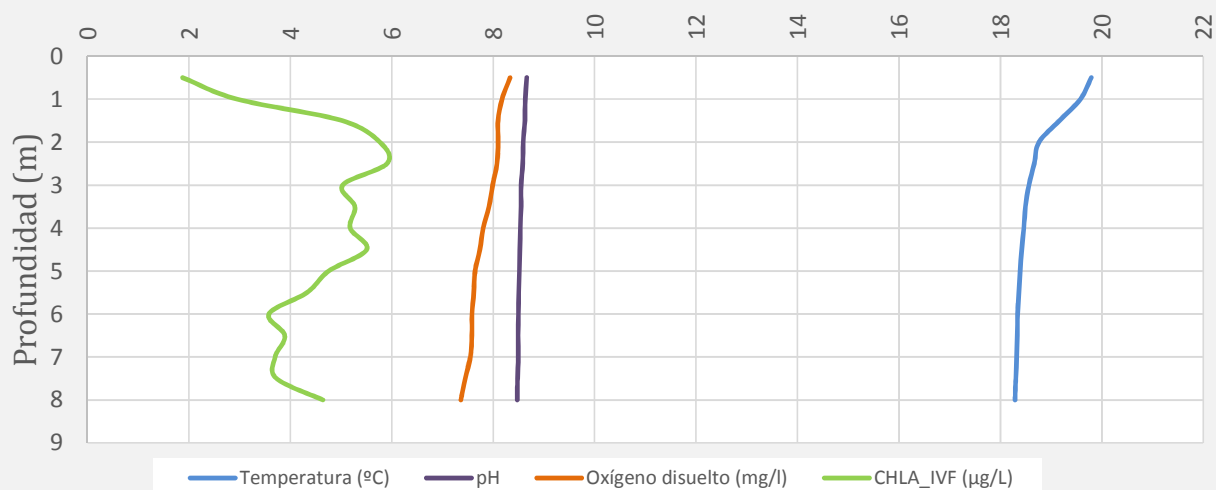


### PERFILES VERTICALES EN EMBALSE

<b>EMBALSE:</b>	LA PEÑA	<b>CAMPAÑA:</b>	MEJILLÓN CEBRA
<b>COT. MAX (msnm):</b>	539,00	<b>NIVEL (msnm):</b>	537,08
<b>Estación:</b>	E044-A01	<b>Profundidad máxima (m):</b>	8,3
<b>Fecha:</b>	09/11/2019	<b>UTM-X (m):</b>	686384
<b>Hora:</b>	17:00	<b>UTM-Y (m):</b>	4694908
<b>Transparencia Secchi (m):</b>	0,7	<b>Espesor zona fótica (m):</b>	1,8

#### Indicadores y promedios en la columna de agua

<b>Temperatura (°C):</b>	18,6	<b>Termoclina (m):</b>	-
<b>Temperatura zona fótica (°C):</b>	19,5	<b>Temp. mínima (°C):</b>	18,3
<b>pH:</b>	8,54	<b>Conductividad (μS/cm):</b>	364
<b>Oxígeno disuelto (mg/L):</b>	7,8	<b>Saturación oxígeno (%):</b>	83,4
<b>Hipoxia (m):</b>	-	<b>Anoxia (m):</b>	-
<b>Fluorescencia clorofila a (μg/L):</b>	4,4		





## ANEXO III. BOLETINES DE ENSAYO DE IDENTIFICACIÓN Y RECuento DE ZOOPLANCTON

---



MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA

CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO

<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b>	2019 09 BZ02	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

### Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	09/09/2019
Procedencia:	Embalse de ALLOZ
Técnico:	Javier Morales
Método muestreo:	red zooplancton 53 µm
Nº Muestras:	6
Fecha de muestreo:	02/09/2019
Conservación:	Alcohol concentración final 70%
Estado de las muestras	OK

Código de muestra	Chequeo	Técnica captura	Volumen filtrado (L)
E0027-02	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0027-03	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	285
E0027-04	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0027-05	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0027-A03	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	180
E0027-A05	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	270

### Preparación de muestras de organismos

Fecha:	16/09/2019
Técnico:	Dr. Javier Morales

Muestras sedimentadas			
Código	Vol. sedimentado (mL)	Recuentos de alícuotas	Incidencias
E0027-02	40	10	NO
E0027-03	45	8	NO
E0027-04	40	11	NO
E0027-05	45	7	NO
E0027-A03	40	9	NO
E0027-A05	45	6	NO

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b>	2019 09 BZ02	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

### Recuento microscopio

Equipo:	Microscopio invertido con contraste de fases y polarización cruzada; x100 aumentos
Técnico:	Dr. Javier Morales
Método de recuento:	Total de la muestra , en alícuotas sucesivos
Número de muestras:	6
Incidencias:	NO

