

Técnicas de monitoreo para ambientes lénticos de la Argentina



Ministerio de Ambiente
y Desarrollo Sostenible
Argentina

CONICET



REM.AQUA

Red de Evaluación y Monitoreo
de Ecosistemas Acuáticos

Técnicas de monitoreo para ambientes lénticos de la Argentina

Adonis Giorgi
Eduardo Domínguez
Nora Gómez

Compiladores

Gómez, Nora

Técnicas de monitoreo para ambientes lénticos de la Argentina / Nora Gómez ; compilación de Nora Gomez. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Consejo Nacional Investigaciones Científicas Técnicas - CONICET, 2023.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga

ISBN 978-950-692-211-5

1. Ecosistemas. 2. Cuencas Fluviales. 3. Técnicas de Medición. I. Título.
CDD 577.0982

© 2023 CONICET

Godoy Cruz 2290 (C1425FQB) CABA – República Argentina – <https://www.conicet.gov.ar> ; info@conicet.gov.ar; Tel (+54 11) 4899 5400

© 2023 Adonis Giorgi

© 2023 Eduardo Domínguez

© 2023 Nora Gómez

Idea y dirección general del proyecto:

Adonis Giorgi

Eduardo Domínguez

Nora Gómez

Foto de tapa:

Mallín verde en Meseta de Somuncurá, Río Negro, Argentina. Pablo Macchi

Fotos de carátulas:

Laguna de Chascomús, Buenos Aires, Argentina. Horacio Zagarese

Vega de altura en el valle del río de las Taguas, San Juan, Argentina. Pablo Macchi

Lago Masecardi, Río Negro, Argentina. Esteban Balseiro

Diseño, producción editorial y digital:

Silvina Simondet

Diagramación:

Flavio Maddalena

No se permite la reproducción total o parcial de este libro, ni su almacenamiento en un sistema informático, ni su transmisión cualquier forma o por cualquier medio, electrónico, mecánico, fotocopia u otros métodos, sin el permiso previo del editor. Su infracción está penada por las leyes 11.723 y 25.446. Se permiten citar en artículos críticos o reseñas, sin fines comerciales de la siguiente manera: Adonis Giorgi, Eduardo Domínguez y Nora Gómez (Comps.) 2023. *Técnicas de monitoreo para ambientes lénticos de la Argentina*. REM.AQUA (Red de Evaluación y Monitoreo de Ecosistemas Acuáticos), Conicet.



Autoridades

Presidente de la Nación

Javier Gerardo Milei

Jefe de Gabinete de Ministros

Nicolás José Posse

Ministro del Interior

Guillermo Francos

Secretaría de Innovación,
Ciencia y Tecnología

Secretario de Innovación,
Ciencia y Tecnología

Lic. Alejandro Cosentino

Secretaría de Turismo,
Ambiente y Deportes

Secretario de Turismo,
Ambiente y Deportes

Daniel Osvaldo Scioli

Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Técnicas

Presidente

Dr. Daniel Felipe Salamone

Subsecretaria de Ambiente

Ana María Vidal de Lamas

Vicepresidente de Asuntos Científicos

Dra. Claudia Capurro

Vicepresidente de Asuntos
Tecnológicos

Dr. Alberto Baruj

Gerente de Desarrollo
Científico y Tecnológico

Prof. Liliana Sacco

Directora de Convenios y Proyectos

Dra. Patricia Maccagno

Prólogo

Adonis Giorgi
Eduardo Domínguez
Nora Gómez
Compiladores

Ray Bradbury, destacado autor de ciencia ficción supo afirmar que para lograr cualquier objetivo, primero hay que imaginarlo y soñarlo. Durante años, los profesionales dedicados al estudio y conservación de los ambientes acuáticos anhelaron contar con libros técnicos que fueran útiles para los responsables de gestionar y monitorear los ambientes acuáticos. Libros que puedan servir de referencia y de puesta en común para los investigadores científicos, pero que sirvan de guía para incorporar aspectos de biomonitoreo a la vigilancia, gestión y conservación de los sistemas acuáticos.

En 2020 tuvimos la posibilidad de editar un libro (La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina) donde participaron más de 40 autores de distintas universidades e instituciones de investigación de Argentina para recopilar los conocimientos y aplicaciones de estudios realizados por grupos de trabajo de distintas regiones del país. Ese libro permitió conocer y difundir numerosos estudios realizados en nuestro país sobre la temática de la bioindicación y otros aspectos vinculados a ésta

En 2021 logramos, que del trabajo de un número aún mayor de autores se pudiera editar el libro de Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de Argentina que reúne un conjunto de protocolos y fundamentos para el estudio de ríos y arroyos, utilizando variables físicas, químicas y biológicas. Estas últimas asociadas particularmente a las algas y a los invertebrados.

En este nuevo libro, pretendemos enfocarnos en las técnicas a aplicarse en el estudio de los ecosistemas lénticos. Para ello convocamos a tres editores temáticos que realizaron un aporte fundamental en sus áreas de mayor especialidad y promovieron la participación de numerosos especialistas en el estudio de las distintas comunidades

presentes en cada tipo de ambiente léntico, así como de las particularidades de su estudio.

Por ello, este libro se divide de manera arbitraria en tres secciones temáticas: Lagos someros, Lagos profundos y Humedales de altura. Dado que hay técnicas comunes a todos esos ambientes, hemos establecido vínculos para que los lectores puedan acceder a explicaciones complementarias o técnicas generales y poder diseñar así un sistema de monitoreo sin tener que conocer todas las técnicas que se desarrollan en el libro. Por otro lado, se ha reunido un conjunto de técnicas específicas de cada ambiente o comunidad que los lectores pueden consultar e incorporar en el momento que lo consideren adecuado.

Todos los autores han realizado un destacado esfuerzo de síntesis de sus conocimientos para que cada capítulo sea un compendio del estado del arte y las posibilidades de aplicación de cada una de las técnicas desarrolladas, y puedan así servir de puente entre la investigación científica y la aplicación por parte de quienes lo requieran. Creemos que este libro además, complementa con nuevas técnicas a aquel inspirador y muy vigente: Ecosistemas de aguas continentales. Ediciones Sur dirigido por los Dres. Estela Lopretto y Guillermo Tell.

Por todas estas razones, sumadas al trabajo conjunto de investigadores de diferentes regiones, especializados en distintas temáticas y, la posibilidad de que sea un trabajo accesible para personal técnico, gestores, legisladores, políticos e investigadores, es que ser parte de la gestación de esta obra, nos llena de orgullo y satisfacción. Al mismo tiempo también de gratitud por todos los autores y revisores que dedicaron su tiempo y esfuerzo para completar esta triada, que resume en gran parte el conocimiento e información disponible para nuestro país.

Prólogo

REM-AQUA

Nora Gómez

Coordinadora Científica

Este libro, que trata sobre “Técnicas para ambientes lenticos de la Argentina”, es una nueva contribución desarrollada en el marco de la Red de Evaluación y Monitoreo de Ecosistemas Acuáticos (REM-AQUA); la cual surge de una iniciativa colaborativa entre el CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) y el MAgDS (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible).

Esta publicación fue diseñada atendiendo las demandas de aquellos responsables de la conservación y gestión de los ecosistemas lénticos (lagos, lagunas, mallines, entre otros) diseminados en distintas ecorregiones del país. Los lectores encontrarán en sus páginas una guía detallada y práctica que abarca desde los fundamentos básicos hasta las técnicas más avanzadas de estudio y

monitoreo de estos ambientes acuáticos. A través de su aplicación se podrán analizar procesos biológicos, fisicoquímicos y del hábitat que influyen en la calidad del agua, la biodiversidad y la salud general de estos ecosistemas.

Desde la REM-AQUA deseamos que esta publicación, que se suma a otras realizadas por los diferentes grupos de trabajo que integran la red, contribuya a establecer las bases para evaluar los cuerpos de agua de Argentina en un marco de consensos entre el ámbito académico y el de la gestión. Contar con esta alianza favorecerá significativamente a la conservación y sostenibilidad de los ecosistemas acuáticos en Argentina, un objetivo crucial para garantizar la salud de estos entornos, la biodiversidad que albergan y la disponibilidad de agua para la sociedad.

Autores

Luz Allende

CONICET, Universidad Nacional de General Sarmiento

Esteban Balseiro

Laboratorio de Limnología, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Bariloche, Argentina

Marcela Bastidas Navarro

Laboratorio de Limnología, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Bariloche, Argentina

Demetrio Boltovskoy

Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) – Universidad de Buenos Aires-CONICET

Daniel Cataldo

Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) - Universidad de Buenos Aires -CONICET.

Florencia Cuassolo

Laboratorio de Limnología, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medio Ambiente (INIBIOMA), CONICET-Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, Argentina

Griselda Chaparro

Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) - Universidad de Buenos Aires -CONICET.

Eduardo Domínguez

Instituto de Biodiversidad Neotropical (IBN). CONICET – Universidad Nacional de Tucumán; Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo.

Nadia Diovisalvi

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) (CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Bio y Nanotecnologías (Universidad Nacional de San Martín). Chascomús Buenos Aires

Luis Beltrán Epele

Centro de Investigación Esquel de Montaña y Estepa Patagónica (CIEMEP) (CONICET-Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco), Esquel, Chubut, Argentina

María Soledad Fontanarrosa

Instituto Multidisciplinario sobre Ecosistemas y Desarrollo Sustentable (ECOSISTEMAS) (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires - CICPBA). CONICET

Diego Frau

Instituto Nacional de Limnología (INALI) (CONICET-Universidad Nacional del Litoral). Ciudad Universitaria, Paraje El Pozo, Santa Fe.

Maira Patricia Gayol

Instituto de Astronomía y Física del Espacio (IAFE) (CONICET-Universidad de Buenos Aires); Instituto de Investi-

gación e Ingeniería Ambiental (IIIA-CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Hábitat y Sostenibilidad (Universidad Nacional de San Martín); Cátedra de Acuicultura, Departamento de Producción Animal (Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires), Buenos Aires, Argentina.

Adonis David Nazareno Giorgi

Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES) (Universidad Nacional de Luján-CONICET); Departamento de Ciencias Básicas-Universidad Nacional de Luján.

Nora Gómez

Instituto de Limnología Dr. Raúl A. Ringuelet (ILPLA) (CONICET-Universidad Nacional de La Plata).

Irina Izaguirre

Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) – Universidad de Buenos Aires-CONICET.

Leonardo Lagomarsino

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) (CONICET) (Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Bio y Nanotecnologías (Universidad Nacional de San Martín). Chascomús, Buenos Aires

Cecilia Laspoumaderes

Laboratorio de Limnología (INIBIOMA) (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Bariloche, Argentina

Alejandro López

Instituto de Astronomía y Física del Espacio (IAFE) (CONICET-Universidad de Buenos Aires); Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental (IIIA-CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Hábitat y Sostenibilidad (Universidad Nacional de San Martín); Cátedra de Acuicultura, Departamento de Producción Animal (Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires), Buenos Aires, Argentina.

María Eugenia López

Centro Austral de Investigaciones Científicas (CADIC-CONICET). Administración de Parques Nacionales (APN)

Adriana Mabel Kutschker

Centro de Investigación Esquel de Montaña y Estepa Patagónica (CIEMEP) (CONICET-Universidad de la Patagonia San Juan Bosco), Esquel, Chubut, Argentina; Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Sede Esquel, Esquel, Chubut, Argentina

Pablo Macchi

Universidad Nacional de Río Negro, Instituto de Investigación en Paleobiología y Geología (IIPG) (CONICET-Universidad Nacional de Río Negro), General Roca, Río Negro, Argentina.

Luz María Manzo

Centro de Investigación Esquel de Montaña y Estepa Patagónica (CIEMEP) (CONICET-Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco), Esquel, Chubut, Argentina

María Cristina Marinone

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires

Nicolás Martyniuk

Laboratorio de Limnología, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (CONICET-Universidad Nacional del Comahue). Bariloche, Río Negro, Argentina.

Elizabeth Mazzoni

Unidad Académica Río Gallegos, Universidad Nacional de la Patagonia Austral (UARG – UNPA), Río Gallegos, Argentina

Beatriz Modenutti

Laboratorio de Limnología Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (CONICET-Universidad Nacional del Comahue), Bariloche, Argentina

Natalia Soledad Morandeira

Instituto de Astronomía y Física del Espacio (IAFE) (CONICET-Universidad de Buenos Aires); Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental (IIIA-CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Hábitat y Sostenibilidad (Universidad Nacional de San Martín); Cátedra de Acuicultura, Departamento de Producción Animal (Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires), Buenos Aires, Argentina.

Gonzalo Luis Pérez

GESAP (Grupo de Ecología de Sistemas Acuáticos a Escala de Paisaje), Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (Universidad Nacional del Comahue- CONICET), Bariloche, Argentina.

Juliana Ospina-Serna

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) (CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Bio y Nanotecnologías (Universidad Nacional de San Martín). Chascomús, Buenos Aires

Haydée Norma Pizarro

Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) – Universidad de Buenos Aires-CONICET.

María Victoria Quiroga

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) (CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Bio y Nanotecnologías (Universidad Nacional de San Martín). Chascomús, Buenos Aires.

María Laura Sánchez,

Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) (Universidad de Buenos Aires-CONICET).

Fernando Unrein

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) (CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Bio y Nanotecnologías (Universidad Nacional de San Martín). Chascomús, Buenos Aires

María Solange Vera

Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA) (UBA-CONICET).

Horacio Zagarese

Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH) (CONICET-Universidad Nacional de San Martín), Escuela de Bio y Nanotecnologías (Universidad Nacional de San Martín). Chascomús, Buenos Aires

Índice

7 **Prólogo**

9 **Prólogo**

10 **Autores**

TÉCNICAS DE MONITOREO EN AMBIENTES LÉNTICOS SOMEROS

19 **Características ambientales de la ecorregión pampeana y sus ambientes lénticos someros**

19 Características geológicas y climáticas de la ecorregión Pampeana:

20 Cambio en el uso de la tierra en la región:

20 Características generales de las lagunas pampeanas:

25 **Medición de parámetros morfométricos en cuerpos de agua lénticos**

25 Longitud máxima total (LMT)

25 Longitud máxima efectiva (LME)

25 Ancho máximo total (AMT)

25 Ancho máximo efectivo (AME)

25 Ancho medio (AM)

26 FETCH

26 Perímetro o longitud de línea de costa (p)

27 Desarrollo de línea de costa (DLC)

27 Área (a)

30 Batimetría

31 Volumen

32 Utilización de programas de computación para obtención de parámetros morfométricos

35 **Metodologías de análisis fisicoquímicos**

35 Muestreo

35 Extracción de muestras

36 Mediciones en el laboratorio

36 Determinación de los compuestos de fósforo

36 Determinación de los compuestos de nitrógeno

37 Determinación de los sólidos totales suspendidos

37 Determinación de clorofila a fitoplanctónica

37 Determinación de la alcalinidad del agua

37 Aplicación de índices de estado trófico

40 **Análisis de la transparencia de las aguas y variables ópticas asociadas**

40 Consideraciones Generales

40 Importancia de la atenuación de la luz

40 Medición de la irradiancia bajo el agua y cálculo del coeficiente de atenuación difuso

42 Mediciones de los coeficientes de absorción y dispersión de la luz

42 Coeficientes de absorción

43 Absorción de las sustancias orgánicas disueltas cromofóricas (CDOM)

44 Absorción de las sustancias particuladas en suspensión (fitoplancton y detrito)

44 Coeficientes de dispersión

46 **Metodología para el estudio del fitoplancton y principales grupos funcionales en lagunas pampeanas**

46 Introducción

46 Extracción de muestras y su preservación

54 Índices de calidad del agua basados en el fitoplancton

60 **Zooplancton: técnicas de muestreo y análisis**

60 Introducción

61 Consideraciones sobre el diseño del muestreo

62 Materiales de campo y laboratorio

62 Muestreo en campo

63 Lista de equipo y materiales de laboratorio

71 **Anexo I: Identificación taxonómica del zooplancton**

71 Diversidad taxonómica del zooplancton

71 Copépodos

74 Cladóceros

75 Rotíferos

78	Metodología para el estudio del picoplancton y el nanoplancton
78	Consideraciones generales
79	Microscopía de epifluorescencia
81	Citometría de flujo
87	Métodos de muestreo y estudio de las comunidades bentónicas
87	Clasificación por tipo de organismos
87	1. Clasificación por clase de tamaño
89	2. Clasificación según la posición en el sustrato
99	Macrófitas acuáticas: formas de vida y metodologías para su relevamiento
99	¿Qué son las macrófitas acuáticas?
99	Importancia de las macrófitas en los ecosistemas
100	Formas de vida de las macrófitas
101	Especies de macrófitas acuáticas en lagunas pampeanas
103	Metodologías para el relevamiento de macrófitas
104	Diseño de la planilla de campo
104	Tamaño y forma de la unidad de muestreo
106	Elección de los puntos de muestreo dentro del cuerpo de agua
106	Extensión del muestreo por cuerpo de agua
107	Frecuencia temporal de los muestreos
107	Estimación de la abundancia-cobertura de las especies
108	Estimación de biomasa
109	Recuadro 1. Elección de cuerpos de agua a relevar
110	Recuadro 2. Nociones básicas de recolección y herborización de macrófitas acuáticas
114	Los macroinvertebrados asociados a macrófitas acuáticas: su metodología de estudio
117	Muestreo de macroinvertebrados epifíticos
118	Metodología de muestreo general
127	Comunidad perifítica de ambientes lénticos someros
127	Introducción
128	Metodología de estudio

BIOMONITOREO DE HUMEDALES PATAGÓNICOS Y ANDINOS

137	Humedales: los mallines y las vegas de altura
141	Evaluación geomorfológica de degradación en mallines
141	Objetivo
141	Campo de aplicación
141	Fundamentación
141	Características generales de los ecosistemas de mallines e indicadores de degradación física y erosión
142	Manchones de suelo desnudo
142	Salinización
143	Compactación de suelo
143	Cubetas
143	Mojones
143	Terracetos de solifluxión
143	Escarpas
143	Profundización de cárcavas
146	Metodología de análisis
150	Anexo 1. Ficha de campo sugerida
151	Metodologías de estudio del fitoplancton en humedales de sistemas áridos y semi-áridos.
151	Introducción
154	Colecta de muestras
156	Uso de redes
157	Contenedores, preservación, etiquetado y transporte
158	Etiquetado
158	Transporte
159	Metodologías de conteo de organismos
160	Análisis complementarios
162	Identificación de especies. Uso de claves
162	Índices de calidad de agua que usan al fitoplancton como indicador
163	Clasificaciones morfofuncionales para la indicación de la calidad del agua
165	Valoración de la condición ecológica de los humedales patagónicos mediante la utilización de plantas acuáticas
165	Objetivo
165	Vegetación asociada a los mallines
166	Materiales y métodos para el muestreo de macrófitas asociadas a mallines

168	Acondicionamiento de las plantas para la confección de un herbario
168	Identificación de plantas acuáticas asociadas a mallines
175	Anexo A. Planilla de campo para la caracterización de los humedales patagónicos.
177	Anexo B. Planilla de campo para el muestreo cuantitativo de macrófitas asociadas a mallines patagónicos
179	Anexo C. Composición florística de mallines patagónicos, Argentina.
184	Evaluación de la integridad ecológica de humedales patagónicos y andinos mediante macroinvertebrados
184	Objetivo
184	Introducción
184	Recomendaciones
185	Determinación de biotopos
185	Muestreo de macroinvertebrados
188	Separación y determinación del material
190	Evaluación de la integridad ecológica
195	Anexo 1 Planilla de campo
196	Anexo 2 Clave pictórica para la determinación de principales grupos de macroinvertebrados.

TÉCNICAS DE MONITOREO EN AMBIENTES LÉNTICOS PROFUNDOS

199	Distribución de parámetros físicos y químicos en lagos profundos (profundidad máxima mayor a 50 m)
199	Introducción
200	Temperatura
201	Luz
205	Distribución del oxígeno disuelto en la columna de agua y reserva de oxígeno en lagos profundos
205	Introducción
206	Reserva de Oxígeno
209	Biomonitoreo empleando el fitoplancton en lagos profundos
209	Distribución de la clorofila en la columna de agua: mediciones <i>in situ</i>
214	Nivel del máximo de clorofila e índices de calidad de agua
218	Muestreo del zooplancton en lagos profundos
223	La vegetación de ribera y litoral en lagos profundos andino-patagónicos
223	Introducción
225	Disturbios e impactos
226	Muestreo de vegetación de costa
228	Índice de calidad de ribera en lagos profundos
229	Índice de calidad de riberas
235	Muestreo de bentos
235	Protocolo de muestreo



Laguna de Chascomús, Buenos Aires, Argentina. Horacio Zagarese

[◀ volver al índice](#)

PRIMERA SECCIÓN

TÉCNICAS DE MONITOREO EN AMBIENTES LÉNTICOS SOMEROS

Editora temática: **Irina Izaguirre**

Capítulo 1: Características ambientales de la ecorregión pampeana y sus ambientes lénticos someros. **Irina Izaguirre y Horacio Zagarese**

Capítulo 2: Medición de parámetros morfométricos en cuerpos de agua lénticos. **Demetrio Boltovskoy, Daniel Cataldo, Irina Izaguirre**

Capítulo 3: Metodologías de análisis fisicoquímicos. **Leonardo Lagomarsino**

Capítulo 4: Análisis de la transparencia de las aguas y variables ópticas asociadas. **Gonzalo Luis Pérez**

Capítulo 5: Metodología para el estudio del fitoplancton y principales grupos funcionales en lagunas pampeanas. **Irina Izaguirre, María Laura Sánchez, Luz Allende**

Capítulo 6: Zooplancton: técnicas de muestreo y análisis. **Griselda Chaparro, Nadia Diovisalvi y María Cristina Marinone**

Capítulo 7: Metodología para el estudio del picoplancton y el nanoplancton. **Fernando Unrein, María Victoria Quiroga y Juliana Ospina-Serna**

Capítulo 8: Métodos de muestreo y estudio de las comunidades bentónicas. **Daniel Cataldo**

Capítulo 9: Macrófitas acuáticas: formas de vida y metodologías para su relevamiento. **Maira Patricia Gayol, Natalia Soledad Morandeira y Alejandro López**

Capítulo 10: Los macroinvertebrados asociados a macrófitas acuáticas: su metodología de estudio. **María Soledad Fontanarrosa y María Eugenia Lopez**

Capítulo 11: Comunidad perifítica de ambientes lénticos someros. **Haydée N. Pizarro y María Solange Vera**

CAPÍTULO 1

Características ambientales de la ecorregión pampeana y sus ambientes lénticos someros

Irina Izaguirre y Horacio Zagarese

La metodología que se presenta en esta sección del manual se enfocará principalmente en el monitoreo de los ambientes lénticos someros (lagunas) de la ecorregión “Pampas” definida en el Manual de sistemas lénticos. Gran parte de la metodología fue estandarizada y aplicada por los distintos laboratorios de esta ecoregión que integraron el proyecto de redes PAMPA2, que fuera financiado por CONICET (Izaguirre et al., 2015a).

