

# Programa de Cooperación Internacional para la Evaluación y el Seguimiento de los Efectos de la Contaminación Atmosférica en los Bosques (ICP Forests)

## *Resumen de metodologías en Parcelas de Seguimiento Intensivo en España Informes 2009 y 2010*



SECRETARÍA DE ESTADO DE MEDIO RURAL Y AGUA  
SECRETARÍA GENERAL DE MEDIO RURAL  
DIRECCIÓN GENERAL DE MEDIO NATURAL Y POLÍTICA FORESTAL

SERVICIO DE PROTECCIÓN DE LOS MONTES  
CONTRA AGENTES NOCIVOS

C/ Ríos Rosas, 24  
28003 Madrid - SPAIN



 **INIA**  
Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria

Unidad de DINÁMICA DE ECOSISTEMAS FORESTALES  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN FORESTAL  
C<sup>3</sup> Coruña km7, 28040-Madrid-SPAIN



Personal de la Unidad de Dinámica de Ecosistemas Forestales del Departamento de Protección Forestal del Centro de Investigación Forestal del INIA que ha participado

**INVESTIGADOR:**

José Manuel Grau Corbí

**TECNÓLOGO A2:**

M<sup>a</sup> Teresa Minaya Gallego

Ana Carmen de la Cruz Calleja

Isabel González González

Milagros Serrano Játiva

**TITULAR ESC. TÉCNICO GRADO MEDIO MAPA**

Carmen Arana Moncada

**TITULADO GRADO MEDIO ACTIVIDADES TÉCNICAS PROFESIONALES**

Germán Cabanillas Fernández

**AYUDANTE DE INVESTIGACIÓN DE LOS OPIS I+D+I**

Ángeles Tirado Torralvo

**TÉCNICO SUPERIOR ACTIVIDADES TÉCNICAS PROFESIONALES**

Rocío Montoto Otero

Francisco Artero Caballero

Ana Parras Rico

**AYUDANTE DE ACTIVIDADES TÉCNICAS Y PROFESIONALES**

Marta Portillo Alberca

José Manuel Gálvez Álvarez

# ÍNDICE

	<i><u>Página</u></i>
<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>2</b>
<b>3. METODOLOGÍA .....</b>	<b>3</b>
<b>3.1. METEOROLOGÍA.....</b>	<b>3</b>
<b>3.2 FENOLOGÍA .....</b>	<b>4</b>
<b>3.3. CRECIMIENTOS .....</b>	<b>5</b>
<b>3.4. DESFRONDE .....</b>	<b>6</b>
<b>3.5. NUTRICIÓN FOLIAR.....</b>	<b>6</b>
<b>3.6. DEPOSICIÓN ATMOSFÉRICA.....</b>	<b>7</b>
<b>3.7. ÍNDICE DE AREA FOLIAR .....</b>	<b>8</b>
<b>3.8. CUADROS DE VEGETACIÓN .....</b>	<b>10</b>
<b>3.9. CARACTERIZACIÓN EDÁFICA.....</b>	<b>11</b>
<b>3.10. SOLUCIÓN DEL SUELO .....</b>	<b>13</b>



## **1. INTRODUCCIÓN GENERAL**

A principios de la década de los ochenta empezó a acuñarse en el ámbito forestal el término "muerte de los bosques". Aunque afortunadamente, se ha podido comprobar que el proceso de debilitamiento, que entonces se advertía, no es progresivo e irreversible en la mayor parte de los casos en que se ha detectado, continúan apareciendo zonas y especies con daños de etiología desconocida, al mismo tiempo, que parásitos considerados hasta ahora como oportunistas proliferan sobre el arbolado comportándose en apariencia como parásitos primarios.

Entre las hipótesis, que se plantearon en los años ochenta para explicar estos fenómenos, cobró especial relevancia, la que atribuía a la contaminación atmosférica, el papel de factor desencadenante de los desequilibrios observados en los montes. Se diseñó entonces, un sistema de muestreo para el seguimiento de la evolución de los daños en el tiempo y en el espacio, coherente con la hipótesis de que los contaminantes atmosféricos trasladados a grandes distancias estaban en el origen del problema. El Programa paneuropeo ICP-Forests se desarrolló a dos niveles:

- Nivel I: Seguimiento extensivo
- Nivel II: Seguimiento intensivo

El Nivel I dio, como resultado desde su iniciación en 1987, el establecimiento de una red, que se extiende sobre los bosques europeos instalando una parcela en los vértices de una malla de 16 km x 16 km. Dicha red en España consta de 620 puntos. En una base de datos se recogen el estado de defoliación, decoloración y salud de las copas anualmente, así con un inventario de las características edáficas del suelo y del contenido foliar de nutrientes. Sucesivos informes anuales resumen esta información a nivel nacional y europeo.

El Nivel II o seguimiento intensivo fue concebido para conseguir un mejor conocimiento de las consecuencias de la contaminación atmosférica y de otros factores en los ecosistemas forestales. Este nivel de seguimiento se desarrolla en 770 parcelas de observación permanente, situadas en 31 países, de ellos 440 pertenecen a la Unión Europea y 53 a España.

A partir de 1994, fueron seleccionadas las parcelas de Nivel II de acuerdo con los criterios derivados del desarrollo de las bases, que figuran en el Reglamento (CE) nº 1091/94 de la Comisión y con los planes elaborados por los Estados Miembros de la UE. En una primera etapa se llevó a cabo una caracterización edafológica de cada parcela y un estudio del estado nutricional del suelo, así como otras actividades de seguimiento del tipo de los de Nivel I.

En España se establecieron estas parcelas permanentes durante los años 1994, 1995 y 1996.