Densidad de organismos en punto de muestreo					
Código		Recuento (n)	Recuento (%)	Densidad (larvas/L)	Observaciones
E0027-02	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	mucho sedimento
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0027-03	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	mucho sedimento, y filamentos
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0027-04	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	mucho sedimento, y filamentos
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO





<b>TIPO DE ENSAYO:</b> Recuento zooplancton				<b>CLIENTE</b>	
<b>ESPECIE:</b> <i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)				Confederación Hidrográfica del Ebro	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b> 2019 09 BZ02					
<b>Código de proyecto:</b> EC19013					
E0027-05	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muy fragmentado el plancton, muchos inertes y poco fito
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0027-A03	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muy fragmentado el plancton. apenas sin fito
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0027-A05	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muy fragmentado el plancton, poco contenido
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b> Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b> <i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b> 2019 09 BZ02	
<b>Código de proyecto:</b> EC19013	

## Conclusiones y sugerencias para la monitorización de mejillón cebrá

### Conclusión

Las muestras analizadas en el embalse de ALLOZ (NA) han resultado NEGATIVAS. La especie no está presente o no ha podido detectarse en este momento del ciclo vital del MC, dado que el segundo pulso de reproducción no es constante en todas las poblaciones; sobre todo en las de asentamiento incipiente. Por lo tanto se recomienda muestrear de nuevo durante la primera freza del final de primavera y recurrir al contraste de presencia del eDNA en el agua. El fuerte oleaje frecuente en las orillas puede introducir distorsión en la resolución de la técnica debido a la fragmentación de los elementos del plancton y la gran cantidad de sedimentos inertes que atrapa la red. Se muestrearon lugares alejados de zonas rocosas o sustratos en los que se asientan con preferencia los adultos.

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 BZ04	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

### Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	09/09/2019
Procedencia:	Embalse de CAMARASA
Técnico:	Javier Morales
Método muestreo:	red zooplancton 53 µm
Nº Muestras:	3
Fecha de muestreo:	06/09/2019
Conservación:	Alcohol concentración final 70%
Estado de las muestras:	OK

Código de muestra	Chequeo	Técnica captura	Volumen filtrado (L)
E0065-02	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0065-03	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0065-04	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0065-A02	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	500
E0065-A03	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	500
E0065-A04	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	100

### Preparación de muestras de organismos

Fecha:	09/10/2019
Técnico:	Dr. Javier Morales

#### Muestras sedimentadas

Código	Vol. sedimentado (mL)	Recuentos de alícuotas	Incidencias
E0065-02	45	10	NO
E0065-03	45	8	NO
E0065-04	45	6	NO
E0065-A02	40	8	NO
E0065-A03	45	8	NO
E0065-A04	40	6	NO

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 BZ04	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

### Recuento microscopio

Equipo:	Microscopio invertido con contraste de fases y polarización cruzada; x100 aumentos
Técnico:	Dr. Javier Morales
Método de recuento:	Total de la muestra , en alícuotas sucesivos
Número de muestras:	3
Incidencias:	NO

Densidad de organismos en punto de muestreo					
Código		Recuento (n)	Recuento (%)	Densidad (larvas/L)	Observaciones
E0065-02	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muchas mat. orgánica
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0065-03	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muchas especies de diatomeas
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



TIPO DE ENSAYO: ESPECIE: INFORME DE ENSAYO N°: Código de proyecto:	Recuento zooplancton <i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas) 2019 09 BZ04 EC19013			CLIENTE	
				Confederación Hidrográfica del Ebro	
E0065-04	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muchas Bosmina
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0065-A02	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	bloom de Fragillaria y Asterionella
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0065-A03	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muy poco plancton
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0065-A04	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	cuasi bloom de Asterionella y muchos cladóceros
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 BZ04	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

---

Las muestras analizadas en el embalse de CAMARASA (LL) han resultado NEGATIVAS. La especie no está presente o no ha podido detectarse en este momento del ciclo vital del MC, dado que el segundo pulso de reproducción no es constante en todas las poblaciones; sobre todo en las de asentamiento incipiente. Por lo tanto se recomienda muestrear de nuevo durante la primera freza del final de primavera y recurrir al contraste de presencia del eDNA en el agua. El fuerte oleaje, frecuente en las orillas durante el muestreo, puede introducir distorsión en la resolución de la técnica debido a la fragmentación de los elementos del plancton y a la gran cantidad de sedimentos inertes que atrapa la red; aspecto relevante en este muestreo de septiembre con el nivel de embalse por debajo del 50% de su capacidad. Por otro lado, esto representa también una mayor cercanía del punto de muestreo a potenciales zonas cotas de arraigo de adultos en zonas que no quedan habitualmente expuestas a la emersión.