Sin embargo, cabe señalar que, salvando algunas particularidades dadas por las características propias de cada región, los métodos pueden ser también aplicables al muestreo de otras lagunas someras de nuestro país, localizadas por ejemplo en las ecorregiones Estepa Patagónica, Delta e Islas de los ríos Paraná y Uruguay, Chaco húmedo, Altos andes, etc.

La distinción entre lagos someros y profundos es materia de debate (Padisák and Reynolds, 2003). Sin embargo, una de las características más importantes es el régimen de mezcla. Por regla general, los lagos someros se comportan como **polimícticos**, es decir la columna de agua no presenta estratificación permanente, sino que la mezcla se produce con frecuencia (por ejemplo, casi todos los días), mientras que los lagos profundos de Argentina son mayoritariamente **monomícticos cálidos** (estratifican en los meses cálidos). Esta distinción es importante, porque en los lagos someros la columna de agua y los sedimentos interactúan constantemente, intercambiando gases (O_2 , CO_2) y nutrientes (N, P). Si bien no existe un límite preciso de profundidad para diferenciar ambos tipos de lagos, muchos autores consideran (de manera más o menos arbitraria) que los lagos someros presentan una profundidad máxima de 10 m o bien una profundidad media de 3 metros (Abell

et al., 2012). Estos límites resultan bastante adecuados y abarcan a casi la totalidad de las lagunas pampeanas (Diovisalvi et al., 2015).

Características geológicas y climáticas de la ecorregión Pampeana:

En la Argentina el nombre “Pampas” define a un sistema de unidades geológicas cuaternarias, localizado entre los 30 y los 38 °S, que están constituidas principalmente por limo marrón con una concentración variable de concreciones de $CaCO_3$ (Iriando, 1989). Durante la última glaciación, bajo condiciones áridas y semiáridas y clima más frío, se originaron una serie de formaciones geológicas que luego fueron modificadas al final de la glaciación con el incremento de la temperatura y la humedad que tuvo lugar en los últimos 10.000 años (Zárate & Rabassa, 2005). Como resultado, se originaron suelos fértiles y ricos en nutrientes, compuestos principalmente por loess (Rodríguez Capítulo et al., 2010).

La región Pampeana presenta una marcada estacionalidad térmica y en general su clima fue caracterizado como templado húmedo; sin embargo, la región es heterogénea desde el punto de vista climático, presentando un gradiente en temperatura y humedad (Diovisalvi et al., 2015). De norte a sur, la temperatura media varía entre 20 y 14 °C y desde el noreste hacia el sudoeste, la precipitación media anual disminuye desde los 1000 mm hasta los 400 mm (Viglizzo & Frank, 2006). La región se caracteriza también por una gran variabilidad interanual en el régimen de precipitaciones, alternándose períodos más húmedos y más secos, lo que determina también una gran variación en el número de lagunas (dado que algunas pueden secarse en períodos más secos) y en la superficie total ocupada por lagunas (Diovisalvi et al., 2015).

En las áreas más deprimidas, durante épocas más lluviosas, a menudo el excedente de agua no alcanza a infiltrarse porque el nivel freático está cerca de la superficie, ocurriendo estos excedentes principalmente durante la fase El Niño del ENSO (Scarpati et al., 2007). Contrariamente, durante la fase de La Niña, la tasa de evapotranspiración aumenta en relación a la media histórica (Texeira Soria et al., 2013).

En la ecorregión pampeana, predominan vientos que soplan desde el N y del NO debido al anticiclón del Atlántico Sur, aunque menos frecuentemente se registran vientos del O y SO (Pampero) y del SE (Sudestada); la velocidad media del viento varía entre 10 y 24 km/h, y ocasionalmente pueden generarse ráfagas de viento de 150 y 200 km/h en la parte norte y sur respectivamente (Diovisalvi et al., 2015).

En la Figura 1 se ilustra el mapa de isohietas para la región.

Cambio en el uso de la tierra en la región:

En las últimas décadas la región Pampeana fue una de las que ha sufrido más modificaciones en nuestro país en lo que respecta a los cambios en el uso de la tierra, con sustituciones muy importantes de pastizales naturales por cultivos (e.g. Soriano et al., 1992; Quirós et al., 2006; Diovisalvi et al., 2015). Entre las actividades antrópicas que modificaron el paisaje natural de la región se cuentan principalmente: expansión de la frontera agrícola, ganadería, urbanizaciones,

canalizaciones. Particularmente, el desarrollo de tecnologías más recientes - tales como los cultivos transgénicos, cultivos resistentes al glifosato y la siembra directa- han conducido a una gran expansión de la agricultura. Estos cambios han influido fuertemente en las lagunas, llevando a un aumento de su **eutroficación** y un cambio en su estado de equilibrio o “régimen” hacia un estado de aguas turbias.

Por ejemplo, en las figuras 2 y 3 que se muestran a continuación puede verse el incremento en la superficie cultivada y en la sembrada particularmente con soja.

Características generales de las lagunas pampeanas:

La ecorregión “Pampas” presenta un gran número de cuerpos de agua lénticos someros (lagunas), lo que la convierte en una de las regiones de humedales más importantes de nuestro país. Se contabilizan alrededor de 13.800 lagunas de más de 10 ha, y alrededor de unos 146.000 cuerpos de agua si se incluyen también cuerpos de agua de menor superficie y temporarios (Geraldini et al. 2011). Estos sistemas acuáticos son altamente productivos y prestan numerosos servicios ecosistémicos, entre ellos la pesca comercial y deportiva, la recreación, la provisión de agua, regulación climática, moderación del régimen fluvial (Grosman, 2008). Por su rol en las actividades pecuarias y turísticas tienen gran importancia económica para la región, y muchas de ellas constituyen la fuente de desarrollo de

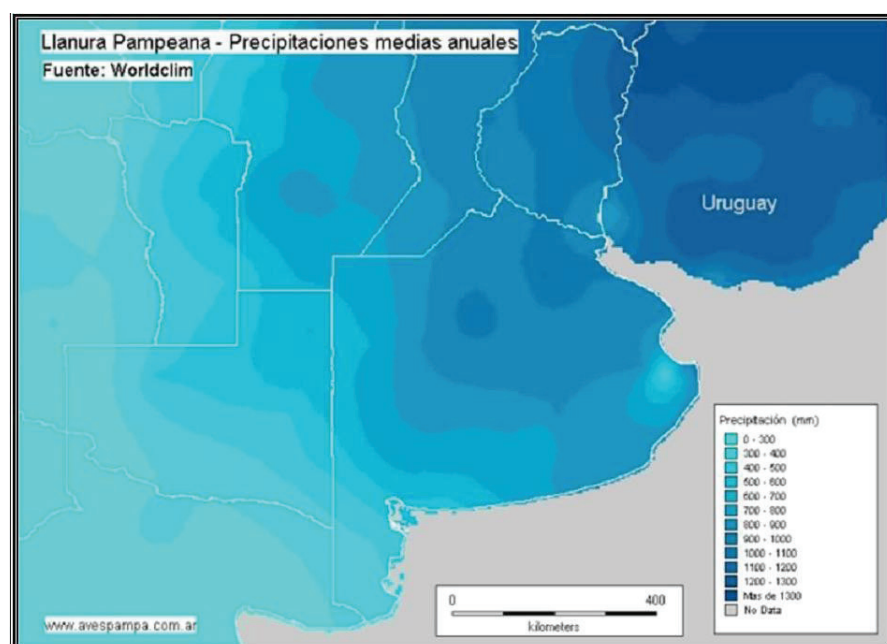


Fig. 1. Mapa de isohietas de la ecorregión Pampeana

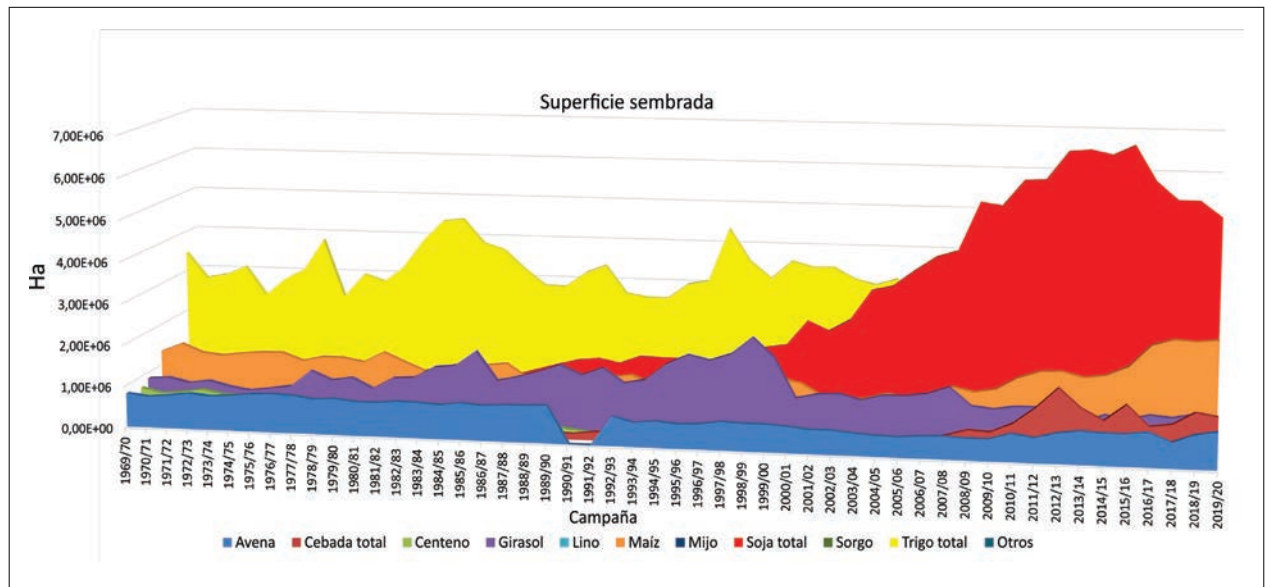


Fig. 2. Cambio en la superficie cultivada (en ha) en la región pampeana desde 1970 a 2020. Figura cedida por María Laura Sánchez, elaborada a partir de los datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Argentina.

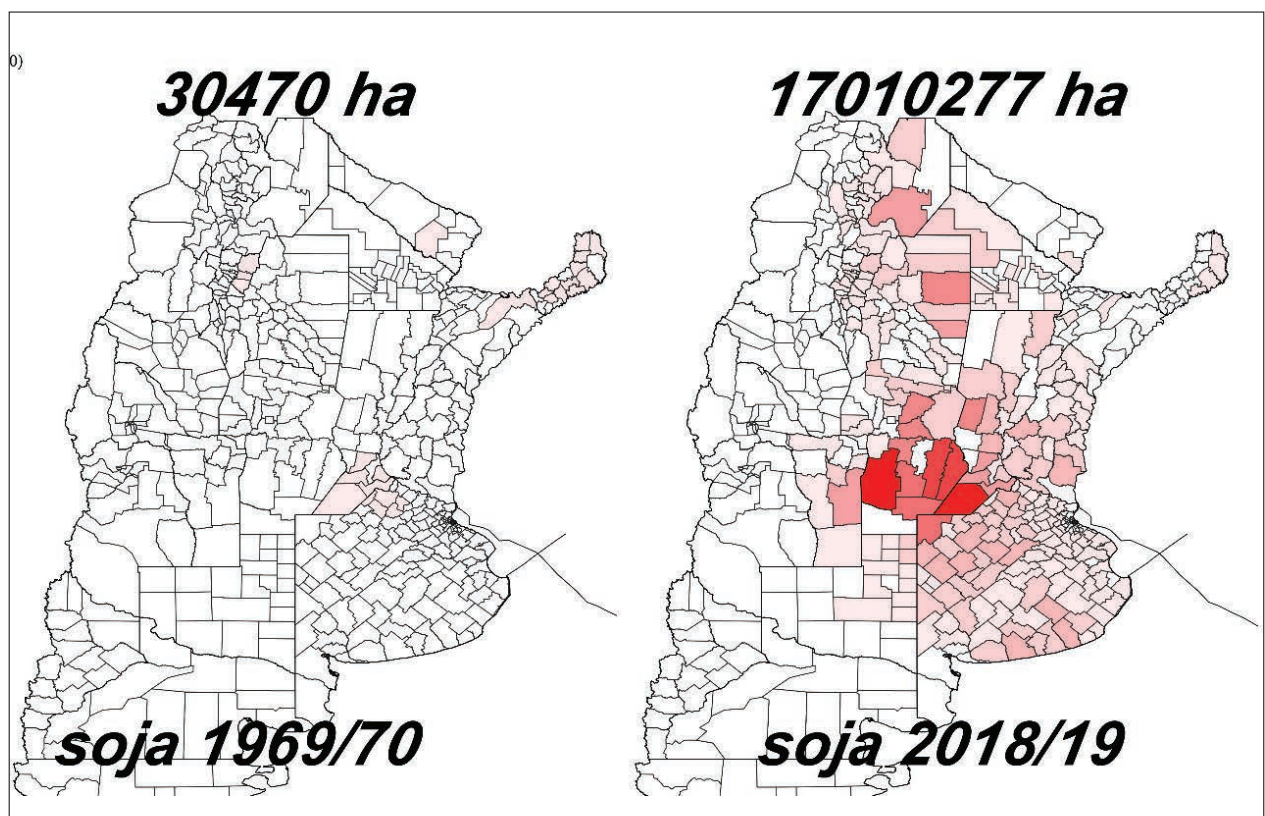


Fig. 3. Superficie sembrada con soja. Figura cedida por Manuel Castro Berman, elaborada a partir de los datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Argentina.

localidades bonaerenses. Desde el punto de vista ecológico, son ecosistemas con gran capacidad biogénica y constituyen el hábitat de muchas especies animales y vegetales, albergando una gran biodiversidad.

En general, estas lagunas presentan escasa profundidad media (menor a 3 m), excepto las encadenadas del oeste que pueden presentar una mayor profundidad. Son eutróficas a hipereutróficas y sus orígenes son variados (Geraldí et al., 2011).



Fig.4. Fotografías que ilustran la apariencia del agua en lagunas pampeanas con régimen de aguas claras vegetado (izquierda) y de aguas turbias con elevada biomasa de fitoplancton (derecha).

Las diferencias entre las lagunas de la ecorregión puede enmarcarse en el contexto del modelo de equilibrios alternativos propuesto originalmente por Scheffer et al., 1993), que plantea dos estados estables posibles en los lagos someros, uno de aguas claras con dominancia de plantas sumergidas a bajas concentraciones de nutrientes, y uno de aguas turbias con ausencia de plantas sumergidas y elevada biomasa de fitoplancton a mayor concentración de nutrientes (ver Figura 4); a concentraciones intermedias de nutrientes hipotéticamente el sistema podría alternar entre estos dos estados. No obstante, otros factores, como el descenso en el nivel del agua de la laguna debido a la variabilidad climática, pueden provocar cambios en el régimen (e.g. Sánchez et al., 2015).

Debido a las actividades humanas que se desarrollan en la región las lagunas se ven sometidas a una progresiva eutroficación, y por ese motivo en los últimos años se ha visto una reducción en el número de lagunas en estado de aguas claras, y un aumento de la proporción de lagunas en estado de aguas turbias con elevada biomasa de fitoplancton (Quirós et al., 2006; Izaguirre et al., 2021). En muchas de estas lagunas se están reportando floraciones de algunas especies de fitoplancton, principalmente de cianobacterias, y en los últimos años se ha visto que en muchos casos, pueden persistir hasta el otoño (Izaguirre et al., 2012; Izaguirre et al. 2015b; O'Farrell et al., 2021)

Además de estos dos regímenes de lagunas, unos pocos cuerpos de agua en la región se caracterizan por presentar un estado de aguas turbias con elevada concentración de sólidos en suspensión de tipo inorgánico pero baja biomasa de fitoplancton, a los que se ha denominado

lagunas “turbias inorgánicas”. Un ejemplo es la laguna La Limpia, en la cuenca del río Salado (Quirós et al. 2002; Allende et al., 2009; Sánchez et al., 2013).

Bibliografía

- Abell, J.M., D. Özkundakci, D. P. Hamilton, J.R. Jones. 2012. Latitudinal variation in nutrient stoichiometry and chlorophyll-nutrient relationships in lakes: A global study. *Fundam Appl Limnology Archiv Für Hydrobiologie* 181, 1–14. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2012/0272>
- Allende, L., G. Tell, H. Zagarese, A. Torremorell, G. Pérez, J. Bustingorry, R. Escaray, I. Izaguirre. 2009. Phytoplankton and primary production in clear-vegetated, inorganic-turbid, and algal-turbid shallow lakes from the Pampa plain (Argentina). *Hydrobiologia* 624: 45–60.
- Diovisalvi, N., V.Y. Bohn, M.C. Piccolo, G. M.E. Perillo, C. Baigún, H.E. Zagarese. 2015. Shallow lakes from the Central Plains of Argentina: an overview and worldwide comparative analysis of their basic limnological features. *Hydrobiologia* 752, 5–20. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-1946-x>
- Geraldi, A. M., M. C. Piccolo, G. M. E. Perillo. 2011. El rol de las lagunas bonaerenses en el paisaje pampeano. *Ciencia Hoy* 21: 9–14.
- Grosman, F. 2008. Una invitación a conocer nuestras lagunas pampeanas. En: F. Grosman (comp.) *Espejos en la llanura: Nuestras lagunas de la región pampeana*. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil. 19-38.
- Izaguirre, I., L. Allende, R. Escaray, J. Bustingorry, G. Pérez, G. Tell, 2012. Comparison of morpho-functional phyto-plankton classifications in human-impacted shallow lakes with different stable states. *Hydrobiologia* 698: 203–216
- Izaguirre, I., L. Miranda, G.M.E. Perillo, M.C. Piccolo, h. E. Zagarese. 2015a. Preface: Shallow lakes from the Central Plains of Argentina. *Hydrobiologia* 752:1-3.
- Izaguirre, I., M.L. Sánchez, M.R. Schiaffino, I. O'Farrell, P. Huber, N. Ferrer, J. Zunino, L. Lagomarsino, M. Mancini. 2015b. Which factors trigger the dominance of phytoplankton species across a moisture gradient of shallow lakes? *Hydrobiologia* 752: 47-64.
- Izaguirre, I., H. Zagarese, I. O'Farrell. 2022. The limnological trace of contemporaneous anthropogenic activities in the Pampa region. *Ecología Austral* 32:650-662 Asociación Argentina de Ecología. <https://doi.org/10.25260/EA.22.32.2.1.1884>
- O'Farrell, I., M.L. Sánchez, M.R. Schiaffino, I. Izaguirre, P. Huber, L. Lagomarsino, L. Yema. 2021. Human impacted shallow lakes in the Pampean plain are ideal hosts for cyanobacterial harmful blooms. *Environmental Pollution*, 288, 117747.
- Padisák, J., C.S. Reynolds. 2003. Shallow lakes: the absolute, the relative, the functional and the pragmatic. *Hydrobiologia* 506–509, 1–11. <https://doi.org/10.1023/b:hydr.0000008630.49527.29>
- Quirós, R., A. M. Renella, M.B. Boveri, J. Rosso, A. Sosnovsky. 2002. Factores que afectan la estructura y el funcionamiento de las lagunas pampeanas. *Ecología Austral* 12: 175-185.
- Quirós, R., M. B. Boveri, C. A. Petrachi, A. M. Renella, J. J. Rosso, A. Sosnovsky, H. T. von Bernard, 2006. Los efectos de la agriculturización del humedal pampeano sobre la eutrofización de sus lagunas. In Tundisi, J. G. T., Matsumura-Tundisi & C. Sidagis Galli (eds): *Eutrofização na América do Sul: Causas, conseqüências e tecnologias de gerenciamento e controle*. The International Institute of Ecology, Sao Carlos: 1–16.
- Rodríguez Capítulo, A., N. Gómez, A. Giorgi, C. Feijoó. 2010. Global changes in Pampean lowland streams (Argentina): implications for biodiversity and functioning. *Hydrobiologia* 657: 53-70.
- Sánchez, M. L., G.L. Pérez, I. Izaguirre, H. Pizarro. 2013. Influence of underwater light climate on periphyton and phytoplankton communities in shallow lakes from the Pampa plain (Argentina) with contrasting steady states. *Journal of Limnology* 72: 62-78.
- Sánchez, M. L., L. Lagomarsino, L. Allende, I. Izaguirre. 2015. Changes in the phytoplankton structure in a Pampean shallow lake in the transition from a clear to a turbid regime. *Hydrobiologia* 752: 65-76.
- Scarpati, O., J. Forte Lay, A. Capriolo, 2007. Impacts of ENSO events in soil water moisture in Pampean region (Argentina). *Revista Geográfica* 141: 39-51.
- Scheffer, M., S. H. Hosper, M. L. Meijer, B. Moss, E. Jeppesen. 1993. Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 275–279.
- Soriano A., R.J.C. León, O.E. Sala, R.S. Lavado, V. Derigibus, M.A. Cahuepé, O.A. Scaglia, C. A. Velázquez, H. Lemcoff, 1992. Río de la Plata grasslands. En: Coupland, R.T. (ed.): *Ecosystems of the world 8ª. Natural Grasslands. Introduction and western hemisphere*. Elsevier, New York: 367-407.