Las actividades de seguimiento establecidas inicialmente con carácter obligatorio (Reglamento 1091/94 y 690/95) fueron las siguientes:

- a) Evaluación del estado de las copas (al menos una vez al año).
- b) Análisis químico de los contenidos de hojas o acículas (al menos cada dos años).
- c) Análisis del suelo (cada diez años).
- d) Estudio de incrementos (cada 5 años).
- e) Medición de deposición (continua al menos en el 10% de las parcelas).
- f) Seguimiento meteorológico.

Posteriormente se añadieron otras actividades que son llevadas a cabo de forma voluntaria por cada país en un número determinado de parcelas, pero de acuerdo con un

procedimiento común elaborado por los paneles de expertos, y refrendado por los sucesivos reglamentos comunitarios. El reglamento UE para la protección de los bosques, Forest Focus, recoge todas estas actividades y las aúna para el periodo 2003-2008, añadiendo como nuevas prioridades la lucha contra el Cambio Climático, la Conservación de la Biodiversidad Forestal y el Manejo Forestal Sostenible.

A partir de la entrada en vigor del proyecto FutMon, bajo Life +, en Enero de 2009, las dos Redes de Daños existentes en España (Red de Nivel I y Red de Nivel II) se tuvieron que adaptar a los nuevos objetivos definidos por el proyecto FutMon. En el caso de la Red de Nivel II, esta adaptación ha supuesto una considerable disminución del número de parcelas, que pasan de 54 a 30, dejando como "durmientes" muchas de las parcelas en las cuales hasta el momento se realizaban mediciones básicas y centralizando los muestreos en las parcelas instrumentadas en las cuales además se están intensificando y ampliando los trabajos, para adaptarlos a los requeridos dentro del proyecto FutMon.

El proyecto se encuentra dividido en "Acciones" (codificación interna del proyecto). La Acción L2 es la continuación de las evaluaciones de campo en la red a gran escala (cuya base física es la Red de Nivel I) con objeto de la continuación de las series temporales de datos sobre el estado de los bosques. España participa en esta Acción con los 620 puntos de muestreo que componen su Red de Nivel I. Dentro de esa Acción L2 se enmarca la Acción IM1.

## **2. OBJETIVOS**

Los objetivos comprenden una serie de evaluaciones en las parcelas de la Red de Nivel II encaminadas a la selección de las así llamadas "core plots" o "parcelas núcleo" a nivel Europeo, así como los muestreos y atributos para el seguimiento intensivo que se llevará cabo en el futuro. Por ello es necesario realizar:

- Muestreo intensivo, incluyendo: copas, mortalidad, eliminaciones, crecimiento forestal, química foliar y desfronde, vegetación, suelo y solución del suelo, deposición y meteorología.
- Selección de parcelas y parámetros de evaluación para el futuro muestreo intensivo, teniendo en cuenta para ello los resultados de las diferentes acciones de demostración, incluyendo el desarrollo de criterios de selección
- Conocer la vitalidad arbórea y su adaptación, centrada en la recolección de datos más extensos sobre vitalidad arbórea, incluyendo evaluaciones de índices de área foliar, seguimiento de eventos fenológicos, medición en continuo de la circunferencia del tronco, evaluación de causas de daños y muestreos de desfronde.
- Conocer más sobre el ciclo de nutrientes en los ecosistemas forestales así como sus cargas críticas. Se basa en la evaluación y análisis del flujo de elementos y del ciclo de nutrientes, con vistas a la evaluación de las cargas críticas de contaminantes.
- Conocer los balances hídricos que se desarrollan en los ecosistemas forestales, está centrada en el desarrollo y la aplicación de modelos hidrológicos con vistas a obtener la respuesta de los árboles al estrés hídrico (como consecuencia, por ejemplo, del cambio climático), así como su respuesta con respecto a la absorción de nutrientes y el crecimiento.

Los objetivos específicos principales son:

- Conocer de forma continua la cantidad de elementos químicos, contaminantes y nutrientes, que entran en nuestros bosques a través de la cubierta vegetal.

- Evaluar las propiedades físico-químicas de la solución acuosa del suelo y sus variaciones y evolución estacional, así como su relación en el proceso de pluviolavado de las copas arbóreas y con el estado nutritivo de los árboles.
- Cuantificar el contenido foliar de nutrientes y evaluar el estado nutricional de la cubierta arbórea mediante muestreo periódico y análisis de muestras de hojas y acículas.
- Mantener un sistema de información meteorológica permanente para medir los flujos de energía radiante y los de intercambio térmico entre la vegetación, el suelo y la atmósfera.
- Desarrollar, a nivel nacional, el programa de seguimiento de la evolución de las propiedades del suelo en parcelas permanentes, obteniendo información del estado del suelo con una periodicidad de diez años.
- Participar en el estudio coordinado, con 32 países europeos, en la evaluación conjunta de los resultados obtenidos a nivel continental.
- Mantener un conocimiento cuantitativo del desfronde, o desprendimiento de hojas-acículas y demás componentes de la biomasa aérea, que permite determinar el flujo de elementos nutritivos que retornan de forma periódica al suelo; y que revela la intensidad de algunas perturbaciones cuyo efecto es la defoliación y de la productividad primaria neta.
- Participar en los Comités Técnicos y Científicos; en los paneles de expertos de suelos, deposición, meteorología, desfronde, etc.; en las reuniones internacionales de estudio y evaluación de resultados, en el establecimiento, contraste y armonización metodológica de muestreo y análisis, etc.
- Proporcionar a los responsables de la gestión de los sistemas forestales, información técnica, y a las instituciones de investigación, información básica relacionada con:
  1. Deposición y Contaminación Atmosférica.
  2. Química de la solución acuosa del suelo.
  3. Desfronde y ciclado de nutrientes.
  4. Estado nutricional y vigor vegetativo de las masas arbóreas.
  5. Dinámica de las propiedades físicas del medio y de la interacción con la vegetación arbórea.
  6. Intercambio gaseoso bosque-atmósfera.
  7. Interacción suelo-agua-vegetación y definición de las situaciones y factores de estrés.
  8. Obtención de información relevante para elaborar indicadores y establecer criterios de gestión sostenible de los recursos naturales, especialmente de productos y bienes forestales, hídricos, etc.
- 9. Contribución de las masas arbóreas al mantenimiento de los sumideros de carbono

### **3. METODOLOGÍA**

A continuación se describe brevemente la metodología seguida para la medida y análisis de los parámetros estudiados en las parcelas de seguimiento de Nivel II.