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b>	2019 09 BZ03	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

### Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	09/09/2019
Procedencia:	Embalse de CANELLES
Técnico:	Javier Morales
Método muestreo:	red zooplancton 53 µm
Nº Muestras:	6
Fecha de muestreo:	05/09/2019
Conservación:	Alcohol concentración final 70%
Estado de las muestras	OK

Código de muestra	Chequeo	Técnica captura	Volumen filtrado (L)
E0058-A01	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	255
E0058-A02	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	360
E0058-A03	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	315
E0058-03	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0058-04	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0058-06	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200

### Preparación de muestras de organismos

Fecha:	26/09/2019
Técnico:	Dr. Javier Morales

Muestras sedimentadas			
Código	Vol. sedimentado (mL)	Recuentos de alícuotas	Incidencias
E0058-A01	45	9	NO
E0058-A02	45	9	NO
E0058-A03	45	8	NO
E0058-03	45	7	NO
E0058-04	50	12	NO
E0058-06	50	12	NO

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO





<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b>	2019 09 BZ03	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recuento microscopio

Equipo: Microscopio invertido con contraste de fases y polariz

Técnico: Dr. Javier Morales

Método de recuento: Total de la muestra , en alícuotas sucesivos

Número de muestras: 6

Incidencias: NO

Densidad de organismos en punto de muestreo					
Código		Recuento (n)	Recuento (%)	Densidad (larvas/L)	Observaciones
E0058-A01	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	no hay filamentos, poco fito
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0058-A02	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0058-A03	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	hay filamentos, poco fito
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



TIPO DE ENSAYO: Recuento zooplancton				CLIENTE	
ESPECIE: <i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)				Confederación Hidrográfica del Ebro	
INFORME DE ENSAYO N 2019 09 BZ03					
Código de proyecto: EC19013					
E0058-03	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	poco sedimento
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0058-04	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	mucho sedimento
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0058-06	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	mucho sedimento
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b>
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>INFORME DE ENSAYO N</b>	2019 09 BZ03	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

---

Las muestras analizadas en el embalse de CANELLES (HU/LL) han resultado NEGATIVAS. La especie no está presente o no ha podido detectarse en este momento del ciclo vital del MC, dado que el segundo pulso de reproducción no es constante en todas las poblaciones; sobre todo en las de asentamiento incipiente. Por lo tanto se recomienda muestrear de nuevo durante la primera freza del final de primavera y recurrir al contraste de presencia del eDNA en el agua. El nivel de precisión del muestreo se considera suficiente para la detección de la especie, al integrar puntos en el cañón fluvial con paredes rocosas y otras zonas en las ensenadas y puntos rocosos cerca de la presa.

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 BZ05	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	23/09/2019
Procedencia:	Embalse de LA PEÑA
Técnico:	Javier Morales
Método muestreo:	red zooplancton 53 µm
Nº Muestras:	6
Fecha de muestreo:	11/09/2019
Conservación:	Alcohol concentración final 70%
Estado de las muestras:	OK

Código de muestra	Checkeo <input checked="" type="checkbox"/>	Técnica captura	Volumen filtrado (L)
E0044-01	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0044-02	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0044-04	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200
E0044-A01	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	87,5
E0044-A02	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	75
E0044-A03	<input checked="" type="checkbox"/>	Arrastre vertical desde termoclina	94

## Preparación de muestras de organismos

Fecha:	08/10/2019
Técnico:	Dr. Javier Morales

Muestras sedimentadas			
Código	Vol. sedimentado (mL)	Recuentos de alícuotas	Incidencias
E0044-01	45	12	NO
E0044-02	45	7	NO
E0044-04	40	8	NO
E0044-A01	40	8	NO
E0044-A02	30	8	NO
E0044-A03	40	8	NO

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 BZ05	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

### Recuento microscopio

Equipo:	Microscopio invertido con contraste de fases y polarización cruzada; x100 aumentos
Técnico:	Dr. Javier Morales
Método de recuento:	Total de la muestra , en alícuotas sucesivos
Número de muestras:	6
Incidencias:	NO