Texeira Soria, P., A. Pannunzio, L. Borello. 2013. Impacto del fenómeno “El Niño – Oscilación del Sur” sobre la evapotranspiración de la localidad de San Pedro, Buenos Aires, Argentina, para el período 2005-2011. *Revista de Climatología* 13: 27-34.

Viglizzo, E.F., F. C. Frank, 2006. Ecological interactions, feedbacks, thresholds and collapses in the Argentine Pampas in response to climate and farming during the last century. *Quaternary International* 158(1): 122-126.

Zárate, M.A., J. Rabassa, 2005. Geomorfología de la provincia de Buenos Aires. En: de Barrio, R.E., R.O. Etcheverry, M.F. Caballé & E. Llambías (eds.). *Geología y recursos minerales de la provincia de Buenos Aires. Relatorio XVI Congreso Geológico Argentino*: 119-136.

CAPÍTULO 2

Medición de parámetros morfométricos en cuerpos de agua lénticos

Demetrio Boltovskoy, Daniel Cataldo, Irina Izaguirre

Los rasgos morfométricos de un cuerpo de agua léntico influyen en los procesos de estratificación y mezcla de las aguas, en su productividad (incluyendo la ictícola), en su propensión a resuspender los sedimentos depositados en el fondo, en la estabilidad de sus costas, y en su susceptibilidad a eutroficarse. También están asociados con la variabilidad en las características de los ambientes disponibles para las comunidades acuáticas y, por ende, con la variedad de la fauna y flora que pueden albergar el cuerpo de agua.

Dependiendo del parámetro morfométrico y de la precisión deseados, la información de base puede obtenerse a partir de material cartográfico, fotografías aéreas, imágenes satelitales (obviamente todos provistos de su escala), o mediciones *in situ* (levantamientos topográficos y batimétricos). Si bien existen bases de datos que contienen este tipo de información para muchos cuerpos de agua lénticos de la Argentina, la mayoría contienen información desactualizada y focalizada en períodos limitados, que no necesariamente reflejan las condiciones medias de largo plazo ni las actuales. Además, no contemplan la marcada variabilidad interanual dependiente de los regímenes de precipitaciones, que puede ser muy importante.

En esta sección se presentan los parámetros morfométricos más importantes a tener en cuenta a la hora de llevar a cabo un estudio ambiental en un cuerpo de agua léntico.

Longitud máxima total (LMT)

Es la longitud de la línea recta que conecta los dos puntos más extremos de un cuerpo de agua sin cruzar ninguna porción de terreno, a menos que ésta sea una isla.

Longitud máxima efectiva (LME)

Se trata de una medida que suele diferenciarse de la LMT por ser la distancia, en línea recta, que separa los dos puntos más distantes de un cuerpo de agua sin cruzar tierra firme (costas o islas). Desde el punto de vista funcional, la LME determina la extensión máxima a lo largo de la cual se puede ejercer la acción del viento sin interrupciones que, a su vez, influencia el desarrollo de las olas, la turbulencia, la mezcla vertical del agua y la erosión de las costas. En los cuerpos de agua que tienen formas más o menos regulares, los parámetros longitud máxima total (LMT) y longitud máxima efectiva (LME) pueden coincidir, excepto cuando existen islas que pueden disminuir la LME. Muchos estudios limnológicos consideran que la LMT es, en realidad, la LME.

Ancho máximo total (AMT)

Es la longitud de la línea usualmente perpendicular a la LMT que conecta los puntos más extremos del cuerpo de agua.

Ancho máximo efectivo (AME)

Es la longitud de la línea, generalmente transversal a la LME o la LMT, que conecta los puntos más extremos del cuerpo de agua, a lo largo de la cual la acción del viento y el oleaje se realiza sin ninguna clase de impedimentos de tierra firme. Al igual que en el caso de la longitud, el AMT puede o no coincidir con el AME.

Ancho medio (AM)

Es la medida que se obtiene dividiendo la superficie del cuerpo de agua por la longitud máxima

total. También se suele utilizar el promedio del ancho de sectores equidistantes y perpendiculares a la línea de máxima longitud. (Ver Figura 1)

Obviamente, desde el punto de vista de su influencia sobre la dinámica de los cuerpos de agua lénticos estos parámetros son más informativos en los lagos y lagunas de contorno más o menos regular (redondeados, ovalados). En aquéllos que tienen formas muy irregulares, dendríticas, curvados y/o con numerosas irregularidades y una línea de costa más sinuosa, tanto su determinación como la influencia de la morfometría sobre los procesos físicos, químicos y biológicos es más compleja (Ver Figura 2)

FETCH

Es la distancia máxima sobre la superficie del agua en la cual se ejerce la acción del viento sin

obstáculos (i.e., tierra firme, como costas o islas, o vegetación arraigada emergente). El fetch, por lo tanto, varía dependiendo de la dirección del viento y, conjuntamente con su velocidad y duración (así como la profundidad del cuerpo de agua), modula la altura e intensidad del oleaje, que a su vez influye sobre la estratificación y mezcla vertical de la columna de agua, la resuspensión de los sedimentos del fondo, y los procesos de acreción y erosión de la costa (Ver Figura 3)

Perímetro o longitud de línea de costa (p)

El perímetro de un lago es la longitud de la línea de intersección de la tierra con el espejo de agua. Este parámetro se puede determinar sobre un mapa, aunque la precisión de la medida obviamente dependerá de la escala del mismo. La medición de cualquier línea costera tiene el problema de la

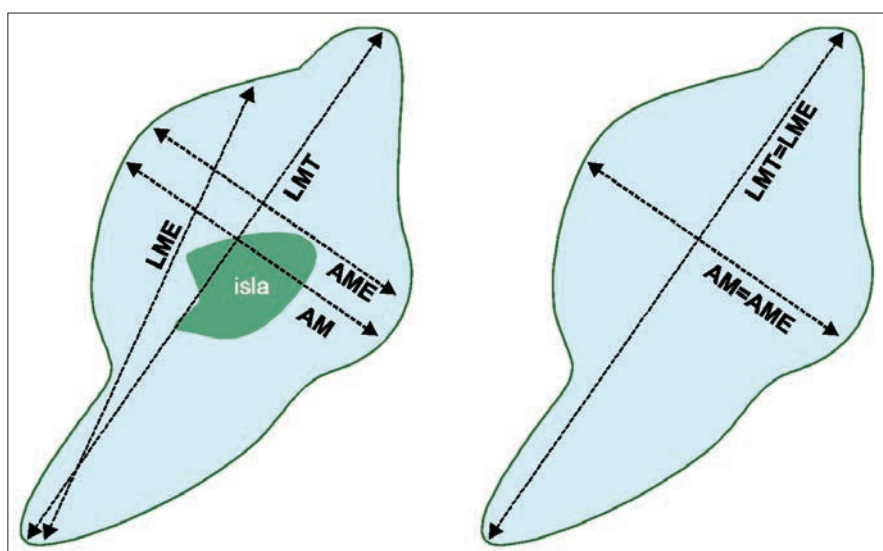


Fig. 1. Representación de la longitud máxima total (LMT), longitud máxima efectiva (LME) y ancho máximo (AMT) y Ancho Máximo Efectivo (AME) de un cuerpo de agua.

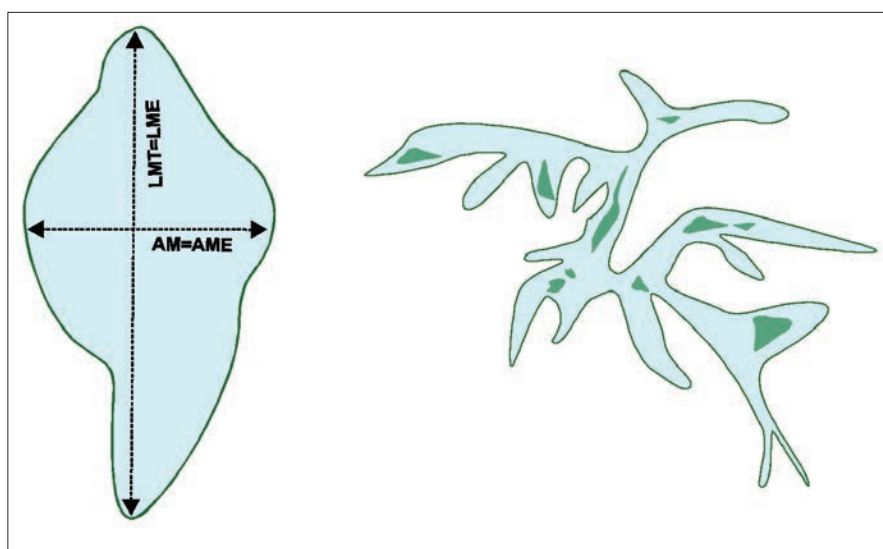


Fig. 2. Ejemplos hipotéticos de un cuerpo de agua de contorno regular (izquierda), y uno irregular (derecha) donde las mediciones de longitud y ancho son complicadas y la información que brindan acerca de sus aspectos funcionales es limitada.

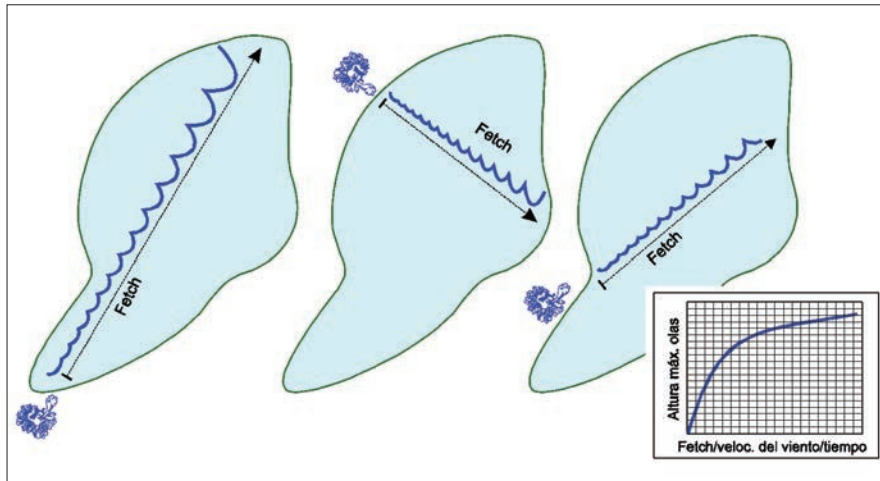


Fig. 3. Relación entre el fetch, la velocidad y duración del viento y la altura máxima potencial de las olas (la altura de las olas también depende de la profundidad del cuerpo de agua).

fractalidad: cuanto más detallada es la imagen disponible, más extensa es la línea que separa tierra de agua. Por ejemplo, el largo de la costa de Inglaterra calculado usando sectores de 100 km de largo es de unos 2800 km. Utilizando sectores de 50 km el valor aumenta a 3400 km. En consecuencia, tanto para fines descriptivos como comparativos con otros ambientes, este valor debe estar asociado con la escala del mapa con el que fue estimado.

En la actualidad, muchos parámetros morfométricos se estiman mediante programas de computación especializados sobre la base de mapas precisos (ver más abajo). Sin embargo, también se pueden calcular usando herramientas manuales. Para el perímetro del cuerpo se puede usar un instrumento llamado curvímeter (o cartómetro, opisómetro). Este instrumento consiste en una rueda trazadora cuyas revoluciones son convertidas en unidades de distancia. Con el curvímeter se recorre la el contorno del cuerpo de agua en la carta y, utilizando la escala de la misma, se convierte la medición en las unidades correspondientes). También se puede calcular con un GPS, recorriendo la costa del lago en un bote o a pie o, si existe un camino perimetral, en un vehículo. (Ver Figura 4)

Desarrollo de línea de costa (DLC)

Es una medida de la regularidad del contorno de la laguna, es decir, su mayor o menor semejanza al círculo. Se calcula a partir de los datos de la superficie o área (A) y perímetro (P) con la siguiente fórmula:

$$DLC = P / [2 \cdot (\pi \cdot A)^{1/2}]$$

Este parámetro tiene importancia ecológica dado que se vincula con la magnitud de la superficie

colonizable por macrófitas, la diversificación de ambientes, el grado de intercambio térmico entre el agua y la tierra, la presencia de ambientes protegidos del viento y el oleaje, el grado de aporte de material alóctono (terrestre), la resuspensión de sedimentos, etc. A continuación se ilustran ejemplos de DLC. (Ver Figura 5)

Área (a)

Es una las medidas morfométricas más importantes en un cuerpo de agua léntico. Existen distintos métodos para calcular el área de un cuerpo de agua sobre el plano de un mapa de escala conocida. Actualmente se llevan a cabo mediante diferentes programas de computación que se mencionan al final de esta sección, pero también existen otras alternativas bastante precisas, incluyendo el uso de un planímetro o por el método de Simpson.



Fig. 4. Curvímeter

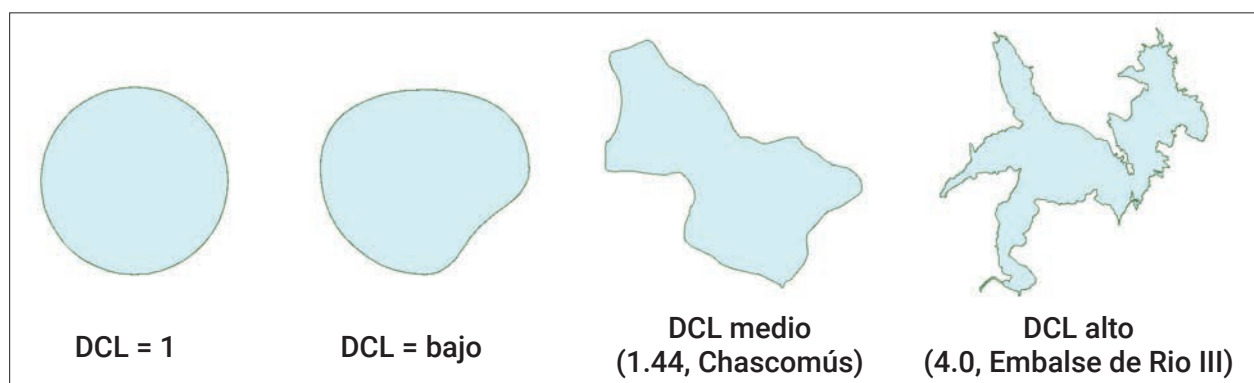


Fig. 5. Ejemplos de cuerpos lénticos con diferente desarrollo de línea de costa (DLC). En el primer esquema, una laguna perfectamente circular, el valor del DLC es igual a 1, en el segundo es levemente superior a 1, y va aumentando en cuerpos de agua de contorno más irregular.

Método del planímetro

Los métodos mecánicos de determinación de superficies se basan en la utilización de instrumentos diseñados con este propósito. Estos instrumentos se llaman planímetros, y los diseños modernos incorporan mecanismos de lectura digital. El planímetro es un instrumento basado en un método de integración gráfica, que permite determinar la superficie de una figura dibujada a escala recorriendo su contorno con un índice unido al aparato. Si es cuidadosamente operado, es un método bastante exacto para la determinación de superficies.

Existen diferentes tipos de planímetros, siendo el más común el denominado planímetro polar. El planímetro polar consiste en dos brazos o varillas unidos por una articulación, uno de ellos, el brazo polar (p) termina en una pesa con una pequeña aguja que se fija en el papel, y el otro brazo, llamado brazo trazador (t) termina en un visor (v), con un retículo o señal que se recorre por el contorno del área a determinar. En la articulación hay una serie de mecanismos entre los que está una rueda que se desliza por el papel, junto con el movimiento del visor, y que en su movimiento acciona una serie de engranajes y piezas que sirven para activar el contador, una rueda principal (r) y otra secundaria (n) con un nonius de medida. El brazo trazador tiene una longitud variable, pudiéndose adaptar dependiendo de las superficies a medir. El planímetro, una vez colocado y preparado para medir, estará apoyado en tres puntos: el polo que es la parte fija al papel, el visor y la rueda del mecanismo de medida situada en el mecanismo de la articulación. Cada vez que se efectúa un recorrido, la rueda o roldana ha establecido una serie de giros, dependiendo de la forma de la figura a medir, y en ellos habrá accionado los mecanismos del contador. El planímetro clásico ofrece la lectura mediante una rueda graduada en diez partes, siendo cada una de ellas 1/10 de vuelta, además se completa la

lectura mediante otra rueda cuyo índice es un nonius decimal. Como la segunda rueda mide 1/100 de partes de la primera, y con el nonius decimal podemos apreciar hasta 1/10 parte de su menor división, cada unidad de nonius representa 1/1000 de vuelta. La lectura del planímetro la constituyen tres cifras, la lectura de la rueda horizontal, y las dos unidades de limbo y nonius. Hay que fijarse en la rueda durante el proceso de recorrido de la figura, puesto que si la primera rueda, pasa una vez por el “cero”, habrá que añadir una unidad a la primera lectura, o dos si ha dado dos vueltas, etc., teniendo entonces una lectura de cuatro cifras.

El procedimiento para usar el planímetro es el siguiente: se instala clavando el polo en una zona exterior a la figura a medir (también se puede ubicar dentro de la figura; ver detalles en Dangavs, 1976), se sitúa el visor en un punto determinado del perímetro de la superficie a medir, se pone el contador a “cero”, se recorre cuidadosamente el perímetro de la figura hasta llegar al punto de partida, se toma la lectura del contador, expresándola en unidades del nonius. Para calcular la superficie en función de la lectura del contador, deberemos conocer a qué superficie equivale una unidad de nonius, valor que variará en función de la longitud del brazo trazador y de la escala a la que esté dibujado el mapa. El valor de una unidad se establece midiendo una superficie conocida, con la longitud de brazo que vamos a utilizar y a la misma escala.

Para calcular el valor (k) de una unidad de nonius, se elige una figura de superficie fácilmente calculable en el plano (a) y se calcula la superficie que representa en la realidad (A) en función de la escala elegida. Siendo (F) el factor de la escala será: $A = a \cdot F^2$. A continuación se recorre esta figura con el planímetro obteniendo una lectura (l). Como la superficie (A) es conocida, se calcula el valor (k) de una unidad de nonius mediante lasiguiente



Fig. 6. Planímetro analógico (<http://www.gisiberica.com/Plan%EDmetros/planimetro%20medicion.html>)

relación: $k = A/I$. Una vez calculado este valor, se lo utiliza para calcular directamente la superficie (S) de cada figura recorrida, multiplicándolo por su correspondiente lectura (I): $S = k I$.

Es buena práctica, recorrer al menos dos veces cada superficie a determinar, promediando el resultado de ambas lecturas (ver <http://www.gisiberica.com/Plan%EDmetros/planimetro%20medicion.htm>; Dangavs, 1976). (Ver Figura 6)

Método de Simpson

Este método puede ser empleado cualquiera sea la superficie de la figura, obteniéndose mejores resultados sobre áreas mayores. La regla de Simpson consiste en el cálculo aproximado de una integral (el desarrollo matemático puede consultarse en Dangavs, 1976).

En la práctica, el procedimiento que se sigue es el siguiente:

1) Se traza un eje o abscisa (x_0-x_{10}) y se hace coincidir con el eje mayor del cuerpo de agua. No es necesario que se sitúe por debajo de la figura. En el origen de las coordenadas se levanta la ordenada tangente a la figura (y_0). En el otro extremo de la misma se levanta otra ordenada tangente y paralela a la anterior ($y_n=y_{10}$).

2) Se divide el eje horizontal en un número par de intervalos de longitud (h) y a partir de los puntos de las divisiones se levantan ordenadas que cubren toda el área del plano. El eje vertical tangente al extremo izquierdo se denomina y_0 , los siguientes $y_1, y_2, \dots, y_n$, siendo y_n en el caso de la figura igual a y_{10} .