#### **3.1. METEOROLOGÍA**

Se utiliza una antena de 14.5 m, modelo Televés 180. En ella se han colocado una serie de dispositivos, de acuerdo con las recomendaciones europeas. El equipo y los sensores están en concordancia con la Organización Meteorológica Mundial (W.H.O.) y son compatibles con las redes del servicio Meteorológico Nacional. Las estaciones son casi continuas en la adquisición de datos, y el almacenamiento de variables se realiza cada 10 minutos.



Las mediciones que se realizan son: velocidad y dirección del viento, radiación, humedad relativa y temperatura del aire.

Los sensores de dirección y velocidad del viento están situados en la parte superior de la antena. La dirección del viento se mide en grados sexagesimales, con rangos comprendidos entre 0 y 360°, y la velocidad en  $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ , con rangos comprendidos entre 0 y 50  $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  y una precisión de  $\pm 0,5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ .

La medida de la intensidad de radiación se realiza por medio de piranómetros termoeléctrico, que miden la radiación global, la radiación incidente y la radiación reflejada en un ángulo de 180°. La medición se realiza en  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ . Es de Clase 1 según OMM.

La humedad relativa y la temperatura del aire se miden conjuntamente con sensores combinados dentro de un protector de radiación directa y difusa del sol por medio de un dispositivo de apantallamiento múltiple. Los sensores se sitúan dentro de una carcasa con ventilación natural para protegerlo de la luz. La humedad relativa se mide en %, con rangos comprendidos entre 0 y 100% y precisión de  $\pm 4\%$ . La temperatura se mide en °C, con rangos comprendidos entre -10 y 60°C y una precisión de  $\pm 0,6^\circ\text{C}$ .

Además, se mide la precipitación con un pluviómetro automático instalado en la parcela de deposición a cielo abierto. El pluviómetro utilizado tiene un sistema de cazoletas basculantes destinadas a la medida del volumen de precipitación, la intensidad y la duración del aguacero. La superficie colectora es de 200  $\text{cm}^2$ . La lluvia caída se mide en mm, con una resolución de 0,1 mm y una precisión del 2% hasta 25  $\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$  de precipitación y del 3% hasta 50  $\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$  de precipitación.

### 3.2. FENOLOGÍA

El manual europeo fija al menos la observación y registros de los siguientes parámetros fenológicos: aparición de la hoja/acícula, cambio de color, caída de la hoja/acícula, floración, daños bióticos y/o abióticos en la copa y otros daños de interés.

En el caso de España, adicionalmente se observan y registran los parámetros de fructificación, daños en árboles específicos de la parcela y que no corresponden a los del seguimiento a nivel árbol, estado del matorral y plantas herbáceas y el estado climatológico en el momento de la observación.

Las principales fases de seguimiento fenológico son:

- Aparición de la hoja/acícula: La fecha de aparición de las acículas se identifica con el comienzo de la separación visible de las acículas en la parte baja del crecimiento.
- Cambio de color: Se refiere al cambio de coloración otoñal en especies caducifolias y proceso de decoloración no otoñal que sufren muchos árboles (decoloración previa a la caída del alcornoque en primavera, o del pino resinero en verano...), o debidas a causas externas (decoloración por "golpe de calor" o "heladas intempestivas"...). En el apartado de "Observaciones" (reverso de la hoja) deben señalarse las posibles causas.
- Caída de la hoja/acícula: Las hojas acículas completamente secas que permanecen en el árbol se consideran caídas, pertenecen al tanto por ciento de hojas/acículas ya en el suelo.
- Daños significativos en las hojas o en la copa: Parte afectada, síntoma, causa, nombre científico de la causa.
- Otros daños (tronco o raíces): En los árboles seleccionados, se lleva a cabo el seguimiento de la aparición de daños en la zona de la copa observada. Es importante un seguimiento exhaustivo de los daños producidos, tanto bióticos como abióticos.

- Crecimiento secundario: Este fenómeno se produce en algunas especies al final del verano o principios del otoño, y es inducido por factores ambientales.
- Floración: La fecha de apertura de las flores masculinas (caracterizadas por el polen) se toma como referencia de floración.
- Fructificación: Se considera que se produce la fructificación cuando el fruto se ha formado, es decir, en el momento en el que está maduro.
- N° de metidas: Información reservada a especies perennifolias. Se admiten uno, o dos números si quedan suficientes acículas/hojas de la última metida, pero se observa que en ese momento se están perdiendo.

Los códigos para evaluar las fases distintas de floración y fructificación:

- Código 1: No existe.
- Código 2: 1 al 20 %.
- Código 3: 20 al 40%.
- Código 4: 40 al 60%.
- Código 5: 60 al 80 %.
- Código 6: Más del 80 %
- Código 7: Completo

El daño y la causa que lo produce se describen con detalle, incluyendo la identidad del agente (por ejemplo, el nombre del patógeno) cuando es conocido. Así mismo, los árboles de la parcela que presenten alguna característica de interés o daño y que estén entre los 20 árboles de seguimiento fenológico intensivo se anotan en el impreso para su seguimiento en posterior, reseñando el número de árbol y la descripción detallada del daño.