### Densidad de organismos en punto de muestreo

Código		Recuento (n)	Recuento (%)	Densidad (larvas/L)	Observaciones
E0044-01	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	bloom de Dinobryon y rotíferos
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0044-02	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	bloom de Dinobryon
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0044-04	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	bloom de Dinobryon
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b> Recuento zooplancton				<b>CLIENTE</b>	
<b>ESPECIE:</b> <i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)				Confederación Hidrográfica del Ebro	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b> 2019 09 BZ05					
<b>Código de proyecto:</b> EC19013					
E0044-A01	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	cuasi bloom de Dinobryon
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0044-A02	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	cuasi bloom de Dinobryon y muchos rotíferos
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	
E0044-A03	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	domina Dinobryon y colonias mucilaginosas de cianos muy pequeñas
	Larvas D	0	0,0%	0,0	
	Larvas VELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PEDIVELIGER	0	0,0%	0,0	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>	<b>0,0</b>	

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 BZ05	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

---

Las muestras analizadas en el embalse de LA PEÑA (HU) han resultado NEGATIVAS. La especie no está presente o no ha podido detectarse en este momento del ciclo vital del MC, dado que el segundo pulso de reproducción no es constante en todas las poblaciones; sobre todo en las de asentamiento incipiente. Por lo tanto se recomienda muestrear de nuevo durante la primera freza del final de primavera y recurrir al contraste de presencia del eDNA en el agua. El nivel de precisión del muestreo se considera suficiente para la detección de la especie, al integrar puntos cerca de paredes rocosas y otras zonas en las ensenadas y puntos rocosos cerca de la presa. Sin embargo la baja transparencia registrada por concentración de algas en el plancton podría dificultar la detección de larvas en muy bajas concentraciones.

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO





<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b>	2019 09 BZ01	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	12/09/2019
Procedencia:	Embalse de SOBRÓN
Técnico:	Javier Morales
Método muestreo:	red zooplancton 53 µm
Nº Muestras:	1
Fecha de muestreo:	11/09/2019
Conservación:	Alcohol concentración final 70%
Estado de las muestras	OK

Código de muestra	Chequeo	Técnica captura	Volumen filtrado (L)
E0022-01	<input checked="" type="checkbox"/>	Filtrado orilla	200

## Preparación de muestras de organismos

Fecha:	16/09/2019
Técnico:	Dr. Javier Morales

Muestras sedimentadas			
Código	Vol. sedimentado (mL)	Recuentos de alícuotas	Incidencias
E0022-01	55	11	NO

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	Recuento zooplancton	<b>CLIENTE</b> Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i> (Larvas)	
<b>INFORME DE ENSAYO N</b>	2019 09 BZ01	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recuento microscopio

Equipo:	Microscopio invertido con contraste de fases y polarizaci
Técnico:	Dr. Javier Morales
Método de recuento:	Total de la muestra , en alícuotas sucesivos
Número de muestras:	1
Incidencias:	NO

### Densidad de organismos en punto de muestreo

Código		Recuento (n)	Recuento (%)	Densidad (larvas/L)	Observaciones
E0022-01	Larvas TROCÓFORAS	0	0,0%	0,0	muchos filamentos y fragilarias, muchas algas
	Larvas D	302	67,0%	1,5	
	Larvas VELIGER	131	29,0%	0,7	
	Larvas PEDIVELIGER	18	4,0%	0,1	
	Larvas PLANTÍGRADAS	0	0,0%	0,0	
	<b>TODAS</b>	<b>451</b>	<b>100%</b>	<b>2,3</b>	

### Conclusiones y sugerencias para la monitorización de mejillón cebra

La muestra de orilla analizada en el embalse de SOBRÓN (BU) ha resultado POSITIVA. Esto indica la presencia de mejillón cebra en altas densidades en esta época del año, que se corresponden con un importante segundo pulso reproductor de 2019; aunque muy lejano de las cifras habituales en el principal de finales de primavera. Se recomienda intensificar el seguimiento con eDNA para detectar correctamente la presencia de material genético de *Dreissena polymorpha* en el embalse durante el invierno o fases en las que no se pueden capturar larvas en el agua. Asimismo se podría monitorizar mensualmente el estado gonatosomático de los adultos para prever de forma anticipada la freza de larvas al agua.

FIRMA DEL RESPONSABLE DEL ENSAYO





## **ANEXO IV. BOLETINES DE ENSAYO PARA DETECCIÓN DE ESPECIES MEDIANTE eDNA**

---



MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA

CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO

<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Alloz	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	07/09/2019
Técnico:	Dra. Laura Miralles
Nº Muestras:	24
Estado de las muestras:	Frías
Almacenaje:	Congelación

Código de muestra	Chequeo
E0027_A02.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A02.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A02.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A02.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.RED	<input checked="" type="checkbox"/>



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Alloz	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Filtración de muestras de agua