3) Luego se mide la longitud de todas las ordenadas dentro de la periferia de la figura, tales como AB, CD, etc., y se sustituyen en la fórmula, o sea:

$$A = h/3 \cdot (E + 4I + 2P)$$

Donde:

h: longitud de los intervalos

E: sumatoria de las longitudes de las ordenadas tangentes en los extremos

I: sumatoria de las longitudes de las ordenadas impares

P: sumatoria de las longitudes de las ordenadas pares (Ver Figura 7)

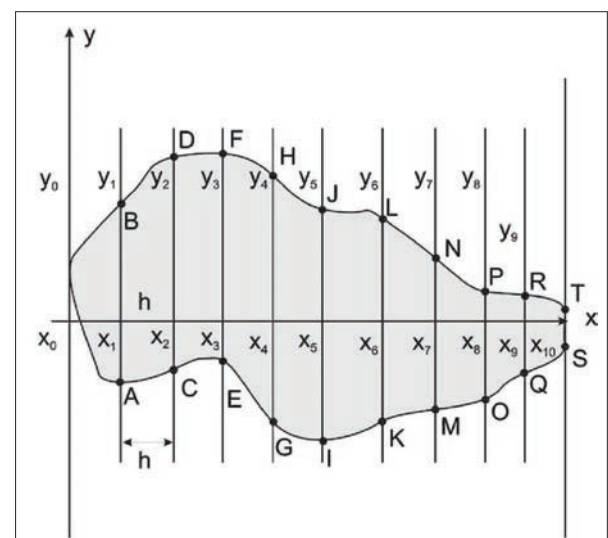


Fig. 7. Detalles de la aplicación de método de Simpson para el cálculo de superficies.

4) Se convierten las unidades usadas en la medición del plano.

La fórmula de Simpson es tanto más exacta cuanto mayor es el número de partes en que se divide el intervalo x_0-x_n , siendo siempre n un número par. En el caso de cuerpos de agua irregulares la figura puede ser dividida en partes que permitan este tipo de cálculo, sumando luego los resultados parciales.

Batimetría

Uno de los parámetros más importantes de un cuerpo de agua es su batimetría, cuya estimación consiste en el levantamiento topográfico del relieve del terreno cubierto por el agua. La batimetría se obtiene a partir de mediciones in situ de las profundidades. Para ello se recorre el cuerpo de agua con una embarcación a lo largo de transectas o aleatoriamente (pero cubriéndolo lo más densamente posible), y se van registrando las profundidades. Los intervalos pueden ser regulares, pero es preferible aumentar la densidad en las zonas de cambios más pronunciados. Cada punto en el cual se mide la profundidad es georreferenciado con un GPS y los datos se vuelcan en una planilla (latitud, longitud y profundidad). Actualmente, el error de la posición obtenida con un GPS común es muy baja y más que aceptable en la mayoría de los casos, excepto en cuerpos de agua muy pequeños. La profundidad se mide con una ecosonda (existen también aparatos combinados GPS-ecosonda que registran posición y profundidad simultáneamente). Las ecosondas fijas requieren ser instaladas en la embarcación, ya que el transductor (es decir, el componente que emite y recibe el ultrasonido) debe estar en

contacto con el agua (en las embarcaciones de casco de PRFV - plástico reforzado con fibra de vidrio - se pueden instalar sin perforarlo), pero también hay ecosondas manuales que no requieren instalación.

La mayoría de las ecosondas comerciales tienen un límite de medición inferior, de manera que no pueden ser usadas en aguas someras (menos de aproximadamente 1 m).

En cuerpos de agua con mucha vegetación sumergida el ultrasonido emitido por el transductor de la ecosonda puede ser interceptado antes de llegar al fondo, en cuyo caso su uso no es viable. En estos casos se puede recurrir a un escandallo, que puede fabricarse fácilmente con una plomada unida a un cabo graduado, o, en lagunas de menos de 3-4 m, una vara graduada de longitud adecuada. Existen equipos más sofisticados, incluyendo drones autónomos que pueden recorrer el cuerpo de agua y recolectar los datos de posición-profundidad de manera automática. (Ver Figura 8)

Dado que la profundidad de los cuerpos de agua varía temporalmente, en todos los casos se debe contar con una referencia "cero" invariable. En los lagos, lagunas y embalses esta cota cero generalmente es una referencia convencional sobre tierra firme, o una estructura firme (torre, poste) graduada y clavada en el fondo y, preferiblemente, de altura sobre el nivel del mar conocida. Por ejemplo, en el Embalse de Río Tercero, este cero es el pie de la represa, ubicado a 46.5 m de la superficie con el agua a nivel del vertedero (es decir, el embalse lleno en su máxima capacidad), que se encuentra a 611 metros sobre el nivel del mar (corregido más



Fig. 8. Herramientas para sondaje de profundidades

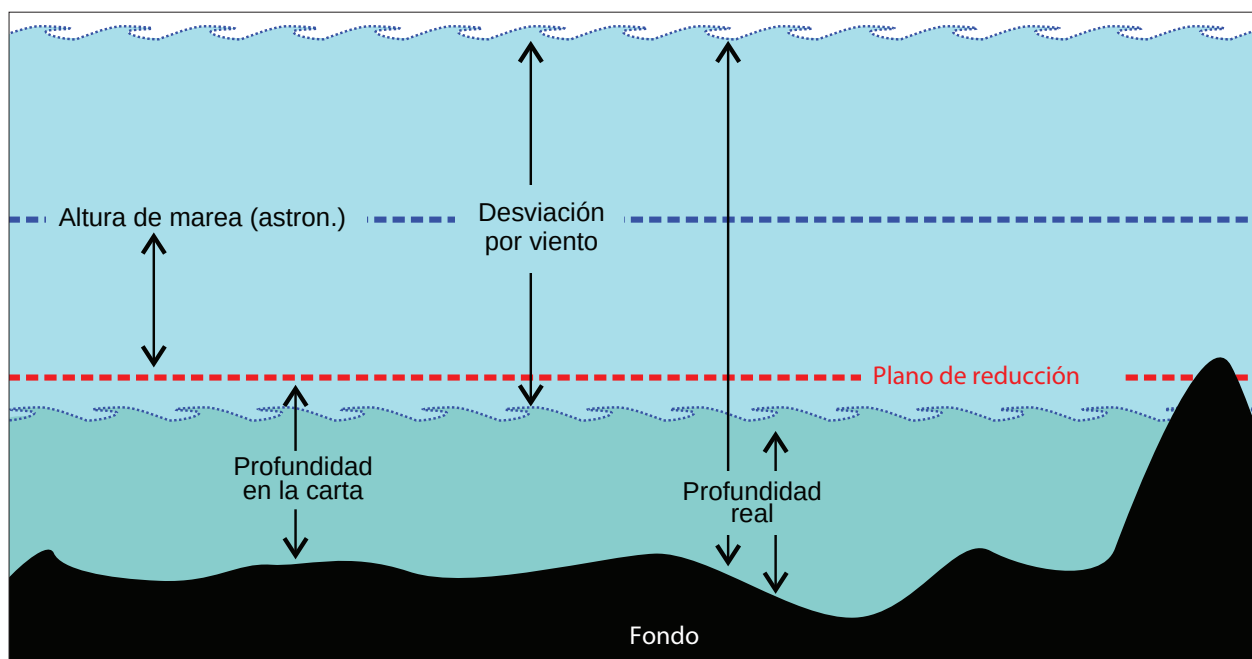


Fig. 9. Esquema de la referencia de la profundidad del agua en el estuario del Río de la Plata y los factores que la modifican

tarde por el IGN). En los estuarios (y, en mucho menor grado, en los lagos de gran extensión) la altura del agua (y, por ende, la profundidad) varía con las mareas. En el estuario interior del Río de la Plata este nivel de referencia (que corresponde a la profundidad indicada en las cartas náuticas) es el llamado “plano de reducción”, que equivale al promedio de las mareas más bajas observadas durante un período prolongado (años) (también conocido como LIMB - Límite Inferior de la Media de todas las Bajamareas). Sin embargo, si bien las alturas de marea debidas a factores astronómicos son calculadas con precisión, en muchos casos la altura real del agua depende en gran parte de la dirección, intensidad y duración del viento. En el estuario del Río de la Plata, donde las mareas oscilan en menos de 1 m, el viento puede aumentar o disminuir este valor en más de 2 m y, más raramente, hasta 3-4 m. (Ver Figura 9)

Los registros puntuales de ubicación-profundidad se utilizan para la generación de cartas batimétricas, donde se representan las isobatas, es decir, líneas que unen puntos de igual profundidad separando zonas de rangos de profundidad diferentes. Si bien este trabajo se puede llevar a cabo de forma manual, es una tarea muy trabajosa, sobre todo cuando la cantidad de sondajes es alta. En consecuencia, normalmente se recurre a programas que, sobre la base de los datos originales en tres ejes, dos para la posición (x e y) y uno para la profundidad (z), interpolan las profundidades sobre una grilla espacial (x-y) homogénea y definen las isobatas correspondientes.

La batimetría permite obtener los siguientes parámetros relevantes del cuerpo de agua:

PROFUNDIDAD MÁXIMA ($Z_{\text{máx}}$)

Es el punto o área de máxima profundidad del cuerpo de agua.

PROFUNDIDAD MEDIA (Z_{media})

Su estimación directa surge del promedio de las profundidades medidas en el cuerpo de agua. Sin embargo, para que este dato sea fiable la distribución de los datos de profundidad debe ser regular (o sea, en las intersecciones de las líneas definidas por una grilla de ejes x e y espaciados uniformemente). Este espaciado regular se puede generar durante el relevamiento original o, alternativamente, mediante la interpolación de las posiciones distribuidas irregularmente (ver más abajo). La profundidad media también puede ser estimada dividiendo el volumen de la masa de agua por la superficie del cuerpo.

La profundidad media es un parámetro muy importante desde el punto de vista ecológico, porque es un indicador de la magnitud relativa de la capa donde penetra la luz y hay producción primaria (es decir, por parte de organismos fotosintetizadores). También brinda información acerca de la susceptibilidad a la eutroficación, ya que a igual carga de nutrientes los cuerpos con menor profundidad media son más vulnerables a este proceso. (Ver Figura 10)

Volumen

Si bien actualmente la estimación del volumen se realiza mediante programas de computación (ver

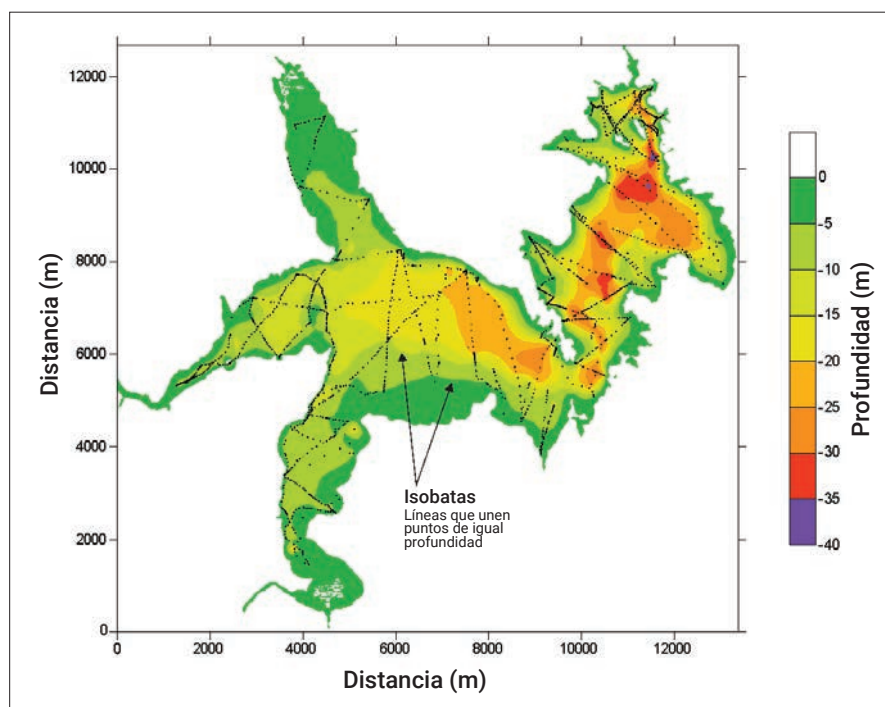


Fig. 10. Carta batimétrica del Embalse de Río Tercero. Los colores definen las áreas de diferente profundidad. Los puntos negros identifican los lugares donde se midió la profundidad.

más abajo), también se puede llevar a cabo sin estos programas (aunque con menor precisión). En esta alternativa, a partir de la información obtenida del mapa batimétrico, el volumen total puede ser determinado sumando los volúmenes de los estratos cuyas caras superior e inferior están delimitadas por las isobatas. Las áreas de estas caras superior e inferior de cada estrato se pueden calcular utilizando el mapa batimétrico con la ayuda de un planímetro o por el método de Simpson (ver más arriba). Estos volúmenes se calculan mediante la fórmula de Penck:

$$V = h/3 \cdot [S1 + S2 + (S1 \cdot S2)^{1/2}]$$

donde V es el volumen y h representa el espesor vertical de cada estrato de agua, delimitado por la diferencia entre dos isobatas contiguas; S1 es el área de la cara superior del estrato y S2 el área de la cara inferior del estrato de agua. (Ver Figura 11)

Utilización de programas de computación para obtención de parámetros morfométricos

Actualmente existe una amplísima gama de programas de computación, tanto gratuitos como comerciales, con los cuales se pueden llevar a cabo todos (o casi todos) los cálculos enumerados. Obviamente, su uso no implica liberarse de la tarea de obtener los datos primarios. Esto es particularmente crítico para la batimetría (y todos los parámetros asociados a ella), que necesariamente requiere de trabajo de campo. Las estimaciones de las medidas “visibles”, por otro lado, pueden obtenerse de diversas fuentes, como la cartografía del Instituto Geográfico Nacional, Google Earth, y muchas otras.

Uno de los programas más versátiles es el Surfer (Golden Software; <https://www.goldensoftware.com/products/surfer/>), que permite llevar a cabo todos los cálculos reseñados (y muchos otros), y

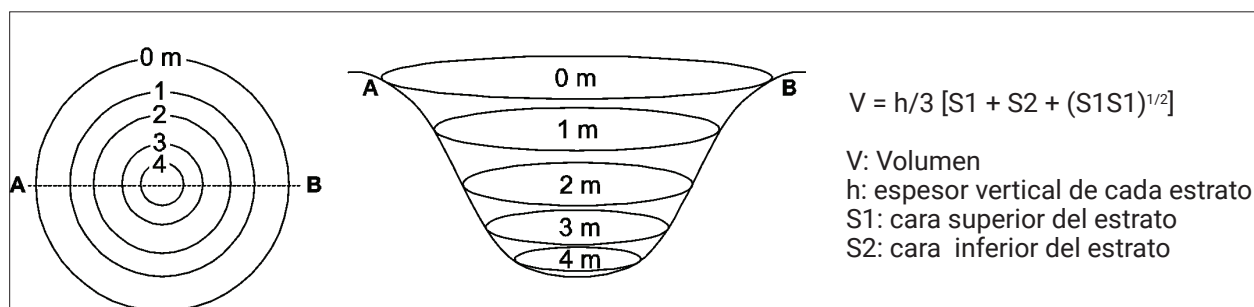


Fig.11. Detalles para el cálculo del volumen por la fórmula de Penck

produce gráficos vectorizados de excelente calidad, tanto 2D como 3D, con una muy amplia gama de opciones. Surfer, sin embargo, no es gratuito.

Una revisión rápida de la web (julio de 2021), indica que hay muchas otras opciones de programas GIS (Geographic Information System) que pueden servir para este propósito. Entre ellos, los que anuncian como de uso libre están:

QGIS (<https://qgis.org/es/site/>)
gVSIG (<https://gisgeography.com/gvsig-software/>)
Grass SIG (<https://grass.osgeo.org/>)
ILWIS (<https://52north.org/software/software-projects/ilwis/>)
SAGA (<http://www.saga-gis.org/en/index.html>)
GeoDa (<https://spatial.uchicago.edu/software>)
Whitebox GAT (<https://www.whiteboxgeo.com/>)
MapWindow (<https://www.mapwindow.org/>)
uDig (<http://udig.refractory.net/>)
OpenJump (<http://www.openjump.org/>)
OrbisGIS (<http://orbisgis.org/>)
Diva GIS (<http://www.diva-gis.org/>)
Spring GIS (<http://www.dpi.inpe.br/spring>)
QField (<https://qfield.org/>)

Uno de los más utilizados y, probablemente, el más abarcativo en el área de la geografía es el ArcGIS (<https://www.esri.com/en-us/arcgis/about-arcgis/overview>). Este no es gratuito, aunque es uno de los referentes más importantes en la especialidad.

Por otro lado, existen paquetes de rutinas ad hoc en el lenguaje R para el cálculo de estos parámetros (Hollister y Stachelek, 2017).

Bibliografía

Blais, J.M. J. Kalff. 1995. The influence of lake morphometry on sediment focusing. *Limnology & Oceanography*, 40: 582-588.

Castillo Jurado, M. D. 2003. Morfometría de lagos. Una aplicación a los lagos del Pirineo. Universitat de Barcelona.

Dangavs, N.V. 1976. Descripción sistemática de los parámetros morfométricos considerados en las lagunas pampeanas. *Limnobiós*, 1(2): 35-59.

Drago, EC, P. J. Depetris. 1974. Erosión en la cuenca imbrífera y sedimentación en el embalse de Río Tercero (Córdoba, Argentina). *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 29:470-478

Florida Lakewatch, UF/IFAS. 2001. A Beginner's Guide to Water Management — Lake Morphometry. University of Florida (USA). <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FA/FA08100.pdf>

Genkai-Kato, M, Carpenter SR. 2005. Eutrophication due to phosphorus recycling in relation to lake morphometry, temperature, and macrophytes. *Ecology*, 86:210-219.

Håkanson, L. 1981. A manual of lake morphometry. Springer.

Håkanson, L. 2005. The importance of lake morphometry for the structure and function of lakes. *International Review of Hydrobiology*, 90: 433-461.

Håkanson, L. 2012. A manual of lake morphometry. Springer Science & Business Media.

Hollister, J, J. Stachelek. 2017. Lakemorpho: Calculating lake morphometry metrics in R. *F1000 Research*. 6:1718.

Rooney, N. J. Kalff. 2020. Inter-annual variation in submerged macrophyte community biomass and distribution: the influence of temperature and lake morphometry. *Aquatic Botany*, 68:321-335.

CAPÍTULO 3

Metodologías de análisis fisicoquímicos

Leonardo Lagomarsino

Muestreo

Recomendaciones previas al muestreo

En los días previos al muestreo se recomienda asegurarse el buen funcionamiento y calibración de los equipos de medición que se utilizarán en el campo de acuerdo a las normas indicadas por los fabricantes. Además, se recomienda realizar una lista con el material de muestreo a emplear, y el tipo de muestras y parámetros que se medirán en el campo. También es importante revisar la limpieza del material que se utilizará en el laboratorio cuando se hayan tomado las muestras.

Debido a que el acceso a muchos ecosistemas acuáticos puede resultar dificultoso, se recomienda un previo reconocimiento del ambiente a estudiar, junto con la revisión en mapas sobre posibles puntos de acceso al ecosistema acuático y tener previsto planes de emergencia en caso de accidentes.

Materiales y equipamiento de campo básicos:

- Cajón de plástico para trasladar las muestras y los equipos.
- Envases de polipropileno de 5 litros con tapa a rosca.
- Balde de 10 litros y soga.
- Heladera con refrigerantes.
- Libreta de muestreo y lápiz para registrar las variables de campo.
- Marcador indeleble para rotular las muestras.
- Vaso de precipitado de 100 ml.
- Piseta con agua destilada.
- Disco de Secchi.
- Oxímetro y termómetro.
- Redes de fitoplancton y zooplancton.
- Cinta métrica.
- Wader
- Sondas para registrar otros parámetros

Extracción de muestras

Si los puntos de muestreo se van a situar sobre la orilla, es importante acceder a ellos evitando la re-suspensión de los sedimentos. La extracción de las muestras se puede realizar en una forma integrada compuesta por tres puntos espaciados en 20 metros que se sitúen en forma paralela a la línea de costa. En caso de ser posible, también se puede situar el punto de muestreo en un punto cercano al centro del ecosistema acuático mediante el empleo de botes u otro tipo de embarcación, y en ambientes de gran superficie, se pueden establecer transectas con puntos de muestreo equidistantes a lo largo de ellas. En cuerpos de agua de gran superficie y con áreas irregulares, se recomienda establecer puntos de muestreo en sitios que abarquen posibles fuentes de heterogeneidad de las condiciones del cuerpo de agua, es decir, cercanos a ríos y arroyos tributarios, a fuentes puntuales y difusas de contaminación, y en sitios que abarquen la heterogeneidad de los ecosistemas terrestres circundantes al cuerpo de agua.

Una vez elegidos los puntos de muestreo se recomienda fijar una referencia mediante el empleo de un GPS a fin de señalizarlos para muestreos futuros.

Si se desea hacer un monitoreo temporal del cuerpo de agua, es conveniente definir con anterioridad la frecuencia de muestreo (diario, semanal, quincenal, mensual) de acuerdo a los objetivos de estudio. Además, es conveniente realizar el muestreo dentro de la misma franja horaria (en horas de la mañana, mediodía), debido a que muchos parámetros fisicoquímicos (oxígeno disuelto, temperatura y pH, entre otros) pueden presentar ciclos diarios.

Las muestras de agua se pueden coleccionar en forma sub-superficial, a una profundidad de 30 cm aproximadamente, mediante el empleo de envases de 5 litros.

En el campo se anotarán los registros de la temperatura del agua, oxígeno disuelto, y la profundidad en el punto de muestreo. Además, se registrará la transparencia del cuerpo de agua mediante el empleo del disco de Secchi. El disco debe sumergirse en forma vertical, y se debe registrar la profundidad a la cual desaparece de la vista. Es conveniente repetir la medida varias veces, y que la tarea sea asignada a la misma persona para muestreos sucesivos. Además, es importante registrar en la libreta de campo, el horario de muestreo, y las condiciones meteorológicas preponderantes.

