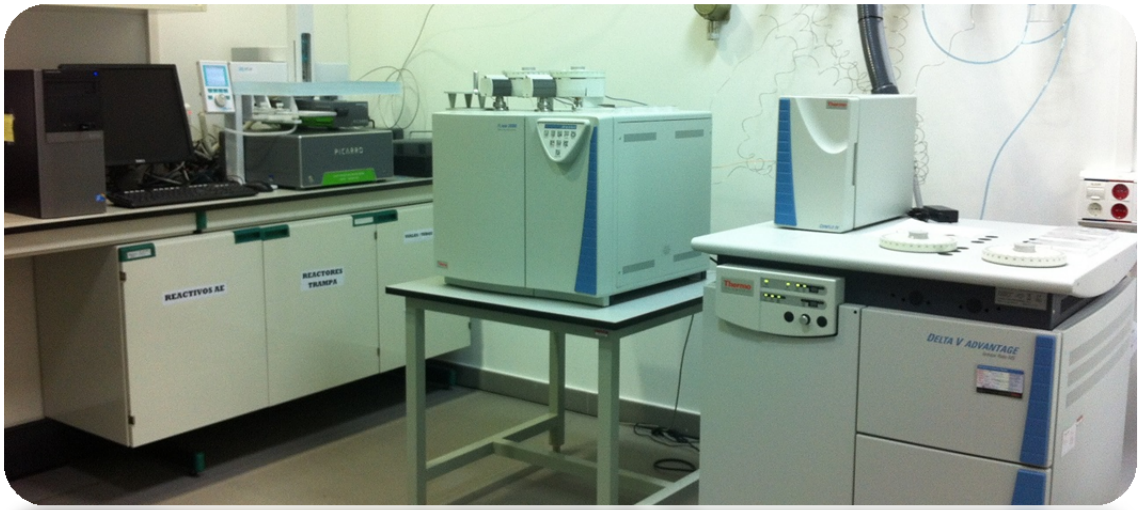
LABORATORIO DE ISÓTOPOS ESTABLES

ESTACIÓN BIOLÓGICA DE DOÑANA

INFORME DE ACTIVIDAD 2016

Susana Carrasco Congregado, Manuela G. Forero



1. INTRODUCCIÓN 3
2. EQUIPAMIENTO..... 4-5
3. PERSONAL Y FORMACIÓN DE ESTUDIANTES..... 5-6
4. ESTADÍSTICAS DE USO 6-9
5. WEB DEL LIE 9-10
6. DESARROLLO DE PATRONES. ESTANDARES INTERNACIONALES ... 10-11
7. INVESTIGACIÓN PROPIA DEL LABORATORIO 12
8. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA. PARTICIPACIÓN EN EVENTOS..... 12-13
9. PROYECCIÓN, RETOS Y NECESIDADES FUTURAS 13-12

1. INTRODUCCIÓN

Fig. 1: El laboratorio

En primer lugar nos gustaría señalar que el año 2016 ha sido un año especialmente anómalo en cuanto al funcionamiento del laboratorio debido a la reducción del personal técnico asignado al mismo. Hemos perdido a la persona que ocupaba el puesto de técnico responsable, Ricardo Álvarez Alonso. Esta reducción de personal cualificado ha afectado al funcionamiento del LIE provocando que el número de análisis realizados sea inferior a otros años y por tanto los ingresos generados también hayan disminuido. Igualmente, hemos tenido que desviar a usuarios y proyectos ya comprometidos a otros laboratorios y a la vez no aceptar nuevos trabajos solicitados. Nos ha parecido importante señalarlo previamente a la exposición del resumen de actividades puesto que éstas deberían analizarse en un marco más general que englobe los años anteriores desde la fundación del laboratorio.

En este informe ofrecemos un resumen de las actividades llevadas a cabo en el laboratorio durante el 2016, recogiendo entre otras cosas, la estadística de uso, producción científica, formación de estudiantes, y también incidencias técnicas y de personal.

2. EQUIPAMIENTO

Durante 2016 no se ha adquirido equipamiento adicional al ya existente en el laboratorio. Seguimos contando con un sistema de espectrometría de masas de ThermoFinigan, compuesto por un IRMS **Delta V Advantage**, acoplado a un **Analizador Elemental HT Plus** mediante un **Conflo IV**.