Técnico: Dra. Laura Miralles

Almacenaje: Congelación

Incidencias: No

Muestras filtradas			
Código	Volumen (L)	Nº filtros	Fecha
E0027_A02.1	1	2	13/09/2019
E0027_A02.2	1	2	13/09/2019
E0027_A02.3	1	2	13/09/2019
E0027_A02.RED	1	2	13/09/2019
E0027_A03.1	1	2	13/09/2019
E0027_A03.2	1	2	13/09/2019
E0027_A03.3	1	2	13/09/2019
E0027_A03.RED	1	2	13/09/2019
E0027_02.1	1	2	04/09/2019
E0027_02.2	1	2	04/09/2019
E0027_02.3	1	2	04/09/2019
E0027_02.RED	1	2	04/09/2019
E0027_03.1	1	2	04/09/2019
E0027_03.2	1	2	04/09/2019
E0027_03.3	1	2	04/09/2019
E0027_03.RED	1	2	04/09/2019
E0027_04.1	1	2	04/09/2019
E0027_04.2	1	2	04/09/2019
E0027_04.3	1	2	04/09/2019
E0027_04.RED	1	2	04/09/2019
E0027_05.1	1	2	04/09/2019
E0027_05.2	1	2	04/09/2019
E0027_05.3	1	2	04/09/2019
E0027_05.RED	1	2	04/09/2019
Control	1	1	04/09/2019

FIRMA DEL RESPONSABLE  
DEL ENSAYO:



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Alloz	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Extracción de ADN

Fecha:	19-sep
Técnico:	Laura Miralles y Alicia García
Método de extracción:	Kit Mobio
Número de muestras:	25
Incidencias:	No

<b>Muestras extraídas</b>		
Código	Volumen (mL)	Quality Check
E0027_A02.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A02.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A02.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A02.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_A03.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_02.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_03.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_04.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0027_05.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
Control	100	<input checked="" type="checkbox"/>





<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Alloz	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Detección por PCR

Técnico: Dra. Laura Miralles

Incidencias: No

	1º Amplif.	2º Amplif.	3º Amplif.
Máquina PCR:	PTC-200	PTC-200	PTC-200
Fecha:	27/09/2019	30/09/2019	01/10/2019
Código Gel:	A02	A03	A04
Conservación:	congelación	congelación	congelación

## Resultados

Código	Detección	Detección	Detección
E0027_A02	-	-	-
E0027_A02.RED	-	-	-
E0027_A03	-	-	-
E0027_A03.RED	-	-	-
E0027_02	+	+	+
E0027_02.RED	+	-	+
E0027_03	+	-	+
E0027_03.RED	-	+	+
E0027_04	+	+	+
E0027_04.RED	-	-	-
E0027_05.3	-	-	-
E0027_05.RED	-	-	-



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Alloz	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

Las muestras analizadas en el embalse de Alloz han resultado positivas en al menos dos de las tres réplicas de los puntos de muestreo 02, 03 y 04. En esos puntos la detección ha sido más consistente en las muestras de agua que en las de filtrado en red. Esto indica la presencia de mejillón cebrá en bajas densidades y con distribución preferente del ADN en las zonas de orilla del embalse, que podría ser consecuencia de derivas a zonas laterales de la masa de agua por causas hidrodinámicas; en esta época del año podrían corresponder a larvas generadas en un segundo pulso reproductor de 2019. Se recomienda intensificar el seguimiento con eDNA para estadificar correctamente el embalse en relación a la posible colonización por mejillón cebrá y para la localización de colonias de adultos.



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Camarasa	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	07/09/2019
Técnico:	Dra. Laura Miralles
Nº Muestras:	24
Estado de las muestras:	Frías
Almacenaje:	Congelación

Código de muestra	Chequeo
E0065_A02.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A02.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A02.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A02.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.RED	<input checked="" type="checkbox"/>



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Camarasa	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Filtración de muestras de agua

Técnico: Dra. Laura Miralles

Almacenaje: Congelación

Incidencias: No

Muestras filtradas			
Código	Volumen (L)	Nº filtros	Fecha
E0065_A02.1	1	2	23-sep
E0065_A02.2	1	2	23-sep
E0065_A02.3	1	2	23-sep
E0065_A02.RED	1	2	23-sep
E0065_A03.1	1	2	23-sep
E0065_A03.2	1	2	23-sep
E0065_A03.3	1	2	23-sep
E0065_A03.RED	1	2	23-sep
E0065_A04.1	1	2	24-sep
E0065_A04.2	1	2	24-sep
E0065_A04.3	1	2	24-sep
E0065_A04.RED	1	2	24-sep
E0065_02.1	1	2	18-sep
E0065_02.2	1	2	18-sep
E0065_02.3	1	2	18-sep
E0065_02.RED	1	2	18-sep
E0065_03.1	1	2	18-sep
E0065_03.2	1	2	18-sep
E0065_03.3	1	2	18-sep
E0065_03.RED	1	2	18-sep
E0065_04.1	1	2	23-sep
E0065_04.2	1	2	23-sep
E0065_04.3	1	2	23-sep
E0065_04.RED	1	2	23-sep
Control	1	1	18-sep