Mediciones en el laboratorio

Las mediciones de pH, conductividad eléctrica, y turbidez se pueden realizar en el laboratorio, siempre y cuando las mismas se realicen a las pocas horas de la toma de muestras. Para la realización de los análisis químicos, se procede al filtrado de las muestras de agua con una bomba de vacío a través de filtros de fibra de vidrio de 0,7 µm de tamaño de poro (GF/F). El filtrado debe realizarse a una baja presión (~0.5 atm), con el fin de evitar la lisis celular, e incorporar nutrientes a la muestra filtrada.

Se recomienda calcular previamente el volumen de agua necesario a filtrar para la realización de todas las determinaciones químicas, a fin de ser eficiente en el empleo de filtros y en el tiempo de trabajo.

Las determinaciones de los distintos parámetros fisicoquímicos dependen de los objetivos de estudio. Las técnicas que se emplean en forma frecuente son las mismas que las que se utilizan en estudios de ambientes fluviales. Debido a que muchos ambientes lénticos presentan una alta turbidez, con elevados niveles de sólidos en suspensión, la filtración de grandes volúmenes de agua puede resultar difícil, y llevar mucho tiempo. Por tal motivo se puede reducir el volumen de agua filtrada a utilizar para las determinaciones químicas. A continuación, se detallan algunas de las determinaciones que usualmente se realizan en estudios de ambientes lénticos. Las técnicas que se describen se encuentran con mayor detalle en las técnicas físico-químicas del libro sobre Técnicas de monitoreo en ambientes fluviales de Argentina. (<https://remaqua.conicet.gov.ar/>)

Determinación de los compuestos de fósforo

Fosfato: también denominado fósforo reactivo soluble (PRS), es rápidamente utilizado como fuente de fósforo por las algas y las bacterias, por lo que suele encontrarse en bajas concentraciones.

Se recomienda realizar una curva de calibración con concentraciones crecientes entre 0 µg/L y 100 µg/L. Para las determinaciones se pueden utilizar 25 mililitros de agua filtrada por filtros de 0.7 µm de tamaño de poro (GF/F). El método empleado es el método del molibdato-ácido ascórbico (APHA, 2017). Las determinaciones se deben realizar a las pocas horas del momento del muestreo. En caso de no ser posible se pueden conservar en frascos de plástico en el freezer (-20°C).

Para las determinaciones del fósforo total (PT, a partir de agua sin filtrar), y del fósforo disuelto total (PDT, agua filtrada por GF/F), se requieren 50 mililitros de agua, y se aplica una digestión ácida (1 ml ácido sulfúrico 11N) junto con un agente oxidante (0.75 g de persulfato de potasio). La digestión se realiza en autoclave durante 30 minutos (a 1 atmósfera de presión y 120 °C de temperatura). Luego de la digestión, las muestras deben llevarse a pH con hidróxido de sodio, y se procede a las determinaciones empleando el protocolo del PRS. Se recomienda realizar una curva de calibración con concentraciones crecientes entre 0 µg/L y 1000 µg/L, siguiendo todos los pasos de la técnica (autoclave y pH neutro). Las muestras se pueden conservar con la adición de ácido sulfúrico (1 ml ácido sulfúrico 11N) en heladera. Es recomendable hacer las determinaciones del PRS, PT y PDT por duplicado. A partir de la diferencia de las concentraciones de PT y PDT se obtiene el fósforo particulado, que usualmente es la fracción predominante en ambientes acuáticos con elevada biomasa fitoplanctónica.

Determinación de los compuestos de nitrógeno

Amonio: el amonio es utilizado como fuente de nitrógeno por las bacterias, algas y macrófitas acuáticas, por lo que suele encontrarse en bajas concentraciones. Se recomienda realizar una curva de calibración con concentraciones crecientes entre 0 µg/L y 100 µg/L. Para las determinaciones de las concentraciones de amonio (N-NH_4^+) se utilizan 25 mililitros de agua filtrada por filtros de 0.7 µm de tamaño de poro (GF/F) y se aplica el método de azul de indofenol (APHA, 2017). Para evitar la contaminación de las muestras se recomienda utilizar frascos de vidrio con tapa a rosca. Las muestras deben ser analizadas a las pocas horas del muestreo, y en caso de no ser posible, se pueden almacenar en frascos de plástico en el freezer (-20°C).

Nitritos y nitratos: la técnica que se utiliza para la determinación de estos compuestos es la diazotización con sulfanilamida, acoplada con N-1-naftiletilendiamina (APHA, 2017). Para las

determinaciones de nitritos (N-NO_2^-) se pueden utilizar 25 ml de agua filtrada por filtros GF/F. Para la determinación de nitratos (N-NO_3^-) se requieren 50 ml de agua filtrada, los cuales se reducen a nitritos mediante la utilización de una columna de cadmio. Se recomienda realizar una curva de calibración para nitritos con concentraciones crecientes entre 0 $\mu\text{g/L}$ y 100 $\mu\text{g/L}$, y una curva de calibración para nitratos entre 0 $\mu\text{g/L}$ y 300 $\mu\text{g/L}$. Para la realización de la curva de nitratos se recomienda pasar los blancos y los estándares por la columna de cadmio. Las muestras deben ser analizadas a las pocas horas del muestreo, y en caso de no ser posible, se pueden almacenar en frascos de plástico en el freezer (-20°C).

Nitrógeno orgánico: las determinaciones del nitrógeno orgánico se pueden realizar mediante el método semi-micro-Kjeldahl (APHA, 2017).

El método consiste en una digestión de 50 ml de muestra en medio ácido (3 ml ácido sulfúrico) y a altas temperaturas en un digestor ($\sim 350^\circ\text{C}$), en presencia de un catalizador de sulfato de potasio y sulfato de cobre. Luego se realiza una destilación alcalina y una posterior titulación volumétrica con ácido. Las muestras se pueden almacenar acidificadas en heladera (4°C).

Las concentraciones de nitrógeno total (NT) se obtienen de la suma de nitritos, nitratos y nitrógeno orgánico.

Determinación de los sólidos totales suspendidos

Las concentraciones de sólidos totales suspendidos (también llamado seston) se obtienen de la filtración de un volumen conocido de agua (entre 50 y 1000 ml dependiendo del ambiente acuático) por filtros GF/F previamente calcinados (530°C , 3 hs) y pesados, y la posterior determinación del peso seco luego de permanecer en estufa durante 24 hs a 50°C . Además, se puede estimar el contenido de cenizas mediante la calcinación del filtro a 530°C por tres horas. El contenido de materia orgánica se obtiene a partir de la diferencia entre el peso seco y las cenizas.

Determinación de clorofila a fitoplanctónica

Las concentraciones de clorofila a fitoplanctónica se determinan mediante la filtración de un volumen conocido de agua (entre 50 y 1000 ml) por filtros GF/F. Los filtros deben permanecer en oscuridad, y se pueden conservar en el freezer hasta su determinación.

Los solventes de extracción más utilizados son acetona 90%, metanol, y etanol tanto frío como caliente ($60-70^\circ\text{C}$). En ambientes acuáticos de agua dulce es frecuente la utilización de metanol como solvente de extracción (24 horas en heladera) (Lopretto y Tell, 1995). En caso de que el sobrenadante presente restos de filtro, se recomienda realizar una centrifugación (3500 rpm por 10 min). Posteriormente, se realizan las lecturas espectrofotométricas a 665 y 750 nm, y se corrige por feofitinas mediante su acidificación con HCl 0.1N, y posterior lectura a las mismas longitudes de onda.

Las concentraciones de clorofila a corregidas por feofitinas se obtienen de la siguiente ecuación:

$$\text{CC de Chl-a } (\mu\text{g/L}) = (2.72 \times \{(\text{abs}665 - \text{abs}750) - (\text{abs } 665 \text{ ac} - \text{abs } 750 \text{ ac})\} \times 11.62 \times \text{vol. Metanol (ml)}) / (\text{vol. filtrado (l)} \times \text{longitud de la cubeta (cm)})$$

Determinación de la alcalinidad del agua

La alcalinidad del agua se determina mediante una titulación ácida (H_2SO_4 0.1N) siguiendo los protocolos APHA (2017).

Aplicación de índices de estado trófico

Existe una gran diversidad de índices para evaluar el estado trófico de los ecosistemas acuáticos lénticos. Para este tipo de ambientes se recomienda la utilización del índice de estado trófico de Aizaki y colaboradores (1981) desarrollado a partir de la modificación del índice de estado trófico de Carlson (1977). Una de las ventajas del índice es que su cálculo es simple, y que no se necesitan determinar muchos parámetros para su obtención. Es un índice numérico, basado en las concentraciones de clorofila a como estimador de la biomasa fitoplanctónica. Además, el índice incorpora la transparencia del disco de Secchi, y las concentraciones de fósforo total como indicadores de estado trófico. El índice consiste en una escala de 0 a 100. Valores del índice de estado trófico (TSI) inferiores a 20 implican condiciones ultraoligotróficas; entre 30 y 40, oligotróficas; entre 40 y 50, mesotróficas; valores cercanos a 60 implican condiciones eutróficas, y por encima de 70, condiciones hipertroficas. A continuación, se detallan las ecuaciones para la obtención de los índices para la clorofila a (a partir de sus concentraciones en $\mu\text{g/L}$), fósforo total (mg/L) y profundidad del disco de Secchi (m) respectivamente.

$$\text{TSI (Chla)} = 10 \times (2.46 + (\ln \text{Chla} / \ln 2.5))$$

$$\text{TSI (PT)} = 10 \times (2.46 + (6.68 + 1.15 \ln \text{PT} / \ln 2.5))$$

$$\text{TSI (DS)} = 10 \times (2.46 + (3.76 - 1.57 \ln \text{DS} / \ln 2.5))$$

Un valor del TSI (Chla) de 100 corresponde a una concentración de Chla de 1000 ug/L, y un descenso de 2.5 veces en las concentraciones de Chla se corresponden con un descenso de 10 unidades del índice.

La obtención de cada uno de los tres índices debería dar resultados similares. Sin embargo, en muchas ocasiones los índices no correlacionan entre sí. No obstante, estas desviaciones entre los índices pueden aportar una información adicional sobre cambios en las condiciones a lo largo del tiempo, y/o sobre las características de los cuerpos de agua. Por ejemplo, en ciertas lagunas las desviaciones entre los índices de Chla y PT pueden sugerir situaciones de limitación por fósforo si ambos índices están estrechamente asociados la mayor parte del tiempo. Del mismo modo, los índices de la Chla y del disco de Secchi no se correlacionan bien en cuerpos de agua donde la atenuación de la luz está principalmente gobernada por la presencia de partículas de arcillas, o en aguas intensamente coloreadas por la materia orgánica disuelta. Asimismo, la presencia de una alta biomasa de macrófitas sumergidas puede ocasionar errores en la estimación de los índices a partir de la Chla y del disco de Secchi. A pesar de estas inconsistencias puntuales, la obtención de los índices permite llegar a una buena aproximación sobre el estado trófico de los cuerpos de agua.

Bibliografía

Aizaki, M., A. Otsuki, T. Fukushima, M. Hosomi, K. Muraoka, 1981. Application of Carlson's trophic state index to Japanese lakes and relationships between the index and other parameters. *Verh. Int. Ver. Limnol.* 21: 675-681.

APHA (American Public Health Association). 2017. Standard methods for the examination of water & wastewater. 23st edition, R.B. Baird, A.D. Eaton, E.W. Rice. APHA, Washington.

Carlson, R. E. 1977. A trophic state index for lakes. *Limnology and Oceanography*. 22: 361 – 369.

Lopretto, E. G. Tell. 1995. Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su uso. Ediciones Sur.

CAPÍTULO 4

Análisis de la transparencia de las aguas y variables ópticas asociadas

Pérez Gonzalo Luis

Consideraciones Generales

Previamente a la descripción detallada de las metodologías descriptas en este capítulo es necesario realizar una breve descripción de varios conceptos importantes de la hidrología óptica. La transparencia de las aguas de los ambientes lénticos puede ser estimada con distintos parámetros, entre ellos el coeficiente de atenuación vertical difuso (K_d) que es el estimador intrínseco de la penetración de la luz. Este coeficiente es lo que se denomina una propiedad óptica aparente (POA), es decir no solo depende de las sustancias que componen el medio acuático si no también de la estructura geométrica del campo lumínico (Preisendorfer 1961). Es decir, el K_d depende de la cantidad y tipo de sustancias particuladas en suspensión y de las sustancias disueltas que absorben y dispersan la luz, así como también de la inclinación del sol, la nubosidad y la profundidad de la columna de agua. Por su parte, la interacción de la luz con la materia que resulta en la atenuación de la luz en el medio acuático se determina como los coeficientes de absorción (a) y dispersión (b), los cuales son denominados propiedades ópticas inherentes (POI). Las POI poseen una variación masa específica que depende de las propiedades inherentes del material que interacciona con la luz. De esta forma, por ejemplo, la absorción del fitoplancton por unidad de clorofila a varía según el estado fisiológico (e.g., fotoadaptación y fotoaclimatación) y la estructura de la comunidad (composición pigmentaria y estructura de tamaño).

Importancia de la atenuación de la luz

La atenuación de la luz ya sea medida como K_d , u otro estimador (e.g., el disco de Secchi, S_d) es una medida de la transparencia de las aguas y es central en el funcionamiento del ecosistema, así

como también una variable clave para el monitoreo y manejo de los cuerpos de agua. Es uno de los factores que determina la productividad primaria y el metabolismo del ecosistema acuático, así como afecta la estructura térmica y otros factores de importancia en el funcionamiento y en los servicios del ecosistema.

Medición de la irradiancia bajo el agua y cálculo del coeficiente de atenuación difuso

Para la estimación del K_d es necesario contar con un radiómetro sumergible. Los radiómetros sumergibles pueden medir la luz bajo el agua tanto espectralmente como integrando la energía lumínica entre los 400 y 700 nanómetros (nm), permitiendo así una lectura de la atenuación de la radiación fotosintéticamente activa, PAR, en sus siglas en inglés. Para el caso del PAR, tendremos una lectura de irradiancia para distintas profundidades con las que podremos calcular el K_d PAR, mientras que si la irradiancia es espectral tendremos varias lecturas a distintas longitudes de onda (multiespectral) o cada un intervalo definido (e.g., 1 o 5 nm) entre la porción del espectro ultravioleta y visible (hiperespectral) y de esta forma podemos determinar el coeficiente de atenuación espectral de la luz, $K_d(\lambda)$.

Ciertos radiómetros miden conjuntamente con la irradiancia la profundidad a la cual se registra el dato, mientras que otros radiómetros solo nos dan el dato lumínico y debemos registrar por nuestro medio la profundidad de lectura. Es importante al realizar la medición tener en cuenta algunos aspectos. Como explicamos en las consideraciones generales, el K_d depende del escenario lumínico, por lo que se recomienda realizar las mediciones con el sol lo más alto posible (un ángulo cenital alto). Por otro lado, si la medición

se realiza desde una embarcación, es muy importante que el instrumento de medición baje verticalmente y que la embarcación en cuestión no haga sombra sobre el instrumento. También es importante tener en cuenta el oleaje al realizar las mediciones, dado que el mismo produce mucha interferencia en los datos de irradiancia. Se puede hacer una lectura tanto al descender el radiómetro como al subirlo.

Una vez que se realizó la medición del perfil de irradiancia en profundidad podemos calcular la tasa de extinción de la luz determinando de esta forma el coeficiente de atenuación vertical difusa. La luz se extingue exponencialmente con la profundidad siguiendo la siguiente relación (ecuación 1), de esta forma el coeficiente de atenuación se puede calcular como la pendiente de la regresión lineal entre el logaritmo natural de la irradiancia con respecto a la profundidad y se expresa en m^{-1} (Kirk 2011) (Figura 1).

Ecuación 1

$$E_d(Z) = E_d^{-0} \cdot e^{-(K_d \cdot Z)} \quad (1)$$

donde $E_d(Z)$ es la irradiancia (PAR o espectral) a una profundidad dada en metros (Z) y E_d^{-0} es la irradiancia (PAR o espectral) justo debajo de la superficie del agua. (Ver Figura 1)

Cabe destacar que el K_d puede calcularse para distintos intervalos de profundidad, siendo en general el más utilizado el que corresponde a la zona eufótica (arbitrariamente determinada entre la superficie y la profundidad a la que llega el 1% de la irradiancia incidente en superficie). En casos de lagos someros muy turbios, la zona eufótica puede llegar a ser de unos pocos centímetros lo que dificulta significativamente su medición. Por esto se puede calcular el K_d para un intervalo definido (por ejemplo, para 0.5 o 1 m de profundidad).

Como señalamos anteriormente, otra forma de estimar la transparencia de las aguas muy utilizada por los limnólogos es la medición de la profundidad del disco de Secchi (DS). Esta medición ha sido muy popular por su sencillez y bajo costo. El DS es un disco blanco y negro dividido en cuatro sectores o porciones que se alternan con los colores negro y blanco, de 20 a 30 cm de diámetro,

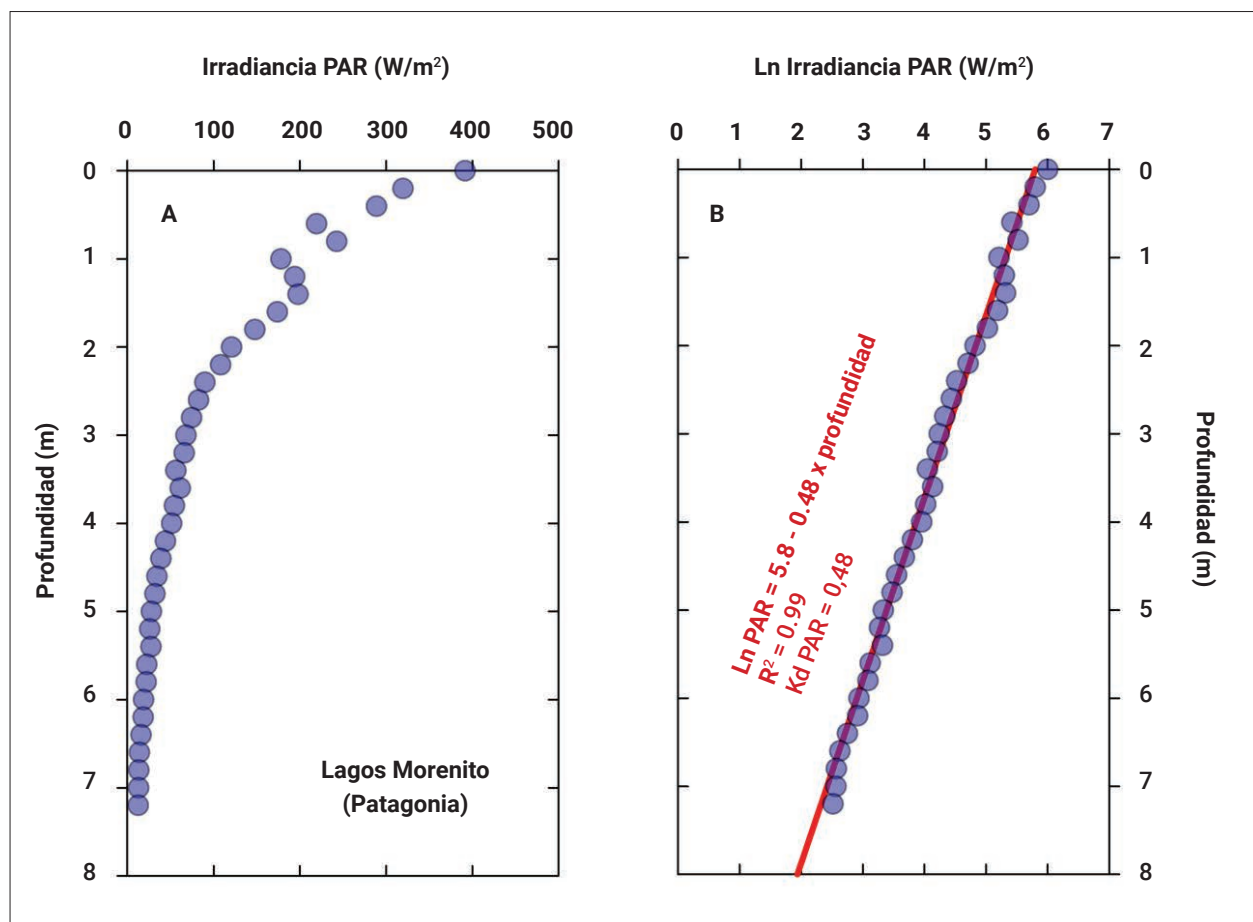


Fig. 1. A) extinción de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) con la profundidad, B) regresión lineal del Ln PAR en función de la profundidad, siendo la pendiente de la recta de regresión el coeficiente de atenuación vertical difuso (K_d PAR).

se baja a través de la columna de agua y se anota la profundidad a la que simplemente desaparece de la vista. Esto se conoce como transparencia de disco de Secchi, o profundidad de Secchi, Z_{sd} . Cabe destacar que existen algunas limitaciones en la utilización del Sd para medir la transparencia de las aguas. Por un lado, su lectura tiene un grado significativo de subjetividad dado que depende tanto del usuario como del momento al hacer la lectura. Por otro lado, en lagos someros transparentes el Sd puede llegar al fondo del cuerpo de agua, siendo la lectura de su profundidad nula o subestimada. Diversas publicaciones han estudiado la relación entre el Sd y el Kd, principalmente motivada por la necesidad de poder usar el Sd para estimar el Kd y de esta forma lograr una lectura óptica más robusta o la posibilidad de completar series temporales de mediciones de transparencia (entre otros motivos). Sin embargo, la relación Sd x Kd puede variar ampliamente llegando a un factor alrededor de 3 en lagos de Nueva Zelanda y Alaska, siendo el Sd más sensible a la turbidez que el Kd (Daves-Colley & Vant 1988; Koenings & Edmundson 1991). En tal sentido, la relación Sd x Kd puede utilizarse a escala regional, considerando seriamente la categorización de los cuerpos de agua en distintos grupos por sus características ópticas (e.g., lagos claros, lagos turbios orgánicos y turbios inorgánicos) (Pérez et al., 2013). Valores bajos de Sd x Kd se relacionan a lagos turbios, mientras que lagos coloreados (con alta concentración de materia orgánica disuelta de color) presentan valores altos de Sd x Kd (Koenings & Edmundson 1991).