Fig. 2: Sistema de Espectrometría de Masas ThermoFinigan

Además, contamos con un**Espectrómetro CRDS de Picarro**, adquirido en el año 2013, que nos permite medir los isótopos de d^2H y $d^{18}O$ en agua y vapor de agua por la técnica CRDS (Cavity Ring-Down Spectroscopy). Su adquisición abre un nuevo campo de aplicabilidad de las aproximaciones isotópicas en nuestro centro en el estudio de dinámica de agua en los ecosistemas.

Fig. 3: Espectrómetro CRDS de Picarro del LIE

Las prestaciones de nuestro equipamiento, así como todos los servicios que podemos ofertar desde nuestro laboratorio están específicamente anunciadas en la página web del mismo.

3. PERSONALY FORMACIÓN DE ESTUDIANTES

Como comentábamos la situación del LIE en el 2016 ha sido totalmente anómala y la causa principal ha sido la reducción de personal, aunque también hemos tenido que hacer frente a una serie de problemas técnicos relacionados con el funcionamiento del espectómetro de masas. Tras la marcha del técnico responsable el laboratorio quedó con un ayudante técnico, que no contaba con la formación técnica necesaria para afrontar determinadas tareas ni la reparación de los equipos, y un comité científico en el que se integra el personal técnico del laboratorio, el responsable científico y dos asesores científicos.

De forma habitual y hasta 2016, el laboratorio ha acogido un elevado número de estudiantes y titulados universitarios para la realización de prácticas formativas, sin embargo, durante este año sólo se ha podido hacer frente a la formación de una estudiante debido a la falta de capacidad y tiempo para atender las labores de formación. A continuación se detallan los datos de dicha estudiante.

Nombre	Titulación	Período de Estancia	Convenio	Tareas realizadas
Alegría Montero Ramírez	Grado en Ciencias Ambientales. Universidad Pablo de Olavide	Abril 2016 – Junio 2016	Fundación Universidad Sociedad. Universidad Pablo de Olavide	➕ Preparación de diferentes tipos de muestras para su posterior análisis Isotópico. ➕ Preparación de reactores para la combustión en el Analizador Elemental Flash HT Plus (ThermoScientific).

Tabla 1: Estudiantes/Licenciados que han realizado prácticas en el laboratorio a lo largo de 2016

Para facilitar la adaptación del estudiante a la rutina de trabajo del laboratorio el primer día se les entrega un cuadernillo de prácticas que recoge normas básicas de prevención de riesgos laborales en el laboratorio, conceptos básicos de isótopos estables y bibliografía específica sobre sus aplicaciones en ecología, geología e hidrología, así como una serie de plantillas que el alumno deberá ir rellenando con los datos del proyecto específico que se le haya asignado y la metodología para el procesado de las muestras.

4. ESTADÍSTICASDE USO

En el año en curso se han recibido y procesado un total de 62 solicitudes de análisis (proyectos de muestras orgánicas sólidas), cada una de ellas incluyendo un número variable de muestras. Durante 2016 hemos tenido que rechazar algunas solicitudes de análisis tanto procedentes de nuestro centro como de otros institutos, aunque siempre las solicitudes internas han sido prioritarias.