Esta evaluación se realiza cada 15 días, anotándose las variaciones fenológicas de los 20 árboles estudiados en las 13 parcelas de seguimiento intensivo.

### 3.3. CRECIMIENTOS

En todos los árboles de cada parcela del Nivel II se mide el diámetro normal, a 1,30 m de todos los árboles de la parcela con precisión de 0,5 cm, y, la altura total del árbol en centímetros, con una precisión de 0,5 m. Las mediciones se realizan de forma periódica, cada año y en la época estival, en coincidencia con la evaluación sanitaria.

Como información complementaria son de gran interés, y reflejan los cambios producidos en el diámetro del árbol, el uso de cintas graduadas. Estas se colocan alrededor del árbol de forma permanente y miden las pequeñas variaciones diamétricas que puedan sufrir los árboles por crecimiento o como respuesta a: situaciones de estrés hídrico, daños, etc. Las cintas diamétricas abrazan al árbol a la altura de 1,30 metros, y mide el diámetro del árbol directamente en cm. (cinta  $\pi$ ) según una escala graduada y un nonius. La cinta diamétrica está fija en el árbol y su observación y lectura se realiza cada 15 días.

Así mismo, en 2010 se ha realizado un estudio de los anillos de crecimiento de 5 árboles dominantes o codominantes, situados fuera de la zona buffer de cada parcela. En el año 2009, se han extraído cores para estimar los años de la masa y los crecimientos anuales y acumulados cada 5 años. Los cores se han extraído a una altura de 1.3 m, en el sentido de la pendiente y perpendicular a esta en las parcelas de pendiente, o, direcciones norte-este en las que no tienen pendientes.

### 3.4. DESFRONDE

En cada parcela de Nivel II de seguimiento intensivo se han colocado al azar 4 recogedores de biomasa procedente del desfronde. Cada dispositivo está situado a una distancia desde la base al suelo de 1,30 m. Los recogedores son de PVC, con un área de recogida de 50 x 50 cm<sup>2</sup>, en forma de cono invertido truncado que acaban en una bolsa de polietileno donde se deposita el desfronde. La frecuencia del muestreo ha sido mensual.

Las muestras de polietileno debidamente identificadas se recogen en campo y han sido transportadas hasta el laboratorio en neveras. Una vez allí, se meten en estufas de circulación forzada a 40°C, durante al menos 48 horas, hasta conseguir humedad constante. Una vez secas, se ha pesado cada bolsa individualmente para el estudio de la variabilidad espacial del desfronde. Una vez pesadas, se han juntado todas las bolsas de desfronde y se ha procedido a separar en tres fracciones: foliar (hojas/acículas), ramas y otros. En la fracción otros se han incluido yemas, frutos, polen, corteza,...

Cada fracción se ha molido individualmente. En caso de existir escasa cantidad para el análisis de una determinada fracción, se ha mezclado con el mes/meses anterior o posterior.

Los elementos que se han de determinar, según el ICP-Forests, mediante el análisis de cada fracción son:

- Obligatorios: C, N, S, Ca, Mg, K, P
- Opcionales: Na, Zn, Mn, Fe, Cu, Pb, Al, B

Los análisis realizados en el laboratorio de la Unidad de Dinámica de Ecosistemas Forestales del CIFOR de INIA, para cada una de las fracciones anteriormente citadas, han sido los siguientes:

- Carbono y Nitrógeno total: por combustión (LECO CN2000)
- Azufre total: por combustión (LECO SC432)
- Digestión ácida con nítrico en microondas Millestone y por ICP-OES (Perkin Elmer) para la determinación de Ca, Mg, K, P, Na, Zn, Mn, Fe y Cu.

Los pesos totales y de cada fracción se presentan a 65°C y los resultados analíticos a 105°C.

Los análisis han sido controladas mediante muestras internas de *Quercus ilex* del laboratorio del INIA y mediante muestras certificadas CRM 100 de *Fagus sylvatica* y CRM 101 de *Picea abies*.

También, anualmente se ha realizado una intercalibración foliar-desfronde entre los diversos laboratorios participantes en el ICP-Forest, para unificar criterios, elección de los métodos analíticos adecuados, establecer los límites de detección y cuantificación de cada parámetro medido adecuado para cada elemento analizado y equipo de medición utilizado, así como verificar de la calidad de los resultados presentados por cada país participante.

### 3.5. NUTRICIÓN FOLIAR

El estado nutritivo de una especie forestal se caracteriza mediante el análisis foliar. La determinación del contenido total de elementos esenciales en las hojas o acículas y su comparación con valores de referencia característicos de cada especie, permite elaborar un primer diagnóstico de su situación nutritiva.

Los datos de nutrición foliar que se presentan corresponden a las 13 parcelas de seguimiento intensivo UN/ECE del Nivel II en España, relacionadas a su vez con el resto de las parcelas permanentes de la Red del Nivel II, que tienen la misma especie principal. Estas

parcelas son representativas de los principales ecosistemas forestales españoles y se encuentran distribuidas a lo largo de la Península Ibérica, con diferentes tipos de suelos, condiciones climáticas y especies (8 coníferas, 1 caducifolia y 4 frondosas perennes).

Para las especies de coníferas y frondosas perennes se presentan los resultados de los análisis de hojas/acículas del año en curso y del año anterior de los dos últimos periodos de muestreo (2005-2006 y 2007-2008), y para las especies caducifolias se presentan los resultados de los análisis foliares de los últimos cuatro años muestreados.