Mediciones de los coeficientes de absorción y dispersión de la luz

La atenuación o extinción de la luz en un medio acuático esta estrechamente relacionada con los procesos de absorción y dispersión de la luz. Un fotón al entrar en el cuerpo de agua puede ser absorbido (que involucra una transformación energética) o dispersado. Al dispersarse este fotón puede desviarse en distintos ángulos e incluso volver a salir del sistema acuático. Las mediciones de los coeficientes de absorción y dispersión pueden darnos valiosa información en lo que respecta a la importancia o contribución de las distintas fracciones ópticamente activas al escenario óptico subacuático (Figura 2). De esta forma podemos contestar preguntas como: ¿Qué relevancia tiene el fitoplancton/detrito/sustancias orgánicas disueltas de color (CDOM, en sus siglas en ingles) en la atenuación de la luz? ¿Por qué en el fondo de un lago llega más radiación de color azulada que verde? (Ver Figura 2)

Por otro lado, los coeficientes de absorción pueden darnos información muy interesante de la comunidad fitoplanctónica relacionados a la estructura de tamaño de la comunidad y su fotoaclimatación (Pérez et al., 2011; Gerea et al., 2017), o de la cantidad y calidad de la materia orgánica disuelta, siendo esto clave para entender los efectos de cambios ambientales a escalas locales o regionales (Queimaliños et al., 2019) y el rol de los cuerpos de agua continentales en el ciclo del carbono global (Cole et al., 2007). Asimismo, estimar los coeficientes de absorción y dispersión y fraccionar su contribución al Kd nos permite contar con una herramienta analítica para el manejo adecuado y restauración de cuerpos de agua someros (Pérez et al., 2013; Gallagos et al., 2001). Por ultimo, la absorción y dispersión de la luz influyen en la reflectancia de los cuerpos de agua, siendo por lo tanto clave para la estimación de propiedades de calidad de agua por satélites u otros sensores remotos.

Coeficientes de absorción

El coeficiente de absorción, en m^{-1} , en cualquier punto dentro de un cuerpo de agua se puede describir en términos de la contribución aditiva de sus componentes como:

$$a(\lambda) = a_p(\lambda) + a_{cdom}(\lambda) + a_w(\lambda) \quad (2)$$

donde $a_p(\lambda)$, $a_{cdom}(\lambda)$ y $a_w(\lambda)$ son los coeficientes de absorción espectral de las partículas, componentes disueltos orgánicos de color y del agua respectivamente. Los coeficientes de absorción espectral de agua pura han sido previamente tabulados (e.g., Pope and Fry, 1997). El coeficiente de absorción de las partículas se puede descomponer aún más como:

$$a_p(\lambda) = a_{ph}(\lambda) + a_d(\lambda) \quad (3)$$

donde $a_{ph}(\lambda)$ y $a_d(\lambda)$ son los coeficientes de absorción espectrales correspondientes al fitoplancton y al detrito (partículas inorgánicas o no clorofílicas).

Los protocolos aquí presentados para analizar la absorción por material soluble y particulado en aguas naturales se basan en la evolución metodológica a partir de los artículos de Kalle (1938) y Yentsch (1962). Estos protocolos permiten separar los coeficientes de absorción espectral total en sus componentes mediante mediciones espectrofotométricas de muestras preparadas a partir de la filtración de muestras de agua discretas.

La absorbancia espectral de los filtros y el filtrado de estas muestras, medidas en un espectrofotómetro

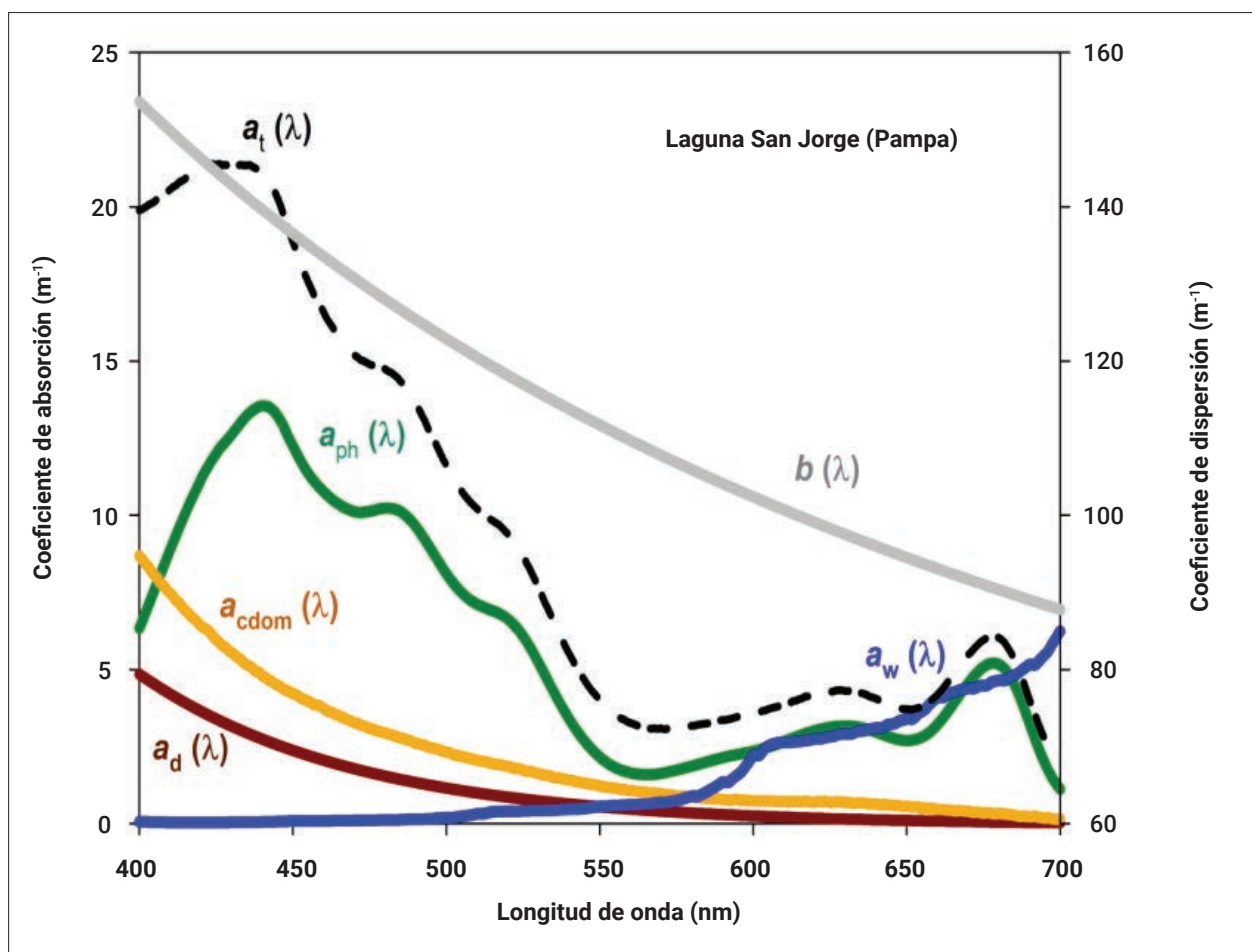


Fig. 2. Coeficientes de absorción espectral de las distintas fracciones absorbedoras y del coeficiente de dispersión total.

de doble haz, se expresan en unidades de densidad óptica (DO). Para los métodos presentados aquí, la referencia es un filtro de fibra de vidrio (GF/F) en blanco debidamente hidratado para la absorción de partículas, o una cubeta óptica de vidrio de cuarzo limpia llena directamente de una fuente de agua purificada para la absorción de material soluble.

Absorción de las sustancias orgánicas disueltas cromofóricas (CDOM)

La absorción del CDOM, de muestras de agua discretas, es caracterizada por escaneos espectrofotométricos en el rango UV-visible (entre los 250 y 800 nm). Los escaneos se realizan sobre el agua de lago filtrada secuencialmente a través de filtros GF/F y posteriormente por membranas de 0.2 μm , utilizando en un sistema de filtración de vidrio limpiado con ácido.

La DO del CDOM se mide en un espectrofotómetro de doble haz equipado con una celda de cuarzo de 1 a 10 cm de paso óptico (dependiendo la

concentración de sustancias disueltas en la muestra). La absorbancia se debe registrar entre los 250 y 750 nm a intervalos de 1 nm. La referencia o blanco de la medición debe ser agua de pureza tipo Milli-Q. Los coeficientes de absorción del CDOM se calculan de la siguiente manera:

$$a_{\text{cdom}}(\lambda) = 2.303 \cdot DO_s(\lambda)/l \quad (4)$$

donde l es la longitud de paso óptico de la cubeta expresada en metros y $DO_s(\lambda)$ es la densidad óptica de la muestra de filtrado en relación con el agua purificada.

Debe tenerse en cuenta que la DO es una cantidad adimensional. El uso de logaritmos de base 10 en este contexto es un remanente de la práctica común en la espectroscopia química y es el resultado típico de los espectrofotómetros comerciales que se utilizan de forma rutinaria para estos métodos. Por lo tanto, es necesario convertir las medidas descritas en este capítulo a la representación base-e de la absorbancia, es decir, multiplicar por 2.303, para cumplir con la convención utilizada en todos los protocolos de hidrología óptica donde

se considera el logaritmo natural para los cálculos. Los espectros de CDOM se corrigen por la dispersión residual de partículas de tamaño fino, microburbujas de aire o diferencias en el índice de refracción entre la muestra y la referencia restando el valor promedio de DO entre 600 y 720 nm (Mitchell et al., 2000).

Absorción de las sustancias particuladas en suspensión (fitoplancton y detrito)

Los coeficientes de absorción de materia particulada total [$a_p(\lambda)$] pueden medirse espectrofotométricamente utilizando la técnica de filtro cuantitativo (QFT, por sus siglas en inglés), utilizando el método de transmitancia simple (Mitchell, 1990; Mitchell et al., 2000; IOCCG, 2018). Los filtros de vidrio con la muestra se colocan próximos al detector del espectrofotómetro (para esto se puede usar un soporte de vidrio de cuarzo o similar). Como blanco o referencia se usa un filtro humedecido con agua de alta calidad tipo Milli-Q. Los barridos de DO se deben realizar en un espectrofotómetro de doble haz entre los 300 y 750 nm a intervalos de 1 nm mientras los filtros (con los filtros de muestra y referencia húmedos). Se debe comprobar que las DO sean inferiores a 0,4 (Cleveland y Weidemann, 1993), de lo contrario se debe filtrar menos volumen de muestra. Los coeficientes de absorción de partículas que no son algas [$a_d(\lambda)$] se pueden determinar con el método de extracción con metanol (Kishino et al., 1985). Los coeficientes de absorción de $a_p(\lambda)$ (primera medición) y $a_d(\lambda)$ (medición después de la extracción) se calculan siguiendo la ecuación:

$$a_{p,d}(\lambda) = 2.303 \cdot DO_f(\lambda) \cdot S / V \cdot \beta(\lambda) \quad (5)$$

donde $DO_f(\lambda)$ es la DO medida con QFT, S es el área de aclaramiento del filtro, V es el volumen de agua filtrada y $\beta(\lambda)$ es el factor de amplificación (Mitchell y Kiefer, 1988). El factor $\beta(\lambda)$ se calculó siguiendo a Bricaud y Stramski (1990) con la ecuación:

$$\beta(\lambda) = 1.63 \cdot DO_f(\lambda)^{-0.22} \quad (6)$$

Alternativamente otros factores de amplificación pueden ser utilizados dependiendo la estructura de la comunidad y sus características de distribución de tamaño (e.g., Cleveland and Weidemann, 1993). Como procedimiento estándar, se establece una corrección de punto nulo en 750 nm, donde se supone que la absorbancia por partículas es insignificante y se debe restar esta DO a todo el espectro. Los coeficientes de absorción de fitoplancton [$a_{ph}(\lambda)$] se obtienen restando $a_d(\lambda)$ de $a_p(\lambda)$.

Coefficientes de dispersión

Muchos de los fotones que entran en el sistema acuático se dispersan una o más veces antes de ser absorbidos. La dispersión no elimina la luz por sí sola (es decir todavía existe un fotón disperso disponible para, por ejemplo, el proceso fotosintético). El efecto de la dispersión es impedir la penetración vertical de la luz, lo que aumenta la longitud total de la trayectoria que los fotones deben seguir al atravesar una cierta profundidad y, por lo tanto, aumenta la probabilidad de que sean capturados por uno de los componentes absorbentes del medio (Kirk, 2011). Además, algunos de los fotones son dispersados hacia arriba y como resultados se intensifica la atenuación vertical de la luz.

La medición de los coeficientes de dispersión en aguas naturales puede realizarse con instrumentos que miden la dispersión en ángulos variables o ángulos fijos. Alternativamente puede estimarse midiendo la Turbidez Nefelométrica (Tn) con un turbidímetro, donde para aguas con turbidez moderada a alta (debido a la abundante presencia de partículas orgánicas e inorgánicas), debe haber una relación aproximadamente lineal con el coeficiente de dispersión. En aguas con baja cantidad de partículas puede estimarse del *beam attenuation* y mediciones conjuntas de $a_t(\lambda)$ (Roesler and Boss, 2003).

Por lo tanto, en muchos lagos someros el coeficiente de dispersión espectral puede estimarse utilizando la turbidez siguiendo la ecuación propuesta por Gallegos (1994):

$$b(\lambda) = (550/\lambda) \cdot Tn \quad (7)$$

donde el término $550/\lambda$ introduce la dependencia inversa de la longitud de onda del coeficiente de dispersión sugerido por Morel y Gentili (1991).

Bibliografía:

- Bricaud, A., D. Stramski. 1990. Spectral absorption coefficients of living phytoplankton and nonalgal biogenous matter: a comparison between the Peru upwelling area and the Sargasso Sea. *Limnol. Oceanogr.* 35, 562–582. <https://doi.org/10.4319/lo.1990.35.3.0562>.
- Cleveland, J.S., A. D. Weidemann. 1993. Quantifying absorption by aquatic particles: a multiple scattering correction for glass-fiber filters. *Limnol. Oceanogr.* 38, 1321e132
- Cole, J.J., Y. T. Prairie, N. F. Caraco, W. H. McDowell, L. J. Tranvik, R. G. Striegl, C. M. Duarte, P. Kortelainen, J. A. Downing, J. J. Middelburg, J. Melack. 2007. Plumbing the Global Carbon Cycle: Integrating Inland Waters into the Terrestrial Carbon Budget. *Ecosystems* 10, 172–185. <https://doi.org/10.1007/s10021-006-9013-8>
- Davies-Colley, R. J., W. N. Vant. 1988. Estimates of optical properties of water from Secchi disk depths. *Water Res. Bull.*, 24, 1329–35.
- Gallegos, C.L. Refining habitat requirements of submersed aquatic vegetation: Role of optical models. *Estuaries* 17, 187–199 (1994). <https://doi.org/10.2307/1352568>
- Gerea, M., Pérez, G.L., Unrein, F., Soto Cárdenas, C., Morris, D., Queimaliños, C., 2017. CDOM and the underwater light climate in two shallow North Patagonian lakes: evaluating the effects on nano and micro-phytoplankton community structure. *Aquat. Sci.* 79, 231–248. <https://doi.org/10.1007/s00027-016-0493-0>
- IOCCG (2018) IOCCG Ocean Optics and Biogeochemistry Protocols for Satellite Ocean Colour Sensor Validation; Volume 1.0. Inherent Optical Property Measurements and Protocols: Absorption Coefficient (eds. Neeley, A. R. and Mannino, A.). Dartmouth, NS, Canada, International Ocean-Colour Coordinating Group (IOCCG), 78pp. DOI: <http://dx.doi.org/10.25607/OBP-119>
- Kalle, K., 1938: Zum problem der meerwasserfarbe. *Ann.Hydr.u.Martim.Meterol.* 66, 1.S.55-
- Kirk, J.T.O., 2011. *Light and Photosynthesis in Aquatic Eco-Systems*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 649.
- Kishino, M., M. Takahashi, N. Okami, S. Ichimura, 1985. Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea. *Bulletin of marine science*, 37(2), 634-642.
- Koenings, J.P., J.A. Edmundson. 1991. Secchi disk and photometer estimates of light regimes in Alaskan lakes: effects of yellow colour and turbidity. *Limnol. Oceanogr.*, 36, 91–105.
- Mitchell, B.G., 1990. In: Proc. S.P.I.E. (Ed.), Algorithms for Determining the Absorption Coefficient for Aquatic Particulates Using the Quantitative Filter Technique. *Ocean Optics X*, pp. 137–148. <https://doi.org/10.1117/12.21440>, 1302.
- Mitchell, B.G., et al., 2000. Determination of spectral absorption coefficients of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples. In: Fargion, G., Mueller, J., (Eds.), *Ocean Optics Protocols (NASA/TM) Greenbelt, Maryland*, pp. 125–153
- Mitchell, B.G., D. A. Kiefer. 1988. Chlorophyll α specific absorption and fluorescence excitation spectra for light-limited phytoplankton. *Deep Sea Res. Part A. Oceanogr. Res. Pap.* 35, 639–663. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(88\)90024-6](https://doi.org/10.1016/0198-0149(88)90024-6).
- Morel, A., B. Gentili. 1991. Diffuse reflectance of oceanic waters: its dependence on sun angle as influenced by the molecular scattering contribution. *Appl. Opt.* 30, 4427e4438.
- Pérez, G.L., M. E. Llares, L. Lagomarsino, H. Zagarese. 2011. Seasonal variability of optical properties in a highly turbid lake (laguna Chascomús, Argentina). *Photochem. Photobiol.* 87, 659–70. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00907.x>
- Pérez, G.L., L. Lagomarsino, H.E. Zagarese H.E. 2013. Optical properties of highly turbid shallow lakes with contrasting turbidity origins: The ecological and water management implications. *J. Environ. Manage.* 130, 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.001>
- Pope, R.M., E. S. Fry. 1997. Absorption spectrum (380e700 nm) of pure water. II. Integrating cavity measurements. *Appl. Opt.* 36, 8710e8723.
- Preisendorfer, R.W., 1961. Application of radiative transfer theory to light measurements in the sea. *Union Geod. Geophys. Inst. Monogr.* 10, 11–30.
- Roesler, C.S., E. Boss, 2003. Spectral beam attenuation coefficient retrieved from ocean color inversion. *Geophys. Res. Lett.* 30, 1–4.
- Yentsch, C.S., 1962: Measurement of visible light absorption by particulate matter in the ocean. *Limnology and Oceanography*, 7, 207-217

CAPÍTULO 5

Metodología para el estudio del fitoplancton y principales grupos funcionales en lagunas pampeanas

Irina Izaguirre, María Laura Sánchez, Luz Allende

Introducción

El fitoplancton es el conjunto de organismos microscópicos fotosintéticos que viven suspendidos en la columna de agua y cumple un rol fundamental en los ecosistemas acuáticos ya que en la mayoría de los casos constituye la base de toda la trama trófica, además de aportar oxígeno al cuerpo de agua en el proceso fotosintético.

Por su pequeño tamaño y la elevada tasa de multiplicación de los organismos microscópicos que conforman el fitoplancton, éste es muy sensible a los cambios ambientales, y por lo tanto es un excelente centinela de los cambios que tienen lugar en el ambiente. El fitoplancton responde rápidamente a las principales amenazas que afectan a los ecosistemas acuáticos, tales como la eutrofización, la contaminación de distinto tipo, la introducción de especies y el cambio climático (Izaguirre et al., 2019).

Las especies del fitoplancton pueden presentar distintos rasgos funcionales, de tipo morfológico o fisiológico. En los últimos años el uso de la diversidad funcional se ha extendido ampliamente ya que permite analizar la estructura de esta comunidad, y analizar los cambios que se producen en la misma, sin necesidad de contar con una gran experiencia en taxonomía. Debido a ello, en muchos monitoreos acuáticos se recurre al estudio de los grupos funcionales. Si un cuerpo de agua se ve afectado por la influencia de las actividades antrópicas que tienen lugar en la región, o por el cambio climático, el fitoplancton se constituye en un centinela que registra estos cambios a nivel de ciertas especies clave o grupos funcionales (Izaguirre et al., 2019). De esta manera, el monitoreo de esta comunidad es de vital importancia para cualquier plan de manejo o medida de conservación que se quiera implementar en un cuerpo de agua.

En este capítulo nos centraremos en el estudio del fitoplancton de cuerpos de agua someros, particularmente enfocándonos en lagunas pampeanas.

Extracción de muestras y su preservación

Establecimiento de sitios de muestreo y periodicidad: El primer paso cuando se desea llevar a cabo el análisis de la comunidad fitoplanctónica en un cuerpo de agua léntico somero es establecer los sitios en los cuales se recolectarán las muestras de fitoplancton, lo que dependerá de los objetivos del estudio y de las características del ambiente. En muchas lagunas pampeanas suele existir una diferenciación bastante clara entre la zona litoral y la limnética (o de aguas abiertas), ya que la primera puede presentar un mayor desarrollo de macrófitas acuáticas, principalmente arraigadas emergentes en forma de anillo; en estos casos se recomienda recolectar muestras en ambas zonas.