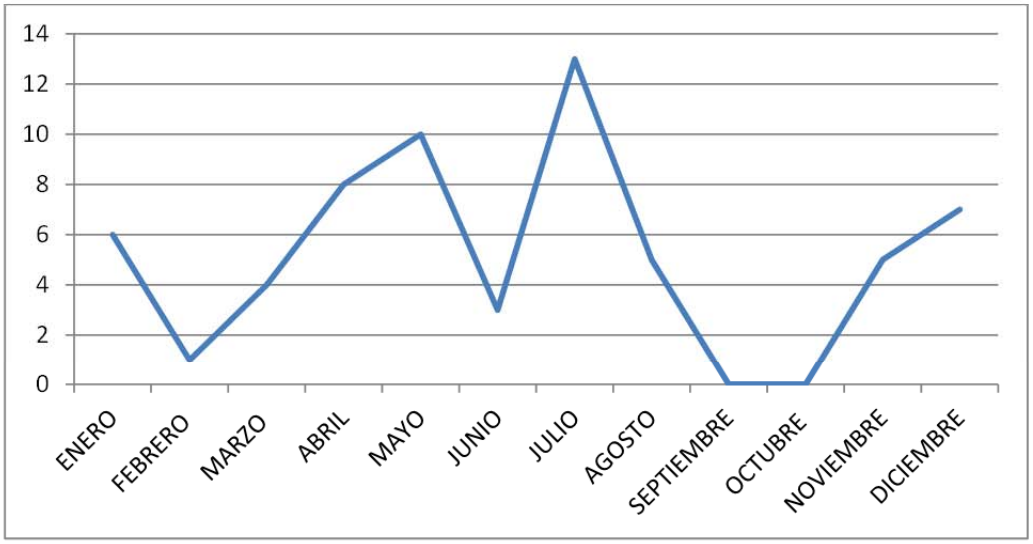


Fig. 4. Se indica el número de solicitudes de análisis de muestras orgánicas sólidas recibidas mensualmente y su evolución en 2016. Cada solicitud de análisis incluye un número de muestras variables.

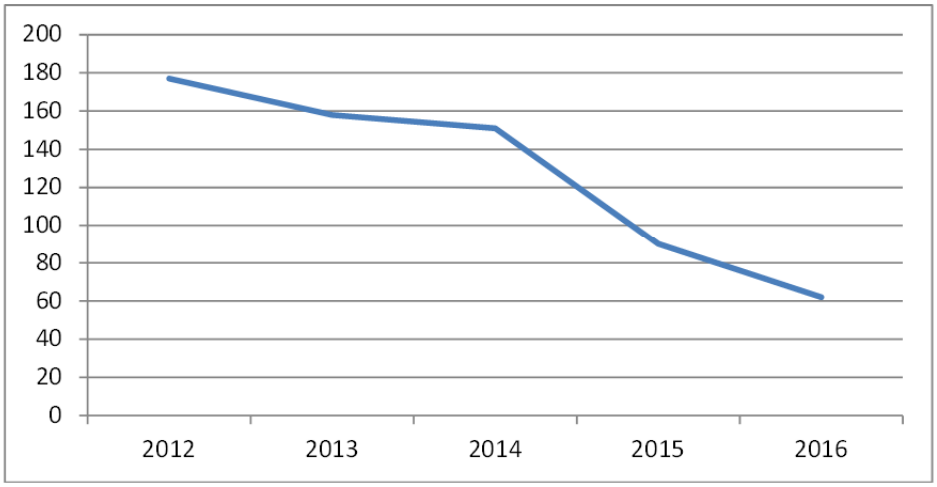


Fig. 5. Se indica la evolución en el número de solicitudes de análisis de muestras orgánicas sólidas desde el comienzo de actividad del LIE

En la siguiente tabla se especifica el número total de análisis individuales realizados por mes. Destacar que la ausencia de análisis durante los meses de septiembre y octubre coincidió con una avería importante del equipo. El mes de octubre coincidió con las vacaciones del personal y el periodo de espera mientras el proveedor del equipo solucionó el problema técnico. Al no disponer de contrato de mantenimiento la respuesta de Thermo no es inmediata, puesto que dan prioridad a la atención de aquellos clientes que tienen formalizado algún tipo de contrato de mantenimiento.

MES	***TOTAL MUESTRAS***
ENERO	363
FEBRERO	28
MARZO	194
ABRIL	420
MAYO	554
JUNIO	178
JULIO	689
AGOSTO	430
SEPTIEMBRE	0
OCTUBRE	0
NOVIEMBRE	254
DICIEMBRE	227
TOTAL	3337

Tabla 2: Número de muestras analizadas por mes

Muestras	**$\delta^{15}N/\delta^{13}C$ ó$\delta^{2}H/\delta^{18}O$ (sólidos)**	**$\delta^{2}H/\delta^{18}O$ (líquidos)**	**$\delta^{34}S$**
Nº de Muestras	2931	281	125

Tabla 3: Se indica, para cada uno de los isótopos y tipo de muestra, el número de análisis realizados en el 2016

Hay que tener en cuenta que el rendimiento de los analizadores es mayor al número de muestras analizadas. En el procedimiento de análisis en muestras orgánicas sólidas, y como norma general, se incluyen 3 estándares cada 9 muestras reales, por lo que en una solicitud el 25% de los análisis son patrones. Los valores de estos patrones se usan como referencia para corregir los valores isotópicos obtenidos en las muestras. De igual forma para el procedimiento de análisis de muestras líquidas cada 32 muestras se incluyen un total de 22 estándares.