El muestreo foliar se ha llevado a cabo cada dos años. El período de muestreo debe coincidir con el establecido para toda Europa. La fecha de muestreo depende del tipo de especie. En especies caducas el muestreo se ha llevado a cabo cuando las hojas nuevas están completamente desarrolladas, antes de que aparezca el amarilleamiento otoñal y los fenómenos de senescencia (segunda mitad de julio y mes de agosto), y en especies perennes el muestreo se ha realizado durante el período de parada vegetativa (octubre-febrero).

El muestreo se ha realizado sobre cinco árboles representativos de las condiciones ecológicas medias de la zona. En cada árbol se muestrean ramillos de las cuatro orientaciones, y que estén completamente expuestos a la luz. En las frondosas, el muestreo se ha realizado en el tercio superior de la copa, y en el caso de coníferas, el muestreo se ha realizado entre el 7° y 15° verticilo.

Previo al análisis foliar, las muestras se secan en estufa a 65°C durante al menos 24 horas, posteriormente las hojas/acículas se separan de las ramas y se determina el peso de 100 hojas o 1000 acículas. Las muestras secas serán molidas para obtener un polvo fino con el que se realizarán los siguientes análisis:

- Nitrógeno, azufre y carbono: por combustión mediante analizador elemental (LECO CNS-2000). La muestra se quema en oxígeno y en los gases procedentes de la combustión, se determina C y S por infrarrojos y N por conductividad térmica.
- Calcio, magnesio, fósforo, potasio, hierro, manganeso, aluminio y cinc: se miden conjuntamente en los digeridos foliares, que se realizan en una digestión húmeda con HNO<sub>3</sub> en un sistema de digestión por microondas y analizados por espectroscopia de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

### 3.6. DEPOSICIÓN ATMOSFÉRICA

El objetivo de un análisis químico de muestras de agua de deposición es conocer la concentración de los iones mayoritarios en ellas. En un ecosistema forestal en el que se desea realizar un balance global de la entrada de bioelementos, con la deposición se recogen para el análisis químico tres tipos fundamentales de muestras: agua de deposición a cielo abierto ó precipitación incidente, agua de trascolación y agua de escorrentía cortical.

En el primer caso se trata de agua de lluvia recogida bien en una zona sin bosque o con un dispositivo colocado por encima de las copas de los árboles. El agua de trascolación es el agua de lluvia recogida una vez que ha atravesado las copas de los árboles y la tercera fracción es el agua de lluvia que escurre a lo largo del tronco.

Los datos de deposición atmosférica que se presentan corresponden a 13 parcelas de seguimiento intensivo UN/ECE del NII en España. Estas parcelas son representativas de los principales ecosistemas forestales españoles y se encuentran distribuidas a lo largo de la Península Ibérica, con diferentes tipos de suelos, condiciones climáticas y especies (8 coníferas, 1 caducifolia y 4 frondosas perennes).

En cada punto intensivo del Nivel II hay una subparcela vallada dentro de la parcela permanente forestada, de aproximadamente 30 m<sup>2</sup> de superficie, en la que se han instalado 6 dispositivos de recogida del agua de trascolación. A menos de 2 km de distancia, en una zona deforestada, se sitúa otra parcela vallada de la misma superficie, en la que se han instalado 4 dispositivos de recogida de la precipitación incidente. Los dispositivos están situados a 1,50 m de distancia al suelo, con una superficie de recogida de 22.5 cm<sup>2</sup> cada uno, y una botella recogedora de 2 litros de capacidad. El agua de escorrentía solamente se ha recogido en una parcela de Nivel II, cuya especie principal es *Fagus sylvatica*. En dicha parcela se han instalado en dos árboles un cerco alrededor del tronco con un bidón de recogida de 50 litros de capacidad. En el resto de las parcelas de seguimiento continuo no se considera necesario recoger el agua de escorrentía, ya que su cuantía es despreciable en comparación con el agua de trascolación, debido al tipo de corteza. Solamente se recomienda la recogida del agua de escorrentía en el caso de la especie *Fagus sylvatica* o del género *Populus* debido a las características de su corteza, según se indica en la bibliografía correspondiente.

Las muestras se recogieron quincenalmente (24 periodos anuales) desde enero de 2005 hasta diciembre de 2007. Excepcionalmente en el año 2008 y en 2009 y hasta la terminación del convenio, el muestreo ha sido mensual. La cantidad de precipitación se midió con pluviómetros Hellman, instalándose 1 pluviómetro en la parcela deforestada y otro en la forestada.

Los análisis de las muestras de agua se realizaron siguiendo la metodología propuesta por el ICP-Forests (ICP-Forests, 2006). Fueron filtradas con filtros de acetato de celulosa de 0,45 µm.

Los análisis químicos principales que se realizan en estas muestras para caracterizar su composición química son:

1. Determinación del pH potenciométricamente, mediante pH metro, con objeto de conocer la entrada de protones en el ecosistema.
2. Conductividad eléctrica, potenciométricamente mediante conductímetro, con ella obtenemos una idea general de la concentración iónica de la muestra y se trata de un parámetro fundamental para la validación de los análisis efectuados.
3. Aniones mayoritarios: cloruros, nitratos y sulfatos, mediante cromatografía iónica.
4. Cationes mayoritarios: Ca, Mg, K y Na por espectroscopia de emisión por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). También amonio mediante analizador automático basado en el método de azul de indofenol.
5. Alcalinidad total mediante valoración a dos puntos finales. Con esta medida se estudia la capacidad de neutralizar protones en el agua de lluvia, que está fundamentalmente relacionada con su contenido en iones carbonato y bicarbonato. Por ello sólo se lleva a cabo esta determinación cuando el pH de la muestra es superior a 5,5.