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Camarasa	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Extracción de ADN

Fecha:	25-sep
Técnico:	Laura Miralles
Método de extracción:	Kit Mobio
Número de muestras:	25
Incidencias:	

Muestras extraídas		
Código	Volumen (mL)	Quality Check
E0065_A02.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A02.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A02.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A02.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A03.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_A04.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_02.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_03.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0065_04.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
Control	100	<input checked="" type="checkbox"/>



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Camarasa	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Detección por PCR

Técnico: Dra. Laura Miralles

Incidencias: NO

	1º Amplif.	2º Amplif.	3º Amplif.
Máquina PCR:	PTC-200	PTC-200	PTC-200
Fecha:	02/10/2019	07/10/2019	08/10/2019
Código Gel:	CMS02	CMS03	CMS04
Conservación:	congelación	congelación	congelación

## Resultados

Código	Detección	Detección	Detección
E0065_A01	-	-	-
E0065_A01.RED	-	-	-
E0065_A02	-	-	-
E0065_A02.RED	-	-	-
E0065_A03	-	-	-
E0065_A03.RED	-	-	-
E0065_03	-	-	-
E0065_03.RED	-	-	-
E0065_04	-	-	-
E0065_04.RED	-	-	-
E0065_06	-	-	-
E0065_06.RED	-	-	-



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Camarasa	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

Las muestras analizadas en el embalse de Camarasa han resultado negativas en todas las réplicas de todos los puntos de muestreo. Dada la alta sensibilidad de este ensayo, se puede descartar la presencia de mejillón cebra a fecha de Septiembre de 2019 en este embalse.

FIRMA DEL RESPONSABLE  
DEL ENSAYO:





<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Canelles	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	07/09/2019
Técnico:	Dra. Laura Miralles
Nº Muestras:	24
Estado de las muestras:	Frías
Almacenaje:	Congelación

Código de muestra	Chequeo
E0058_A01.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A01.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A01.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A01.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A02.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A02.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A02.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A02.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A03.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A03.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A03.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A03.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_03.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_03.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_03.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_03.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_04.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_04.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_04.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_04.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_06.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_06.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_06.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_06.RED	<input checked="" type="checkbox"/>



 FIRMA DEL RESPONSAB  
 DEL ENSAYO:

<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Canelles	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Filtración de muestras de agua

<b>Técnico:</b>	Dra. Laura Miralles
<b>Almacenaje:</b>	Congelación
<b>Incidencias:</b>	No

Muestras filtradas			
Código	Volumen (L)	Nº filtros	Fecha
E0058_A01.1	1	2	14-sep
E0058_A01.2	1	2	14-sep
E0058_A01.3	1	2	14-sep
E0058_A01.RED	1	2	14-sep
E0058_A02.1	1	2	15-sep
E0058_A02.2	1	2	15-sep
E0058_A02.3	1	2	15-sep
E0058_A02.RED	1	2	15-sep
E0058_A03.1	1	2	16-sep
E0058_A03.2	1	2	16-sep
E0058_A03.3	1	2	16-sep
E0058_A03.RED	1	2	16-sep
E0058_03.1	1	2	14-sep
E0058_03.2	1	2	14-sep
E0058_03.3	1	2	14-sep
E0058_03.RED	1	2	14-sep
E0058_04.1	1	2	16-sep
E0058_04.2	1	2	16-sep
E0058_04.3	1	2	16-sep
E0058_04.RED	1	2	16-sep
E0058_06.1	1	2	17-sep
E0058_06.2	1	2	17-sep
E0058_06.3	1	2	17-sep
E0058_06.RED	1	2	17-sep
Control	1	1	15-sep

 FIRMA DEL RESPONSAB  
 DEL ENSAYO:



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Canelles	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Extracción de ADN

Fecha:	20-sep
Técnico:	Laura Miralles y Alicia García
Método de extracción:	Kit Mobio
Número de muestras:	25
Incidencias:	Aunque todas las muestras tienen ADN y han pasado el control de calidad, algunas tienen una baja concentración baja.