En la tabla 4 citamos a todos los usuarios que hemos tenido durante este año, algunos de ellos se incorporan en 2016 como nuevos usuarios para el LIE y otros ya lo eran en años previos

EBD	*OTROS CENTROS DE INVESTIGACION*	*EMPRESA PRIVADA*
Dr. JENNIFER LEONARD	NORWEGIAN POLAR INSTITUTE	NAVARPLUMA S.L
Dr. JAVIER JUSTE	U. LERIDA	HERO S.A
Dr. J. L. TELLA	INSTITUTO PIRENAICO- CSIC	
Dr. CARLOS HERRERA	INSTITUTO DE RECURSOS NATURALES Y AGROBIOLOGIA DE SEVILLA (IRNAS-CSIC)	
Dr. MIGUEL DELIBES	IFAPA (CONSEJERIA DE AGRICULTURA Y PESCA)	
Dr. JOSE ANTONIO DONAZAR	U. CASTILLA LA MANCHA-IREC -CSIC	
ANA POPA (postdoc)	IRTA	
AIRAM RODRIGUEZ (postdoc)	U. ESTAMBUL	
MARCOS MOLEON	U. LAS PALMAS DE GRAN CANARIA	
JOAN GIMENEZ (doctorando)	U. ALMERIA	

Tabla 4: Usuarios 2016, agrupados según institución.

5. WEB DEL LIE

Fig. 5. Imagen de la web del laboratorio

Nuestra web constituye una importante herramienta para la divulgación de los servicios ofrecidos y trabajos realizados. A través de ella los usuarios pueden descargarse todo el material necesario para el acceso al laboratorio y las solicitudes de análisis.

El incremento de visitas y países visitantes coincide con el lanzamiento de nuestra web en su versión en inglés a comienzos del año 2014. En estos momentos estamos optimizando dicha página incluyendo nueva información y también documentos que faciliten la labor al usuario, como pueden ser los protocolos relacionados con las diferentes metodologías para la preparación de muestras.

6. DESARROLLO DE PATRONES. ESTANDARES INTERNACIONALES

Durante el 2014 se amplió la lista de patrones, tanto internacionales como internos, de forma que en el año 2016 el LIE cuenta con 26 patrones internacionales comprados a la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA) y a la Sociedad Geológica Americana (USGS), 14 materiales de referencia cedidos por el Laboratorio de Isótopos Estables del InstitutoAndaluz de Ciencias de la Tierra (IACT) de Granada, y "TheStableIsotopeHydrology and EcologyResearchLaboratory" (EnvironmentCanada, Canada), y 13 patrones internos desarrollados por el propio laboratorio, incluidos los dos materiales de queratina utilizados como patrones en las mediciones diarias de d^2H que nos permite medir de forma adecuada los isótopos de d^2H, y nos convierte en uno de los pocos laboratorios de España que lo hacen