Si el cuerpo de agua presenta afluentes, y se desea cubrir una mayor variabilidad espacial, puede ser necesario recolectar muestras en la zona de la desembocadura de los mismos. Del mismo modo, si existen fuentes puntuales de ingresos de contaminantes, será necesario recolectar muestras en estos sitios.

En aquellos casos en los que no existan diferencias espaciales muy marcadas y la laguna no presente una zona litoral muy vegetada, es suficiente con tomar muestras en la zona limnética, aunque de ser posible es recomendable tomar muestras en tres puntos diferentes para poder luego hacer promedios. En casos de cuerpos de agua irregulares puede ser necesario incluir la toma de muestras en zonas de la laguna que representen la heterogeneidad espacial.

Las lagunas someras suelen presentar un régimen de mezcla **polimíctico** y por lo general la columna de agua está bien mezclada, por lo cual hay bastante homogeneidad vertical. Por este motivo, para analizar la comunidad fitoplanctónica de un cuerpo de agua léntico somero no suelen tomarse muestras a distintas profundidades, y resulta suficiente con obtener muestras subsuperficiales (en la práctica en los primeros 50 cm de la columna de agua).

En cuanto a la periodicidad, el fitoplancton experimenta fluctuaciones temporales a lo largo del año, cambiando la composición de especies de la comunidad y abundancia de las poblaciones debido a cambios en los factores físicos, químicos y biológicos. Estas fluctuaciones pueden ser bastante pronunciadas en algunas lagunas, sobre todo en pequeños cuerpos de agua como los urbanos, que son altamente influenciados por las condiciones ambientales. Por este motivo se aconseja tomar muestras en distintas épocas del año, típicamente con una periodicidad mensual, aunque de acuerdo al objetivo y al tipo de ambiente puede ser necesario obtener muestras quincenalmente. Asimismo, es conveniente incrementar la frecuencia de muestreo en épocas cálidas cuando comienzan a desarrollarse floraciones de algunas especies. De no ser posible obtener muestras con una periodicidad mensual, si la laguna se encuentra en una región donde existen diferencias estacionales (ejemplo lagunas pampeanas), es al menos necesario realizar un muestreo en cada una de las estaciones del año.

En todos los sitios de muestreo y fechas deberán extraerse muestras para análisis cualitativos y cuantitativos, cuya metodología se explica a continuación.

Obtención de muestras para análisis cualitativos: las muestras que se van a utilizar para análisis cualitativos, es decir para la identificación de las especies que conforman la comunidad, se obtienen con una red de fitoplancton cuyo tamaño de poro suele ser entre 15 y 25 μm . Para ello se deberán hacer barridos verticales u horizontales con la red desde la embarcación - en el caso de obtener las muestras en aguas abiertas - y desde algún muelle o ingresando a la laguna con wadders en la zona litoral. Con estos barridos se buscará concentrar una buena cantidad de fitoplancton en el copo de la red. Como la red suele colmatarse rápidamente en cuerpos de agua muy eutróficos, un buen consejo es dar palmadas a la red para permitir que el material se desprenda de la tela filtrante, lo que va a permitir un mayor volumen filtrado. Una buena concentración de fitoplancton en el copo (que se

evidencia por la coloración verde) permitirá luego disponer de material suficiente para llevar a cabo las identificaciones de las especies que conforman la comunidad. El material que se concentra en el copo de la red se coloca luego en frascos plásticos con tapa a rosca. Es muy importante tener en cuenta que estas muestras no sirven para realizar análisis cuantitativos, ya que en la filtración se pierde toda la fracción de tamaño de algas picoplanctónicas ($<2\ \mu\text{m}$) y gran parte de las nanoplanctónicas ($<20\ \mu\text{m}$). No obstante, cabe señalar que si bien las redes dejan pasar gran parte de las algas que presentan tamaño menor al diámetro del poro, algunas especies más pequeñas pueden quedar retenidas en la muestra por la colmatación de la red y porque algunos organismos pequeños pueden quedar aglutinados con organismos más grandes. Sin embargo, las proporciones de algas fitoplanctónicas de distinto rango de tamaño que se obtienen con esta metodología no refleja las proporciones reales de las microalgas en el cuerpo de agua. Por ese motivo, estas muestras sólo servirán para llevar a cabo los análisis cualitativos.

De ser posible un análisis inmediato al microscopio, es preferible transportar estas muestras sin fijar al laboratorio, ya que muchos organismos fitoplanctónicos pierden algunas de sus características morfológicas cuando están fijados, y su observación *in vivo* ayuda a la identificación. En la práctica esto rara vez es posible, y lo más recomendable entonces es fijar estas muestras con formalina (formaldehído acuoso al 40%) que se utiliza a una concentración final del 2 al 3% en la muestra. Este fijador es muy efectivo y permite almacenar las muestras por períodos bastante largos de tiempo para analizar la composición de la comunidad.

Obtención de muestras para análisis cuantitativos: Por otro lado, en cada sitio de muestreo se deberán recolectar muestras para análisis cuantitativos, que son las que se utilizarán para realizar los recuentos algales al microscopio invertido (Figura 2). Estas muestras deben obtenerse sin filtrar, simplemente obteniendo una muestra de agua del ambiente mediante baldes o botellas tipo Van Dorn, las que se colocan en frascos plásticos con tapa a rosca de unos 200 a 300 mL de volumen (en el caso de lagunas mesotróficas o eutróficas) y la fijación se lleva a cabo con lugol acidificado al 1 %; el lugol acidificado con ácido acético permite una mejor conservación de las muestras y por un período de tiempo más largo y la receta para su preparación puede consultarse en el manual de métodos de sistemas lóticos (<https://remaqua.conicet.gov.ar/>). Estas muestras deben conservarse siempre en oscuridad y en frío (a 4 °C), pero no deben congelarse. En el campo, mientras se lleva

a cabo el muestreo, se las debe guardar en una heladera portátil con conservadores o hielo hasta la llegada al laboratorio; una vez en el laboratorio se almacenan en la heladera o en una cámara fría y en oscuridad a 4 °C (Ver Figura 1).

Análisis Cualitativos

En el laboratorio se procederá a la observación de las muestras cualitativas utilizando un microscopio óptico binocular (Figura 2). Para ello se montan gotas de la muestra cualitativa bien concentrada entre portaobjetos y cubreobjetos y se examinan al microscopio para llevar a cabo la identificación de las especies, géneros, grupos taxonómicos mayores o grupos funcionales del fitoplancton (de acuerdo a lo que se desee analizar). En la práctica se realiza una primera observación del material a un aumento total de 400X (considerando un ocular de 10X y un objetivo de 40X). Luego, para la identificación detallada de cada organismo, en la mayoría de los casos se deberá realizar una examinación a un aumento de 1000X (ocular de 10X y objetivo de 100X) utilizando aceite de inmersión. Si se dispone de un microscopio con cámara fotográfica incorporada y un programa de imágenes, es conveniente fotografiar los ejemplares y armar en la misma computadora, una biblioteca para cada sitio. De no contar con este dispositivo, hay en el mercado buenos adaptadores para celulares que no son muy costosos, que se pueden montar en el microscopio para obtener las fotografías con el celular; otra opción más sencilla y que da buenos resultados es obtener directamente fotos con

el celular. Antiguamente se utilizaban los tubos de dibujo incorporados al microscopio y que permitían proyectar las imágenes de los ejemplares observados en un papel para dibujarlos, pero estos instrumentos suelen ser caros y han caído en desuso; no obstante, cabe aclarar que si se dispone de un tubo de dibujo en un microscopio, y no se cuenta con un programa, el primero puede ser útil para medir los ejemplares ya que se puede confeccionar una regla de medición para cada aumento del microscopio con la ayuda de un porta graduado.

Si se desea realizar el análisis cualitativo de la comunidad a la menor resolución taxonómica posible (nivel de especie) es muy importante realizar las mediciones de los ejemplares y analizar aquellos caracteres morfológicos que permiten su correcta identificación en cada caso. Es conveniente tomar varias fotos de cada uno de los taxones, ya que esto permitirá luego realizar los cálculos de biovolumen con mayor precisión dado que suele haber variabilidad de tamaño en una misma especie en una misma muestra. Muchos programas permiten realizar las medidas cuando se obtiene la foto de cada ejemplar, y guardar las fotos con las medidas. Es necesario aclarar que para realizar un análisis cualitativo a este nivel de resolución se requiere una gran experiencia y conocimiento de los grupos taxonómicos fitoplanctónicos, lo que suele ser un factor limitante en muchos casos. Por este motivo, para muchos trabajos de monitoreo es útil trabajar a nivel de grupos funcionales.



Fig. 1. Material necesario para tomar muestras cuali y cuantitativas de fitoplancton

Para la identificación de las especies de los distintos grupos taxonómicos que pueden encontrarse en una comunidad fitoplanctónica se recomiendan algunos de los siguientes tratados: (Ver Tabla 1)

Análisis Cuantitativos

Los recuentos de los taxones fitoplanctónicos se realizan mediante un microscopio invertido siguiendo la metodología propuesta por Utermöhl

(1958). En un primer paso se homogeneiza la muestra, moviendo la botella en forma de “ocho” durante al menos 30 segundos. Se recomienda que la muestra se encuentre a temperatura ambiente para que no se formen burbujas que dificulten el recuento. Se coloca la muestra homogeneizada en una cámara de sedimentación (Ver Figura 2) cuyo volumen depende de la concentración de la muestra. Una vez llena, la cámara se tapa con

Autor	Año	Título	Grupo taxonómico
Bourrelly P.	1970	Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome III: Les algues bleues et rouges. Les Eugléniens, Peridiniens et Cryptomonadines.	Euglenophyta
Bourrelly P.	1972	Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome I: Les algues vertes.	Chlorophyta
Bourrelly P.	1981	Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome II: Les algues jaunes et brunes. Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées.	Chrysophyta, Xanthophyta y Bacillariophyta
Ettl H.	1983	Chlorophyta I (Phytomonadina). En: Süßwasserflora von Mitteleuropa.	Chlorophyta
Komárek J. y Fott B.	1983	Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung Chlorococcales. En: Das Phytoplankton des Süßwassers.	Chlorophyta: Chlorophyceae
Komárek J. y Anagnostidis K.	1999	Cyanoprokariota. 1. Teil: Chroococcales. En: Süßwasserflora von Mitteleuropa.	Cyanobacteria: Chroococcales
Komárek J. y Anagnostidis K.	2005	Cyanoprokariota. 2. Teil: Oscillatoriales. En: Süßwasserflora von Mitteleuropa.	Cyanobacteria: Oscillatoriales
Krammer, K. y Lange-Bertalot H.	1986	Bacillariophyceae. 1. Naviculaceae. En: Ettl H., Gerloff J., Heying H. y Mollenhauer D. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa	Bacillariophyceae
Krammer, K. y Lange-Bertalot H.	1988	Bacillariophyceae. 2. Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. En: Ettl H., Gerloff J., Heying H. y Mollenhauer D. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa	Bacillariophyceae
Krammer, K. y Lange-Bertalot H.	1991	Bacillariophyceae. 3. Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. En: Ettl H., Gerloff J., Heying H. y Mollenhauer D. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa	Bacillariophyceae
Krammer, K. y Lange-Bertalot H.	1991	Bacillariophyceae. 4. Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolate) und Gomphonema. En: Ettl H., Gerloff J., Heying H. y Mollenhauer D. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa	Bacillariophyceae
Prygiel J. y Coste M.	2000	Guide méthodologique pour la mise en œuvre de l'Indice Biologique Diatomées	Bacillariophyta
Tell G. y Conforti V.	1986	Euglenophyta Pigmentadas de la Argentina	Euglenophyta
Wehr J.D. y Sheath R.G.	2003	Freshwater Algae of North America	Todos los grupos algales
www.algaebase.org			Todos los grupos algales

Tabla 1

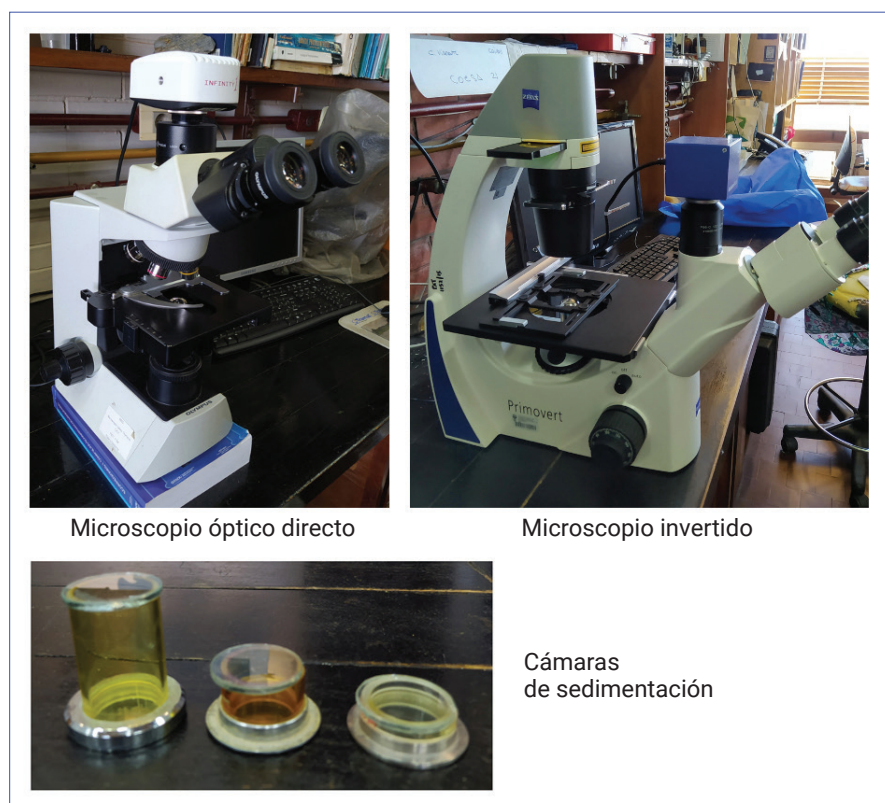


Fig. 2. Instrumental y dispositivos necesarios para realizar los análisis cuali y cuantitativos de fitoplancton

un vidrio grueso al ras, evitando la formación de burbujas. En las lagunas pampeanas, que son eutróficas, se utilizan cámaras de 10, 5 o 2 mL. Incluso en períodos de floraciones algales a menudo se deben realizar diluciones de la muestra previamente a la homogeneización para poder realizar el recuento, dado que la abundancia de individuos es muy grande. Por el contrario, si la abundancia de individuos es muy baja se deberán usar cámaras de sedimentación de mayor volumen. El tiempo de sedimentación varía según el volumen de la cámara; de acuerdo a las recomendaciones indicadas en *Phytoplankton Manual* (Sournia ed., 1978) los tiempos mínimos son de 8 hs para cámaras de 10 mL y hasta 48 hs para cámaras desmontables de 50 y 100 mL (éstas sólo se usan para ambientes muy oligotróficos). En la práctica, para lagunas mesotróficas y eutróficas se suele dejar la muestra sedimentando de un día para el otro; si esto no fuera posible porque se requiere realizar los recuentos más rápidamente, se pueden acortar los tiempos, por ejemplo 3 hs si se usa una cámara de 2 mL.

Luego de finalizada la sedimentación se procede al recuento de los individuos que aparecen en el campo a un aumento de 400X (o si el tamaño de las especies es grande se puede realizar a 200X). Para estudios ecológicos usualmente los organismos se cuantifican como unidades naturales o individuos (células, colonias o filamentos). Sin

embargo, para estudios de calidad de agua se recomienda que la expresión de los resultados se realice como número de células para poder comparar los datos de distintos ambientes de modo más simple así como para calcular biovolúmenes.

Si la concentración de individuos es muy elevada, y si el ocular del microscopio cuenta con una grilla, se pueden contar sólo los individuos que se encuentren en la misma. Se debe registrar la identidad de los organismos observados en cada campo así como el número de veces que dichos organismos aparecen en cada campo. Se recomienda recorrer una transecta horizontal o vertical a lo largo de la cual se van contando los individuos en campos (o grillas) y registrando todo en una planilla de recuentos.

Además, es imprescindible registrar el volumen de la cámara de sedimentación que se utilizó, el aumento al que se realizó el recuento e indicar si se contó todo el campo o sólo la grilla para realizar el posterior cálculo de densidad en individuos/mL.

Modelo planilla de recuentos: (Ver Tabla 2)

Cálculo del error

Para estimar el error de los recuentos, si se cuentan varias alícuotas de una misma muestra se puede utilizar el criterio propuesto por Venrick (1978), tomando a la especie dominante como referencia

Nombre muestra: Fecha:		se contó: grilla/ campo entero		Aumento: 200X/400X		Total campos contados	
especie	campo 1	campo 2	campo 3	campo 4	campo 5	...	Total organismo
A							
B							
C							
....							

Tabla 2

y aceptando un error máximo del 20%, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ error} = \frac{SD}{\sqrt{n}} \times t \text{ student} \times 100 \div \bar{x}$$

Donde:

SD: es el desvío standard de la muestra contada

n: número de campos contados

t student: estadístico que se obtiene de la tabla correspondiente según el n

$\bar{x}$: promedio de la muestra contada

En la práctica se toma como criterio contar hasta alcanzar al menos 100 individuos de la especie más frecuente, pero a veces no es posible seguir este criterio por tener una baja densidad algal. En ese caso, se pueden contar tantos campos como fueran necesarios para estabilizar el número de especies según el método del área mínima, o se realiza el cálculo del error para las especies más abundantes, que no debe exceder al 20%.

De acuerdo a Kirchman (1993), se puede tomar el criterio de contar hasta alcanzar un total de 300 individuos contados.

Cálculo de la densidad (ind/mL)

Una vez finalizado el recuento de la muestra se procederá al cálculo de la densidad de cada taxón determinado. Para esto se aplicará la siguiente fórmula:

$$\text{Nro ind/mL} = (C \times a)/f$$

Donde:

C: número de individuos contados de esa especie en toda la muestra

a: constante para ese microscopio y ese volumen de cámara de sedimentación

f: número de campos contados

Cálculo de la constante a para cada microscopio:

La constante "a" es un valor que debe ser calculado para cada microscopio. Indica la relación entre el volumen de la cámara de sedimentación, el área de la misma y el volumen del campo observado. Se debe contar con un ocular graduado para poder medir el área del campo del microscopio a los distintos aumentos utilizados.

Se aplica la siguiente fórmula:

$$V \text{ campo} = (V \text{ cámara sedimentación} \times \text{Área campo}) / (\text{Área cámara sedimentación})$$

Donde:

V campo: volumen del campo que se busca determinar.

V cámara sedimentación: volumen de la cámara de sedimentación utilizada.

Área cámara sedimentación: es el área medida en mm² calculada tomando la medición del diámetro del fondo de la cámara de sedimentación en mm.

Área campo: cálculo que se debe realizar a partir de la medición del diámetro de cada campo con un ocular graduado. Se calcula el área del campo para los distintos aumentos que se utilicen en ese microscopio.

Una vez obtenido el valor V campo, éste se relativiza a 1 mL para poder obtener la constante final "a" correspondiente a 1 mL de muestra:

$$a = 1/(V \text{ campo})$$

Se debe obtener el valor de la constante “a” para cada volumen de cámara de sedimentación, para cada aumento y también para el campo entero o la grilla. En el caso de contarse la grilla se debe reemplazar el valor de Área campo por Área grilla en la fórmula de V campo, también medida con un ocular graduado.

Cuantificación con cámara de Sedgwick-Rafter

De no contar con un microscopio invertido, alternativamente se pueden realizar los recuentos en un microscopio óptico directo utilizando la cámara de Sedgwick-Rafter. En esta cámara se coloca 1 mL de muestra (luego de haber sido homogeneizada) con una pipeta Pasteur. Se procede al recuento de todos los individuos observados a lo largo de una transecta horizontal a 400X ó 200X. Para estimar la abundancia de los individuos hay que tener en cuenta: el área de cada transecta, el número de transectas y el volumen de la cámara.

Biovolumen del fitoplancton

La morfología y las dimensiones de células o colonias del fitoplancton son algunas de las variables más relevantes de esta comunidad dado que tienen un pronunciado impacto en sus características funcionales tales como el acceso a la luz o nutrientes, la velocidad de sedimentación o su susceptibilidad a la predación (Borics et al., 2021). Los organismos del fitoplancton pueden variar marcadamente en términos de forma y tamaño. Es por ello, que el volumen que ocupan puede presentar diferencias de varios órdenes de magnitud. Este volumen, conocido como biovolumen, representa un estimador de su biomasa. Elevadas densidades de especies de pequeño tamaño pueden contribuir escasamente al biovolumen total del fitoplancton, mientras que especies de mayor tamaño pueden encontrarse en bajos números, y dado su gran tamaño, dominar el biovolumen total. En este sentido, los recuentos del fitoplancton *per se* no son adecuados para realizar las estimaciones de biomasa algal (Hillebrand et al., 1999).

Existen métodos automáticos y semiautomáticos para realizar la estimación de biovolumen para esta comunidad, como por ejemplo sistemas de análisis de imágenes o la citometría de flujo (Sun y Liu, 2003). Sin embargo, el método más utilizado para calcular el biovolumen del fitoplancton se basa en la aproximación de la morfología de las diferentes especies a formas geométricas utilizando microscopía óptica. En comparación con los métodos automáticos y semiautomáticos, el uso del microscopio óptico para la estimación de esta variable permite una mayor resolución taxonómica

(a nivel de especie) y presenta menores fuentes de error (Hillebrand et al., 1999).