Muestras extraídas		
Código	Volumen (mL)	Quality Check
E0058_A01.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A01.2	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_A01.3	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_A01.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A02.1	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_A02.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A02.3	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_A02.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_A03.1	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_A03.2	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_A03.3	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_A03.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_03.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_03.2	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_03.3	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_03.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_04.1	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_04.2	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_04.3	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_04.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/> Low
E0058_06.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_06.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_06.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0058_06.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
Control	100	<input checked="" type="checkbox"/>

 FIRMA DEL RESPONSAB  
 DEL ENSAYO:



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Canelles	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	



## Detección por PCR

Técnico: Dra. Laura Miralles

Incidencias: NO

	1º Amplif.	2º Amplif.	3º Amplif.
Máquina PCR:	PTC-200	PTC-200	PTC-200
Fecha:	27/09/2019	30/09/2019	01/10/2019
Código Gel:	CN02	CN03	CN04
Conservación:	congelación	congelación	congelación

## Resultados

Código	Detección	Detección	Detección
E0058_A01	-	-	-
E0058_A01.RED	-	-	-
E0058_A02	-	-	-
E0058_A02.RED	-	-	-
E0058_A03	-	-	-
E0058_A03.RED	-	-	-
E0058_03	-	-	-
E0058_03.RED	-	-	-
E0058_04	-	-	-
E0058_04.RED	-	-	-
E0058_06	-	-	-
E0058_06.RED	-	-	-



FIRMA DEL RESPONSAB  
DEL ENSAYO:

<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Canelles	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

Las muestras analizadas en el embalse de Canelles han resultado negativas en todas las réplicas de todos los puntos de muestreo. Dada la alta sensibilidad de este ensayo, se puede descartar la presencia de mejillón cebra a fecha de Septiembre de 2019 en este embalse.



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de La Peña	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	11/09/2019
Técnico:	Dra. Laura Miralles
Nº Muestras:	24
Estado de las muestras:	Frías
Almacenaje:	Congelación

Código de muestra	Chequeo
E0044-A01.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A01.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A01.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A01.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.RED	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.RED	<input checked="" type="checkbox"/>

FIRMA DEL RESPONSABLE/  
DEL ENSAYO:



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de La Peña	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Filtración de muestras de agua

Técnico: Dra. Laura Miralles

Almacenaje: Congelación

Incidencias: No

Muestras filtradas			
Código	Volumen (L)	Nº filtros	Fecha
E0044-A01.1	1	1	12/09/2019
E0044-A01.2	1	1	12/09/2019
E0044-A01.3	1	1	12/09/2019
E0044-A01.RED	1	2	12/09/2019
E0044-A02.1	1	1	12/09/2019
E0044-A02.2	1	1	12/09/2019
E0044-A02.3	1	1	12/09/2019
E0044-A02.RED	1	2	12/09/2019
E0044-A03.1	1	2	12/09/2019
E0044-A03.2	1	1	12/09/2019
E0044-A03.3	1	1	12/09/2019
E0044-A03.RED	1	2	12/09/2019
E0044-01.1	1	1	13/09/2019
E0044-01.2	1	1	13/09/2019
E0044-01.3	1	1	13/09/2019
E0044-01.RED	1	2	13/09/2019
E0044-02.1	1	1	13/09/2019
E0044-02.2	1	1	13/09/2019
E0044-02.3	1	1	13/09/2019
E0044-02.RED	1	2	13/09/2019
E0044-04.1	1	1	13/09/2019
E0044-04.2	1	1	13/09/2019
E0044-04.3	1	1	13/09/2019
E0044-04.RED	1	2	13/09/2019
Control	1	1	12/09/2019

FIRMA DEL RESPONSABLE/  
DEL ENSAYO:





<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO Nº:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de La Peña	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Extracción de ADN

Fecha:	19-sep
Técnico:	Laura Miralles y Alicia García
Método de extracción:	Kit Mobio
Número de muestras:	25
Incidencias:	No

<b>Muestras extraídas</b>		
Código	Volumen (mL)	Quality Check
E0044-A01.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A01.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A01.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A01.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A02.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-A03.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-01.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-02.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0044-04.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
Control	100	<input checked="" type="checkbox"/>

FIRMA DEL RESPONSABLE/  
DEL ENSAYO:



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de La Peña	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Detección por PCR

Técnico: Dra. Laura Miralles

Incidencias: En total se realizaron 4 amplificaciones en lugar de 3 debido a que la realizada el día 26 de septiembre fue fallida y hubo que repetirla. A continuación se muestran los resultados de las 3 amplificaciones con éxito.