PATRÓN	SUMINISTRADOR	MATERIAL
GISP	IAEA	Agua
VSMOW2	IAEA	Agua
SLAP2	IAEA	Agua
IAEA-CH-3	IAEA	Celulosa
IAEA-CH-6	IAEA	Sacarosa
IAEA-CH-7	IAEA	Polietileno
NBS-22	IAEA	Aceite
IAEA-N-1	IAEA	Sulfato de Amonio
IAEA-N-2	IAEA	Sulfato de Amonio
IAEA-NO-3	IAEA	Nitrato de Potacio
USGS-34	IAEA	Nitrato de Potacio
IAEA-S-1	IAEA	Sulfuro de Plata
IAEA-S-2	IAEA	Sulfuro de Plata
IAEA-S-3	IAEA	Sulfuro de Plata
NBS-127	IAEA	Sulfato de Bario
IAEA-600	IAEA	Cafeína
IAEA-601	IAEA	Ácido Benzoico
NBS18	IAEA	CaCO3
LSVEC	IAEA	Carbonato de Litio
IAEA-305	IAEA	Sulfato de Amonio
IAEA-310	IAEA	UREA
USGS-40	USGS	L-glutamicacid
USGS-41	USGS	L-glutamicacid
USGS42	USGS	Tibetan human hair
USGS43	USGS	Indian human hair
CBS	EnvironmetCanada	Caribou Hoof (casco de reno)
KHS	EnvironmetCanada	KuduHorn (cuerno antílope)
LGR-1	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-2	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-3	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-4	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-5	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-1A	LGR	Agua
LGR-2A	LGR	Agua
LGR-3A	LGR	Agua
LGR-4A	LGR	Agua
LGR-5A	LGR	Agua
EEZ-20	Antonio Delgado (IACT)	Sacarosa
UR-05	Antonio Delgado (IACT)	UREA
EEZ-1	Antonio Delgado (IACT)	Calcita
EEZ-10	Antonio Delgado (IACT)	Calcita
LIE-1	Interno	Agua Milli-Q de la EBD
LIE-2	Interno	Agua Milli-Q evaporada
LIE-3	Interno	Agua Milli-Q evaporada
LIE-U-21	Interno	UREA
LIE-P-22	Interno	PROTEÍNA
LIE-SF-23	Interno	SORGHUM FLOUR
LIE-C-24	Interno	COLÁGENO
LIE-BB	Interno	BARBA DE BALLENA
LIE-CV	Interno	CUERNO DE VACA de la Reserva
EK	Interno	SpectrumKeratin
LIE-PA	Interno	PLUMA DE ALCA
LIE-PA2	Interno	PLUMA DE ALCA
LIE-AL	Interno	PLUMA DE ALCATRAZ

Tabla 5: Relación de patrones internacionales e internos disponiblesy usados en el laboratorio

7. LABORES DE INVESTIGACIÓN PROPIA DEL LABORATORIO

En el laboratorio se venían desarrollando diferentes experimentos para responder algunas preguntas metodológicas concretas que iban surgiendo durante el desarrollo de nuestro trabajo diario, actividad que ha sido suspendida durante el 2016.

Uno de estos experimentos era determinar cuál sería la mejor forma de secar las muestras de queratina antes de ponerlas a medir, para el análisis de d^2H y $d^{18}O$, y cómo afectan éstas a los valores isotópicos, además de obtener un valor isotópico para los estándares internacionales IAEA-CH-7 y NBS-22 exclusivo para los análisis de d^2H en queratina. Como resultado de este experimento, obtuvimos los valores antes mencionados para IAEA-CH-7 y NBS-22 y desechamos la primera forma de secado, pero el experimento queda incompleto y poco concluyente, ya que es necesario repetirlo con las cápsulas sin cerrar para corroborar los resultados y obtener conclusiones definitivas.

Otra actividad también suspendida por falta de personal cualificado es intentar obtener y calibrar con la ayuda de otros laboratorios internacionales algunos materiales de referencia para el uso diario del laboratorio que no sean necesarios pesar.

Aunque ahora mismo no podemos atender a este tipo de actividades, esperamos que en un futuro próximo cuando se consolide el personal del laboratorio, seguiremos avanzando en estos aspectos metodológicos.

8. PRODUCCIÓNCIENTÍFICA. PARTICIPACIÓN EN EVENTOS. CURSOS

Se detallan las publicaciones producidas durante 2016 a partir de muestras analizadas en el laboratorio.

Amor, F., Villalta, I. Doums, C., Angulo, E., Caut, S., Castro, S., Jowers, M.J., Cerdá, X., Boulay, R. 2016. Nutritionalversus genetic correlates of caste differentiation in a desert ant. *Ecological Entomology*DOI: 10.1111/een.12337.