### 3.7. ÍNDICE DE ÁREA FOLIAR

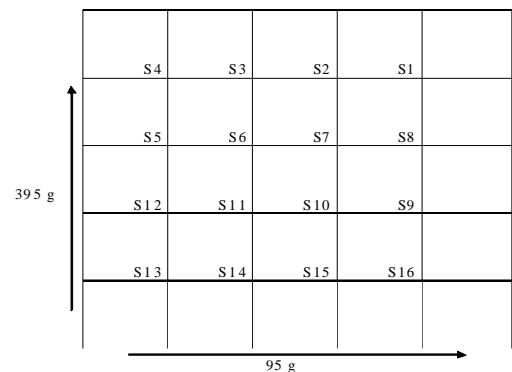
La evaluación de la cobertura forestal de los árboles es otro de los indicadores de la biodiversidad que necesita un análisis más exhaustivo. Para su realización se ha seguido el Protocolo Técnico de evaluación del Índice de Área Foliar.

Existen varios métodos para su determinación basados en la utilización de aparatos como el LICOR 2000 o el TRACK, aparatos con muchas dificultades de manejo y calibración en los bosques españoles, por lo que se ha realizado la evaluación mediante la toma de fotografías hemisféricas y su posterior tratamiento con programas adecuados.

En esta fase de muestreo se ha realizado la determinación del índice de área foliar en las trece parcelas intensivas de la red de Nivel II. El muestreo de la vegetación se ha realizado en las épocas del año características de la vegetación:

- Especies Perennifolias: En verano, en coincidencia con la época de mayor despliegue de hojas o acículas y mayor cobertura.
- Especies Caducifolias: En verano, en coincidencia con la época de mayor despliegue de hoja y mayor cobertura, y en invierno, en coincidencia con la época de menor cobertura arbórea. De las 13 parcelas intensivas, sólo existen dos parcelas con especies caducifolias, la parcela 115Fs de haya y la parcela 33Qpe de roble albar.

Las fotos se deben realizar en coincidencia con la aparición y puesta de sol. Se toman 16 fotografías hemisféricas, con un objetivo de ojo de pez, colocando el objetivo en posición vertical sobre los nodos de una cuadrícula de 10\*10 metros. Un ejemplo de la localización los 16 puntos de toma de fotos dentro de la parcela 05Ps se puede ver en el esquema.



Para la determinación del índice de área foliar se ha utilizado una cámara de fotos Nikon modelo D-60, con un objetivo de ojo de pez hemisférico de 180° Sigma DC HSM 4.5mm 1:2.8.

Una vez realizada la toma de muestras, las fotos se corrigen posteriormente, para evitar sombreados y conseguir mayor calidad en la foto. Después son analizadas con el programa informático Gap Light.

Los datos de los parámetros más significativos son:

- % Sky Area: Es el % de la zona hemisférica de cielo sobre el horizonte eficaz en el caso de zona llana. En el caso en que el horizonte esté a menos de 90° sobre la vertical, el Sky Area es menor que 100.
- % Mask Area: Es el área de la zona hemisférica que se ve obstaculizado por la topografía.
- % Canopy Openness: Es el porcentaje de cielo abierto visto desde debajo del dosel del bosque. Esta medida se calcula a partir de la fotografía hemisférica solamente, y no tiene en cuenta la influencia de la topografía circundante.
- LAI 4 Ring: Es el índice de área efectiva de la hoja integrada en los ángulos cenitales 0 a 60. Unidad de medida  $\text{mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$ .
- LAI 5 Ring: Es el índice de área foliar efectiva integrada en el ángulo cenital de 0 a 75. Unidad de medida  $\text{mol m}^{-2}\text{d}^{-1}$ .
- Trans Direct: Es la cantidad de radiación solar directa transmitida por el dosel.
- Trans Diffuse: Es la cantidad de radiación solar difusa transmitida por el dosel.
- Trans Total: Es la suma de Trans Direct y Trans Diffuse.
- % Trans Direct: Es la relación de Trans Direct y la radiación directa sobre una superficie horizontal multiplicada por 100.
- % Trans Diffuse: Es la relación entre la Trans Diffuse y radiación difusa sobre una superficie horizontal multiplicada por 100.

- % Trans Total: Es la relación entre Trans Total y radiación total sobre una superficie horizontal multiplicada por 100.

Con el tratamiento de las fotos, se ha obtenido los gráficos de radiación y de apertura de la masa forestal.

### 3.8. CUADROS DE VEGETACIÓN

El muestreo de la vegetación arbustiva y herbácea sirve como complemento al estudio de la biodiversidad forestal, su composición y estratificación, y como parte importante en el ciclo de nutrientes y es un indicador de la vitalidad de la parcela.

El muestreo se ha realizado en esta fase de estudio en las 13 parcelas intensivas de Nivel II. Se han muestreado 2 metros cuadrados de superficie en la zona buffer de la parcela para no provocar cambios florísticos en la parcelas. El muestreo se ha realizado sobre 8 cuadrados de 0.5 m de lado (superficie 0.25 m<sup>2</sup>).

El muestreo de la vegetación se ha realizado en las épocas del año con mayor presencia y diversidad de vegetación arbustiva y herbácea, primavera y otoño.

Posteriormente se extrae toda la vegetación dentro de la proyección vertical del cuadrado a muestrear, separándose según los diferentes grupos funcionales:

- Grupo 1: Musgos
- Grupo 2: Líquenes
- Grupo 3: Helechos
- Grupo 4: Poáceas, Ciperáceas y Juncáceas
- Grupo 5: Herbáceas
- Grupo 6: Arbustos caducifolios de menos de 50 cm. de altura
- Grupo 7: Arbustos perennes de menos de 50 cm. de altura
- Grupo 8: Resto

Las fechas de recogida de las muestras en otoño vienen condicionadas por el régimen de temperaturas y precipitaciones existente en cada lugar y que propicia la aparición de más o menos vegetación arbórea, es el motivo por el que la recogida de alguna parcela se ha demorado (el mes de septiembre de estos años, ha sido en general, en todos los puntos de recogida de Nivel II, seco).