	1º Amplif.	2º Amplif.	3º Amplif.
Máquina PCR:	PTC-200	PTC-200	PTC-200
Fecha:	27/09/2019	30/09/2019	01/10/2019
Código Gel:	LP03	LP04	LP05
Conservación:	congelación	congelación	congelación

## Resultados

Código	Detección	Detección	Detección
E0044_A01	+	+	-
E0044_A01.RED	-	-	-
E0044_A02	-	-	-
E0044_A02.RED	-	-	-
E0044_A03	-	-	-
E0044_A03.RED	-	-	-
E0044_01	-	-	-
E0044_01.RED	-	-	-
E0044_02	-	-	-
E0044_02.RED	-	-	-
E0044_04.3	-	-	-
E0044_04.RED	-	-	-

FIRMA DEL RESPONSABLE/  
DEL ENSAYO:



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de La Peña	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

---

Las muestras analizadas en el embalse de La Peña han resultado negativas a excepción de un punto de muestreo (A01) en bajísima cantidad, casi inapreciable, pero si consistente en 2 de las 3 réplicas de laboratorio. Por tanto, se presume la presencia del mejillón cebra en el Embalse de La Peña. Se recomienda intensificar el seguimiento con eDNA para estadificar correctamente el embalse en relación a la posible colonización por mejillón cebra y para la localización de colonias de adultos.

---



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Sobrón	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Recepción de muestras en el laboratorio

Fecha:	11/09/2019
Técnico:	Dra. Laura Miralles
Nº Muestras:	4
Estado de las muestras:	Frías
Almacenaje:	Congelación

Código de muestra	Chequeo
E0022_01.1	<input checked="" type="checkbox"/>
E0022_01.2	<input checked="" type="checkbox"/>
E0022_01.3	<input checked="" type="checkbox"/>
E0022_01.RED	<input checked="" type="checkbox"/>

## Filtración de muestras de agua

Técnico:	Dra. Laura Miralles
Almacenaje:	Congelación
Incidencias:	No

Muestras filtradas			
Código	Volumen (L)	Nº filtros	Fecha
E0022_01.1	1	2	24-sep
E0022_01.2	1	2	24-sep
E0022_01.3	1	2	24-sep
E0022_01.RED	1	2	24-sep
Control	1	1	24-sep

FIRMA DEL RESPONSA  
DEL ENSAYO:



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Sobrón	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Extracción de ADN

Fecha:	25-sep
Técnico:	Laura Miralles y Alicia García
Método de extracción:	Kit Mobio
Número de muestras:	5
Incidencias:	No

Muestras extraídas		
Código	Volumen (mL)	Quality Check
E0022_01.1	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0022_01.2	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0022_01.3	100	<input checked="" type="checkbox"/>
E0022_01.RED	100	<input checked="" type="checkbox"/>
Control	100	<input checked="" type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Sobrón	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Detección por PCR

Técnico: Dra. Laura Miralles

Incidencias: No

	1º Amplif.	2º Amplif.	3º Amplif.
Máquina PCR:	PTC-200	PTC-200	PTC-200
Fecha:	02/10/2019	07/10/2019	08/10/2019
Código Gel:	CMS02	CMS03	CMS04
Conservación:	congelación	congelación	congelación

## Resultados

Código	Detección	Detección	Detección
E0022_01	+	+	+
E0022_01.RED	+	+	+



<b>TIPO DE ENSAYO:</b>	eDNA	<b>CLIENTE</b>  Confederación Hidrográfica del Ebro
<b>ESPECIE:</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	
<b>INFORME DE ENSAYO N°:</b>	2019 09 G01	
<b>Procedencia:</b>	Embalse de Sobrón	
<b>Código de proyecto:</b>	EC19013	

## Conclusión

Las muestras analizadas en el embalse de Sobrón han resultado positivas en las tres réplicas del punto de muestreo, así como en la muestra de red. Se puede observar una banda muy clara en todos los geles, lo que indica la presencia de mejillón cebra en densidades apreciables. En esta época del año los positivos en eDNA pueden proceder tanto de larvas como de adultos.

FIRMA DEL RESPONSA  
DEL ENSAYO:





## ANEXO V. REPORTAJE FOTOGRÁFICO

---





MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA

CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO



Maniobras de botadura



Maniobras de botadura



Embarcación de muestreo en el embalse de Canelles



Toma de datos en un punto somero  
en el embalse de La Peña



Preparación muestreo en el embalse  
de Alloz





Red con flujómetro en el  
embalse de La Peña



Producto del filtrado en red con alto  
contenido en sólidos en el embalse  
de Canelles



Embalse de Canelles en la fecha del  
muestreo



Recogida de la muestra de agua en  
condiciones de esterilidad en un punto  
somero



Embalse de La Peña, frente a la  
presa, en la fecha del muestreo



Equipamiento preparado para la  
desinfección en estación



Embalse de Sobrón en el punto y  
fecha de muestreo



Limpieza de embarcación y remolque en  
estación de desinfección



Panorámica del embalse de Camarasa



MINISTERIO  
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA

CONFEDERACIÓN  
HIDROGRÁFICA  
DEL EBRO