Coccia, C., Fry, B., Ramírez, F., Boyero, L., Bunn, S.E., Diz-Salgado, C., Walton, M., Le Vay, L. Green, A.J. 2016. Niche partitioning between invasive and native corixids (Hemiptera, Corixidae) in south-west Spain.AquatSci (2016) 78:779–791
DOI 10.1007/s00027-016-0469-0

Chiaradia, A., Ramírez, F., Forero, M.G., Hobson, K.A. 2016. Stable isotopes (δ13C, δ15N) combined with conventional dietary approaches reveal plasticity in central-place foraging behaviour of little penguins *Eudyptula minor*. *Frontiers in Ecology and Evolution* 3:154.doi:10.3389/fevo.2015.00154

Giménez, J., Ramírez, F., Almunia, J., Forero, M.G., de Stephanis, R. 2016. From the pool to the sea: Applicable isotope turnover rates and diet to skin discrimination factors for bottlenose dolphins (*Tursiopstruncatus*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 475: 54-61. doi:10.1016/j.jembe.2015.11.001

El total de publicaciones generadas a partir de muestras analizadas en el LIE se pueden consultar en la página web del mismo, tanto en la sección de publicaciones, como las más recientes en la sección de noticias.

9. PROYECCIÓN, RETOS Y NECESIDADES FUTURAS

Aunque a lo largo de estos años de funcionamiento podemos asegurar que se han alcanzado los retos de servicio y funcionamiento inicialmente establecidos y enmarcados dentro del proyecto de EcoGenes que financió parcialmente la creación del laboratorio, tenemos que decir a modo de conclusión, que 2016 no ha sido el mejor año en cuanto a actividad del LIE. Sin embargo, nuestra intención es seguir avanzando para dar un servicio de calidad y contribuir activamente al desarrollo de la metodología analítica de los isótopos estables para una aplicación fructífera en investigaciones ecológicas. Para poder mantener un servicio de calidad en el laboratorio, necesitamos además de dedicación, una dotación de personal cualificada adecuada y también contar con unas garantías de mantenimiento y reparación del equipamiento del LIE. La deficiencia de personal cualificado durante 2016 ha causado el retraso en la entrega de resultados, disminución en la capacidad analítica del laboratorio y por tanto de los ingresos, así como la interrupción de la actividad investigadora, formativa e innovadora (desarrollo de estándares, estimas de tasas de fraccionamiento en agua, formación de estudiantes en prácticas, etc) del propio laboratorio. Para poder seguir dando un servicio de calidad es imprescindible que la inversión se realice no sólo en infraestructuras sino en personal especializado.

La labor formativa durante 2016 se suspenderá quedando relegada a asesoramiento científico y técnico a los usuarios, por parte del investigador responsable y el personal técnico del LIE, respectivamente

Dentro de las actividades del laboratorio que han tenido un gran impacto internacional, están los cursos sobre aplicaciones de isótopos estables en ecología llevados a cabo durante años anteriores a 2016. Desde el laboratorio, consideramos que aunar esfuerzos para convocar un nuevo curso organizado durante 2017, sería de gran importancia para mantener y potenciar el prestigio de este servicio tanto a nivel nacional como internacional.

Para poder llegar a cumplir de forma satisfactoria los retos del laboratorio a corto plazo es indispensable contar con una mínima estabilidad laboral de los técnicos del mismo, así como ofrecer oportunidades de formación que permitan mantener un servicio de calidad y hacer frente a las solicitudes de análisis internas y externas, que a su vez aseguren el mantenimiento del elevado nivel de producción científica asociado al laboratorio.

Durante 2017, y si no hay nuevas incorporaciones de personal, la dotación de personal queda con Susana Carrasco como técnico del LIE, Sarai López, como técnico de apoyo contratado dentro del programa de Garantía Juvenil a cargo de Manuela G. Forero, y cedida temporalmente al LIE por dicho investigador, y el investigador responsable del Laboratorio. El reparto de funciones queda especificado en la página web del LIE y a la vez se ha informado a los usuarios a través de un correo electrónico.

Para finalizar insistimos en la importancia de dar estabilidad al personal del LIE, así como la necesidad cuando las condiciones económicas del centro lo permitan, de formalizar un contrato de mantenimiento mínimo para el IRMS, para evitar situaciones como las acontecidas durante el 2016, donde el analizador elemental ha sufrido distintas averías que no han podido ser solventadas por el personal técnico, lo que ha provocado un retraso considerable en los plazos establecidos de entrega de resultados.