Una vez recogidas las muestras de vegetación y llevadas al laboratorio, se han secado en estufa para evitar alteraciones de los nutrientes. Una vez secas, se han pesado y se han molido. Debido a la escasez, en muchos casos, de las muestras recogidas, no ha habido suficiente muestra para análisis en los muestreos de primavera y/o de otoño, por lo que ha sido necesario esperar al muestreo de otoño, para juntar las muestras correspondientes, y obtener muestra suficiente para realizar todos los análisis requeridos. Siempre, las mezclas, dentro de la misma parcela. Estas mezclas son posibles de realizar, según el protocolo a seguir explicado en el correspondiente Manual de Biodiversidad, dentro de los mismos grupos y entre determinados grupos, como por ejemplo, entre Poáceas y Herbáceas.

Para atenuar la influencia que pueden tener las desviaciones de los equipos en diferentes días, así como el de las personas a realizar los análisis, el laboratorio del INIA sigue la política de analizar el mismo tipo de muestras (en este caso de cuadros de vegetación) y de un mismo periodo o año, en una serie de tandas de trabajo juntas. Previamente a la realización de los análisis, las muestras se secan en estufa a 65°C durante al menos 24 horas. Las muestras secas se han molido para realizar los siguientes análisis:

- Nitrógeno, azufre y carbono: por combustión mediante analizador elemental (LECO CNS-2000). La muestra se quema en oxígeno y en los gases procedentes de la combustión, se determina C y S por infrarrojos y N por conductividad térmica.
- Calcio, magnesio, fósforo, potasio: se miden conjuntamente en los digeridos foliares, que se realizan en una digestión húmeda con  $\text{HNO}_3$  en un sistema de digestión por microondas y analizados por espectroscopia de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

Los datos se han de entregar a  $105^\circ\text{C}$  y han de cumplir los requisitos de calidad del Manual de Laboratorio.

### 3.9. CARACTERIZACIÓN EDÁFICA

La litología de cada parcela, así como la descripción del perfil o perfiles más característicos de ese suelo, han sido descritos siguiendo las instrucciones del Manual de Suelos del ICP-Forests, realizándose la descripción según WRB (2006).

Para la recogida y análisis de suelos se ha seguido el Manual de Suelos del ICP-Forests. Se han recogido en campo, de existir, el siguiente número de muestras, en cuatro sitios de la parcela sin mezclar entre ellos las muestras

Capa Orgánica:

1. Capa OL: desfronde en sitio 1, 2, 3 y 4.
2. Capa F (Fragmentada): material orgánico fragmentado en sitio 1, 2, 3 y 4.
3. Capa H (Humificada): material orgánico humificado en sitio 1, 2, 3 y 4.

Capa Mineral:

1. Capa de 0 a 5 cm de profundidad en sitio 1, 2, 3 y 4.
2. Capa de 5 a 10 cm de profundidad en sitio 1, 2, 3 y 4.
3. Capa de 10 a 20 cm de profundidad en sitio 1, 2, 3 y 4.

No siempre es posible recoger todas las muestras, porque en muchas ocasiones alguna capa orgánica no existe al no estar el suelo totalmente desarrollado o alguna de las capas haya sido alterada. También, en las capas minerales, la roca madre se ha encontrado a menos de 20 cm de profundidad.

El proceso seguido por las muestras ha sido:

Secado: Una vez en el laboratorio las muestras, tanto orgánicas como minerales, eran inmediatamente puestas a secar al aire para evitar proliferación de hongos y microorganismos que pudieran alterar las características químicas de la muestra, obteniendo una analítica incorrecta.

Tamizado: Una vez secas, las muestras minerales se tamizaban según las normas del Manual de Suelos de BioSoil, para obtener la fracción de gruesos ( $\text{Ø} > 6\text{mm}$  y  $2 < \text{Ø} < 6\text{mm}$ ) y la fracción fina ( $\text{Ø} < 2\text{mm}$ ).

Fragmentos gruesos: Una vez realizadas las tamizaciones y obtenidos los gruesos con diámetros comprendidos entre  $\text{Ø} > 6\text{mm}$  y  $2 < \text{Ø} < 6\text{mm}$ , se ha procedido a un lavado en sosa para eliminar los fragmentos finos adheridos a los fragmentos gruesos, y a otra posterior tamización para conocer el porcentaje real de los fragmentos gruesos de cada grupo.

Pesado de la muestra: Dentro del horizonte orgánico es necesario conocer el peso de la capa OL, la capa de desfronde, para poder conocer los  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  de materia orgánica que tiene el suelo.



Molienda: Para determinados análisis químicos (Carbono total, Nitrógeno total,...) es necesario la homogeneización de la muestra, siendo necesario la molienda en molino de ágata, para poder realizar los análisis de los metales pesados. Ha sido necesario moler, tanto las muestras orgánicas como las minerales.

Humedad: Para poder comparar los resultados con otros países es necesario presentar los datos a determinadas temperaturas. El Manual de Suelos de BioSoil lo exige a 105°C, por lo que es necesario calcular este valor, tanto en muestras orgánicas, OF y OH, como en muestras minerales.

Los análisis químicos que se detallan en la Adenda del Convenio CC03-56 son pH (CaCl<sub>2</sub>), contenido de carbono orgánico y nitrógeno total. Todos los análisis se han realizado siguiendo los protocolos anteriormente citados.

Dentro del estudio de los parámetros que influyen en la caracterización de las propiedades del suelo, es importante conocer las condiciones de la humedad y la temperatura del suelo para poder aplicar los nuevos modelos dinámicos. Con estos modelos, se pretende conocer y estudiar la evolución, no sólo del suelo en sí, sino como en la relación con la presencia y/o ausencia de la vegetación y fauna tan importantes en la biodiversidad del bosque.

Al ser parámetros nuevos, se eligieron 2 parcelas de seguimiento intensivo de Nivel II, escogidas por sus características edafológicas y ecosistemas diferentes, para la puesta a punto y seguimiento de la humedad y temperatura del suelo.

Se necesita conocer la variación del contenido de agua en el suelo en varios perfiles, al menos en un mínimo de dos, para poder abarcar adecuadamente la variabilidad y la heterogeneidad del suelo de cada parcela. En total, se han realizado tres perfiles elegidos en la zona por considerarse que son representativos de las características edáficas del punto.

La profundidad para instalar los sensores viene marcada por las profundidades a las que se recogieron las muestras de suelo para su determinación analítica y por ser las profundidades de las que se tienen datos físicos y químicos del suelo, así como su densidad aparente.

El suelo que se ha extraído de las calicatas para la instalación de estos sensores, se ha colocado en distintas zonas según su profundidad con el objetivo de poder cerrar la calicata con el mínimo impacto en las condiciones naturales y reales del suelo, que pueden incidir en las medidas efectuadas por los sensores. A la vez que se realizan las calicatas, se han extraído muestras inalteradas de suelo para la determinación de las curvas de retención de agua en laboratorio (curvas pF). Estas muestras de suelo inalterado se han recogido adecuadamente al realizarse una calicata escalonada.

Una vez extraídas las muestras para el análisis del contenido de humedad y colocados todos los sensores, tanto de humedad como de temperatura, y comprobadas todas las conexiones y un correcto funcionamiento, las calicatas se han cerrado con el suelo extraído en el orden inverso y en la misma profundidad en la que estaban originalmente.

Durante el año 2010, se han instalado los sensores de humedad y temperatura del suelo en siete parcelas intensivas con las fechas de instalación siguientes:

En algunas parcelas, se han realizado tres calicatas de hasta 80 cm de profundidad en el entorno de la subparcela interior vallada, y se han instalado sensores de humedad y de temperatura a tres profundidades, a 20, 40 y 60 cm de profundidad. Estos sensores, están conectados a un sistema de almacenaje Data logger que ha sido instalado dentro de la subparcela interior, que almacena los datos recogidos. Los datos han sido programados para

que se graben al menos tres veces al día. Los datos se han extraído manualmente una vez al mes, coincidiendo con la recogida de muestras de deposición atmosférica.

### 3.10. SOLUCIÓN DEL SUELO

La determinación de la composición química de la solución del suelo aporta información sobre la disponibilidad de nutrientes y ayuda a la determinación de balances de entradas y salidas de iones en los ecosistemas forestales.

La situación geográfica de las parcelas en las que se ha programado la extracción de solución del suelo, ha sido seleccionada teniendo en cuenta la duración del periodo en el que es posible utilizar la técnica lisimétrica; es decir, se han elegido generalmente las parcelas con mayor duración anual del periodo de precipitación. Basándose en este criterio se han seleccionado 5 parcelas de las 13 parcelas de seguimiento intensivo, de las cuales solamente en 3 de las seis parcelas seleccionadas se ha logrado extraer muestra. Los datos de la solución del suelo se presentan de las siguientes parcelas: parcela 5 de *Pinus sylvestris* en Valsain (Segovia), parcela 15 de *Fagus sylvatica* en Burguete (Navarra) y parcela 30 de *Pinus sylvestris* en Soria.

La solución del suelo se ha recolectado, mediante métodos no destructivos, utilizando microlisímetros de copa de cerámica; son lisímetros especiales que constan de una cápsula de material poroso, unido a un tubo, a través del cual se produce el vacío interior.

La unidad de muestreo de la solución del suelo se ha instalado dentro de la subparcela de trascolación. La unidad de muestreo consta de:

- Un armario metálico de protección frente a la intemperie
- Ocho botellas para recoger muestras
- Cuatro microlisímetros cuya cápsula está a 60 cm de profundidad
- Cuatro microlisímetros cuya cápsula está a 20 cm de profundidad
- Bomba de succión: bomba de aspiración, manual o eléctrica, que se utiliza para crear vacío (de 1 atmósfera).

La recogida de muestras de solución del suelo, coincidiendo con la recogida de las muestras de deposición atmosférica, se ha realizado quincenalmente (24 periodos anuales) en el periodo 2005-2008, mientras que en el 2008 y en el 2009 y hasta la terminación del convenio la recogida ha sido mensual.

Los análisis de las muestras de solución del suelo se realizaron siguiendo la metodología propuesta por el ICP-Forests (ICP-Forests, 2006). Fueron filtradas con filtros de acetato de celulosa de 0,45  $\mu\text{m}$ . Los análisis químicos principales que se realizan en estas muestras para caracterizar su composición química son:

- Determinación del pH potenciométricamente mediante pH-metro, con objeto de conocer la entrada de protones en el ecosistema.
- Conductividad eléctrica, potenciométricamente mediante conductímetro, con ella obtenemos una idea general de la concentración iónica de la muestra. Se trata de un parámetro fundamental para la validación de los análisis efectuados en las muestras.
- Aniones mayoritarios: cloruros, nitratos y sulfatos, mediante cromatografía iónica.
- Cationes mayoritarios: Ca, Mg, K y Na por espectroscopía de emisión por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). Y amonio mediante un analizador automático basado en el método de azul de indofenol.
- Alcalinidad total mediante valoración a dos puntos finales. Con esta medida se estudia la capacidad de neutralizar protones en el agua de lluvia, que está fundamentalmente

relacionada con su contenido en iones carbonato y bicarbonato. Por ello sólo se lleva a cabo esta determinación cuando el pH de la muestra es superior a 5,5.