Aproximación de la morfología de especies de fitoplancton a formas geométricas

Para estimar el biovolumen del fitoplancton basado en la aproximación de su morfología a formas geométricas, se deben considerar aquellas formas que se asemejen lo más posible a la forma real de los organismos encontrados en las muestras. Posteriormente, se deben medir las dimensiones celulares lineales (longitud, ancho y espesor) (Konoplya y Soares, 2011) para realizar los cálculos correspondientes. Para ello se realizan preparados a partir de la muestra cualitativa (ver metodología más arriba). Se toma una submuestra del fondo del frasco con pipeta Pasteur y se coloca entre un portaobjetos y un cubreobjetos. Se sugiere medir al menos 25 células por especie lo que garantiza un error estándar menor al 10% (Hillebrand et al., 1999). Se deben medir células individuales de diferentes organismos de cada una de las especies (ya sea que formen colonias o filamentos, o que sean organismos unicelulares). Las mediciones deben realizarse en alta magnificación microscópica (400X – 1000X) con el objetivo de minimizar los errores de medición (Montagnes et al., 1994). En la sección de análisis cualitativos se explicó como realizar estas mediciones, ya sea a partir de una cámara de fotos incorporada al microscopio que cuente con un programa adecuado, o mediante la medición de ejemplares con la ayuda de una regla de graduación conocida incorporada al ocular, que deberá establecerse previamente con la ayuda de un porta graduado.

Mientras que la estimación de longitud y el ancho de las células pueden medirse sin dificultad con un microscopio óptico, la medición de la tercera dimensión (espesor o profundidad) para los organismos que presentan células radialmente asimétricas suele presentar inconvenientes. Para el caso del fitoplancton menor a 20 µm la medición de esta dimensión puede omitirse y puede considerarse que el espesor es igual al ancho (Verity et al., 1992). Sin embargo, esta simplificación resulta en la incorporación de error en la estimación del biovolumen para especies de mayor tamaño. En el caso de especies numéricamente abundantes, es frecuente encontrar las diferentes vistas de los organismos (longitud, ancho, espesor) en los preparados de microscopio lo que permite realizar las medidas para estimar el biovolumen. Sin embargo, en el caso de las especies raras, la estimación de las diferentes dimensiones puede verse afectada por la dificultad de contar con la suficiente cantidad de organismos que permitan una estimación adecuada. En estos casos se puede recurrir a datos morfométricos publicados en la bibliografía para cada especie en particular.

Existen trabajos en los cuales se presentan listas que asemejan diferentes especies del fitoplancton a formas geométricas y sugieren las correspondientes fórmulas para el cálculo del biovolumen (Hillebrand et al., 1999; Vadrucci et al., 2007; Konoplya y Soares, 2011). Mientras que la utilización de estas fórmulas puede aplicarse a organismos provenientes de diferentes ambientes, las dimensiones a considerar para realizar el cálculo de biovolumen deben medirse en la muestra a analizar, o corresponderse con ambientes y latitudes similares. Finalmente, una vez obtenidas las estimaciones de longitud, ancho y espesor, se realiza el cálculo del biovolumen para cada una de las especies (biovolumen sp_i) considerando el valor medio de las dimensiones lineales medidas.

Cálculo del biovolumen total del fitoplancton ($\mu\text{m}^3/\text{mL}$)

Una vez estimado el biovolumen para cada una de las especies encontradas y realizado el recuento de la muestra tal como se describió en la sección "Análisis cuantitativos", se procede al cálculo del biovolumen total de la muestra. Para esto, se realiza la sumatoria del producto de la cantidad de organismos de cada especie y su biovolumen aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Biovolumen muestra } (\mu\text{m}^3/\text{mL}) = \sum \text{densidad } sp_i \times \text{biovolumen } sp_i$$

Donde:

sp_i representa cada una de las especies encontradas en la muestra.

La biomasa algal (mg/L) puede estimarse a partir del biovolumen asumiendo que las algas tienen una densidad similar a la del agua ($\approx 1 \text{ g/mL}$) (Iza-guirre et al., 2015 y citas en este trabajo).

Grupos Funcionales

La estructura del fitoplancton puede analizarse también clasificando a los organismos en grupos funcionales formados por especies que presentan caracteres y estrategias de vida similares. Los métodos de clasificación pueden variar y considerar caracteres funcionales y morfológicos y/o una combinación de éstos con atributos fenológicos, ecológicos y taxonómicos. Algunos de los principales rasgos morfo-funcionales fueron propuestos en el trabajo de Weithoff (2003): tamaño, capacidad de fijar N, demanda de Si, capacidad de realizar fagotrofia, motilidad y forma (Ver Figura 3).

El sistema de clasificación propuesto por Reynolds (Reynolds et al., 2002 actualizado por Padisák et al., 2009) es un enfoque globalmente aceptado y se basa en el agrupamiento de las especies del fitoplancton considerando sus similitudes en los atributos funcionales, en los rangos de las condiciones ambientales donde pueden encontrarse y en la coexistencia de especies. El éxito de esta clasificación radica en la simplificación de largas listas taxonómicas en aproximadamente 3 docenas de grupos funcionales (**GF**) o "codones" que comparten características ecológicas (Naselli-Flores y Barone, 2011). Sin embargo, es necesario ser especialista para reconocer a los organismos a nivel de especie para poder clasificarlos en un codón en particular.

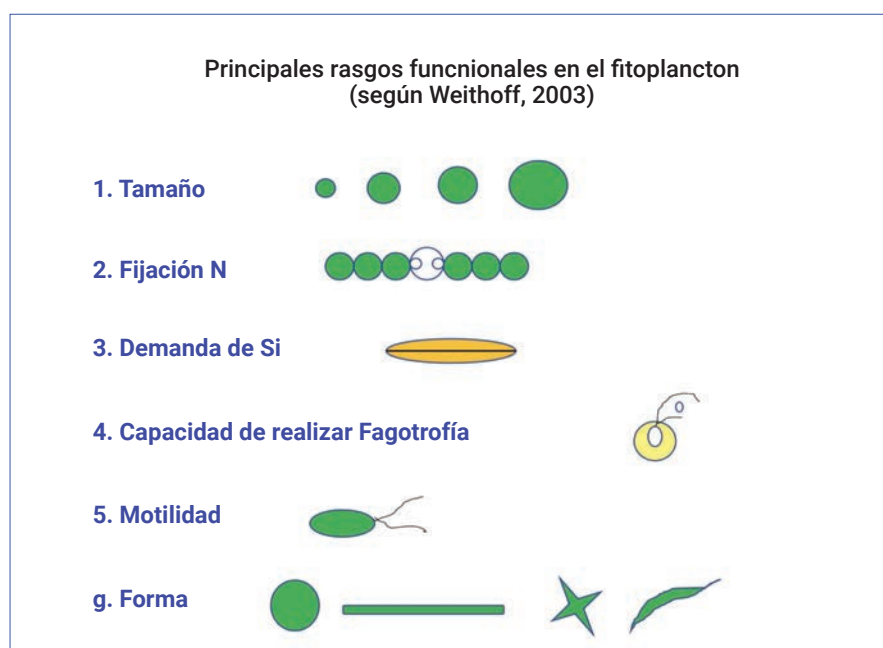


Fig. 3. Esquema de los principales rasgos funcionales en el fitoplancton (según Weithoff, 2003).

Un sistema de clasificación relativamente más sencillo fue propuesto por Salmaso y Padisák (2007) y actualizado por Tolotti et al. (2012). Este enfoque se basa en caracteres morfológicos y estructurales que influyen sobre las características ecológicas y funcionales de los organismos del fitoplancton, tales como la presencia de flagelo, la forma, el tamaño (si son mayores o menores a 30 µm), la habilidad de obtener fuentes de carbono y nutrientes alternativas, la presencia de cubiertas mucilaginosas y su taxonomía a nivel de órden o de grandes grupos. En este caso, los organismos pueden clasificarse en 33 grupos morfo-funcionales (**GMF**).

Por otro lado, Kruk et al. (2010) propusieron un sistema de clasificación alternativo basado puramente en caracteres morfológicos fácilmente observables y/o medibles (tales como el biovolumen, la máxima dimensión lineal del organismo, su área superficial, entre otros). Este sistema consta de 7 grupos funcionales basados en su morfología (**GFBM**).

Cabe destacar que los sistemas de clasificación para los cuales se requiere conocimiento taxonómico a nivel de especie (**GF**: Reynolds et al., 2002) o a nivel de grandes grupos (**GMF**: Salmaso y Padisák, 2007), pueden resultar complejos y requerir el análisis por parte de un especialista, pero proveen un mayor nivel de información de la estructura de la comunidad y son adecuados para realizar el seguimiento de la dinámicas de especies / grupos de organismos formadores de floraciones y/o algas potencialmente tóxicas. El enfoque de **GFBM** (Kruk et al., 2010) es relativamente más sencillo y por lo tanto puede constituir una herramienta útil y accesible para ser utilizada en el monitoreo de lagos y lagunas. Sin embargo, cabe señalar que esta simplificación puede conducir a la pérdida de información de la estructura de la comunidad.

En el caso de las lagunas pampeanas, en una investigación realizada por Izaguirre et al. (2012) se compararon las tres clasificaciones funcionales mencionadas (Reynolds et al., 2002; Salmaso y Padisák, 2007; Kruk et al., 2010). Las tres clasificaciones permitieron diferenciar adecuadamente los tres grupos principales de lagunas en la región pampeana (claras vegetadas; turbias orgánicas con elevada biomasa de fitoplancton y turbias inorgánicas). Sin embargo, la clasificación de Salmaso y Padisák (2007) resultó un poco más eficiente, dado que se obtuvo un mayor grado de sensibilidad al incorporar rasgos funcionales no considerados en la clasificación de Kruk, y al mismo tiempo resultó comparativamente más sencilla y fácil de usar que la de Reynolds, dado que esta última requiere un alto grado de conocimiento de la taxonomía.

En aquellos casos en los que no se cuenta con un especialista en taxonomía de microalgas, el monitoreo de un cuerpo de agua podría realizarse eficientemente siguiendo la clasificación más simple de **GFBM** de Kruk. No obstante, se recomienda que se realice una consulta a un especialista en el caso que se detecte la presencia y/o el aumento en densidad de grupos que incluyen a especies que puedan desarrollar floraciones (ej.: **GFBM** III y VII).

Los recuentos de los grupos funcionales del fitoplancton se realizan siguiendo la misma metodología planteada en el apartado "Análisis Cuantitativos".

Monitoreo de cianobacterias: Uno de los grupos más importantes para monitorear en los cuerpos de agua someros para evaluar la calidad del agua es el de las cianobacterias ya que muchas especies de este grupo producen distintos tipos de toxinas que pueden afectar a la biota acuática y al ser humano. En la Argentina, en distintas regiones se ha registrado una gran cantidad de cuerpos de agua en los que la abundancia de cianobacterias es elevada y puede superar los niveles guía recomendados por la Organización Mundial de la Salud (O'Farrell et al., 2019).

En particular, las lagunas pampeanas presentan elevadas concentraciones de nutrientes (P y N) que han ido incrementándose a lo largo del tiempo debido al cambio en el uso de la tierra (Izaguirre et al., 2022). Varios trabajos muestran que muchas de estas lagunas se caracterizan por una elevada biomasa de cianobacterias que se incrementan en la época cálida llegando a constituir floraciones, y en los últimos años se ha visto su persistencia en muchos casos hasta el otoño (Izaguirre et al., 2015; O'Farrell et al., 2021). Es importante destacar que diferentes especies de cianobacterias pueden producir distintos tipos de toxinas, por lo cual en el monitoreo se recomienda la identificación de las especies formadoras de floraciones y la medición de sus correspondientes toxinas. Todo lo relativo al análisis particular de cianobacterias y de toxinas se encuentra desarrollado en el libro de Técnicas de monitoreo de ambientes fluviales (<https://remaqua.conicet.gov.ar/>)

Índices de calidad del agua basados en el fitoplancton

Se han desarrollado diferentes índices basados en el fitoplancton para evaluar la calidad del agua, aunque muchos de éstos son aplicables a determinadas regiones geográficas. Por ejemplo, el Índice de Fitoplancton Lacustre (**IPLAC**) es un índice multimétrico que fue diseñado para evaluar

el estado ecológico de lagos de Francia, bajo el marco de la WFD (Water Framework Directive) europea (Laplace-Treytore y Feret, 2016). Considera la biomasa, la abundancia y la composición de especies de la comunidad fitoplanctónica. El índice está construido en base a dos métricas, la primera se basa en la biomasa total de fitoplancton (MBA: "Métrique Biomasse Algale"); mientras que la segunda se basa en la abundancia y la composición taxonómica (MCS: "Métrique de Composition Spécifique") de 165 taxa indicadores. Se comprobó que este índice responde al gradiente trófico y de presión antropogénica siguiendo los lineamientos establecidos por la WFD. Si bien los resultados del IPLAC destacan claramente la presión de eutrofización y se correlacionan altamente con el fósforo total, la clorofila a fitoplanctónica y la transparencia del agua, este índice fue utilizado en cuerpos de agua del hemisferio norte y su aplicabilidad para lagunas de otras zonas geográficas, como la región pampeana, debería ser puesta a prueba.

Otro índice basado en el ensamble fitoplanctónico es el "Índice Q" (Padisák et al., 2006), que fue diseñado para evaluar el estado ecológico de lagos de distinto tipo, también en el marco de la WFD europea. El índice Q toma valores entre 0 (malo) y 5 (excelente) y se calcula teniendo en cuenta la biomasa relativa de cada grupo funcional fitoplanctónico presente en el cuerpo de agua y de un factor "F". El valor "F" se determina para cada grupo funcional y para cada tipo de cuerpo de agua, lo cual requiere de un conocimiento experto del sistema y de la comunidad estudiada. Si bien se postula que este índice podría ser utilizado de manera universal, la determinación del valor "F", la cuantificación a nivel de especie, el cálculo de biomasa y la posterior clasificación en grupos funcionales necesarias para realizar su cálculo conllevan cierta complejidad.

Índice PhyCol (Phytoplankton Community Index): Katsiapi et al. (2016) desarrollaron un índice de estado trófico basado en la comunidad fitoplanctónica que es relativamente más simple denominado "Phytoplankton Community Index" (**PhyCol**), aplicable para el monitoreo del estatus ecológico de lagos y embalses.

Este índice se basa en propiedades del fitoplancton con distinto nivel jerárquico que combina cinco métricas o sub-índices:

- Biovolumen total del fitoplancton (TB)
- Biovolumen de la cianobacterias de acuerdo a los niveles guía de la Organización Mundial de la Salud para agua segura (WG);

- Sub-índice de Nygaard modificado basado en la biomasa de grupos taxonómicos indicadores (Nygaard Biomass – NB)
- Sub-índice de Nygaard modificado basado en la riqueza de especies de grupos taxonómicos indicadores (Nygaard Biomass – NS)
- Nuevo Sub-índice denominado "Quality Group Species Index" basado en la riqueza de especies de grupos taxonómicos (QG)

El PhyCol varía entre 0 y 5. Estos valores caracterizan la calidad del agua de acuerdo a las clases ecológicas de la WFD europea. Se basó principalmente en el criterio de estado trófico propuesto por Carlson (1977) medido a través de la transparencia (profundidad del disco de Secchi) y se desarrolló cubriendo un rango de eutrofia de sistemas lénticos que variaron entre oligotróficos e hipereutrófico.

El índice original de Nygaard (Nygaard, 1949) fue modificado para incluir grupos indicadores de condiciones oligotróficas (crisofitas) y para excluir a las diatomeas céntricas, ya que éstas no son estrictamente indicadoras de condiciones de eutrofia como se asumía en el índice original; además el grupo de las clorofitas (excluyendo desmidiáceas) reemplazó al orden Chlorococcales del índice original, resultando en el siguiente índice modificado de Nygaard:

Índice modificado Nygaard:

cianobacterias + clorofitas + euglenofitas
crisofitas + desmidiáceas

Con este índice modificado de Nygaard se calcularon dos sub-índices diferentes: uno usando la riqueza de especies (Nygaard Species Index—**NS**) y otro usando la biomasa (Nygaard Biomass Index—**NB**) de los grupos incluidos en el índice

Para el **NS** se modificaron los rangos de las clases originales de Nygaard de la siguiente manera:

- < 2: ultraoligotrófico
- 2-4: oligotrófico
- >4-6: mesotrófico
- >6-8: eutrófico
- >8: hipereutrófico

El **NB** se estableció con rangos en una escala logarítmica:

- 0-1: ultraoligotrófico
- 1-10: oligotrófico
- 10-100: mesotrófico
- 100-1000: eutrófico
- >1000: hipereutrófico

Además, se elaboró un subíndice denominado “**Quality Group species**” (QG) en base a la riqueza de especies de ciertos grupos taxonómicos asociados con la calidad del agua (Watson et al., 1997), a los que se les asignó distinto peso:

$QG = 5 \times \text{crisofitas} + 2 \times \text{desmidiaceas} + \text{dinoflagelados} + \text{criptofitas} + \text{diatomeas}$

La métrica TB se asignó de acuerdo a los puntajes correspondientes a los rangos del sistema de clasificación de la Unión Europea, el criterio de expertos según el tipo de ambientes, o sistemas de clasificación según el grado de trofismo. Los rangos de esta métrica deberían establecerse para cada caso ya que pueden variar según el tipo de sistema. Ver ejemplos en Katsiapi et al. (2016).

Por ejemplo, los rangos y valores de referencia (en mm^3L^{-1}) según estos autores pueden variar de acuerdo al tipo de sistema:

Referencia: 0,36 - 2,3
Buena-Moderada: 1,9 - 12
Moderada-Pobre: 4,2 - 36
Pobre a mala: 12,6 -108

Para los puntajes de la métrica del biovolumen de cianobacterias (WG) se tomaron en cuenta los niveles guía de la Organización Mundial de la Salud (siglas en inglés: WHO), de acuerdo a los diferentes niveles de biovolumen de cianobacterias para el uso seguro del agua.

En la siguiente tabla se indican las métricas y sub-índices usados, así como los puntajes para el cálculo del índice PhyCol: (Ver tabla 3)

Finalmente el índice PhyCol se calcula como la suma de los puntajes de las 5 métricas/sub-índices como:

$\text{PhyCol} = \text{TB} + \text{WG} + \text{NB} + \text{NS} + \text{QG}$

El índice varía entre 0 y 1, de acuerdo a 5 clases de calidad ecológica:

0-1: mala
>1-2: pobre
>2-3: moderada
>3-4: buena
>4-5: alta/nivel de referencia

Biovolumen Fitoplancton Total (TB)	Esquema clasificación PhyCol Score	Referencia ultraoligotrófico 2	bueno oligotrófico 1,6	Moderado Mesotrófico 1	Pobre Eutrófico 0,6	Malo Hipereutrófico 0,2
Niveles guía de WHO (WG)	Esquema clasificación PhyCol Score	< nivel 1 1	Nivel 1 WHO: 0,2- 1 mm^3L^{-1} 0,8	Nivel 1 WHO: 1- 10 mm^3L^{-1} 0,5	Nivel 2 WHO 0,3	Formación cúmulos 0,1
Biomasa de Nygaard (NB)	Esquema clasificación PhyCol Score	0-1 0,5	1-10 0,4	10-100 0,3	100-1000 0,2	>1000 0,1
Especies de Nygaard (NS)	Esquema clasificación PhyCol Score	<2 (ultraoligotrófico) 1	2-4 (oligotrófico) 0,8	>4-6 (mesotrófico) 0,6	>6-8 (eutrófico) 0,4	>8 (hipereutrófico) 0,2
Sub-índice Quality Group Species (QC)	Esquema clasificación PhyCol Score	>60 0,5	46-60 0,4	31-45 0,3	16-30 0,2	<16 0,1

Tabla modificada a partir de la publicada en el trabajo de Katsiapi et al. (2016).

Tabla 3. Métrica/sub-índices

Bibliografía

Borics, G., V. Lerf, E. T-Krasznai, I. Stanković, L. Pickó, V. Béres, G. Várbíró. 2021. Biovolume and surface area calculations for microalgae, using realistic 3D models. *Science of The Total Environment* 773: 145538. ISSN 0048-9697. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145538>

Bourrelly, P. 1970. Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome III: Les algues bleues et rouges. Les Eugléniens, Peridiniens et Cryptomonades. Editions N. Boubée & Cie, París, 512 pp.

Bourrelly, P. 1972. Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome I: Les algues vertes. Editions N. Boubée & Cie, París, 572 pp.

Bourrelly, P. 1981. Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome II: Les algues jaunes et brunes. Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées. Société Nouvelle des éditions Boubée, París, 517 pp.

Ettl, H. 1983. Chlorophyta I (Phytomonadina). En: Süßwasserflora von Mitteleuropa. Pascher, A. (ed.). VEB Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Nueva York, 807 pp.

Hillebrand, H., C. D. D. Dürselen, U. Kirschtel, T. Pollinger, T. Zohary. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403-424. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x>

Izaguirre, I., L. Allende, R. Escaray, J. Bustingorry, G. Pérez, G. Tell. 2012. Comparison of morpho-functional phytoplankton classifications in human-impacted shallow lakes with different stable states. *Hydrobiologia*, 698: 203-216. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1069-1>

Izaguirre, I., M. L. Sánchez, M. R. Schiaffino, I. O'Farrell, P. Huber, N. Ferrer, L. Lagomarsino, M. Mancini. 2015. Which environmental factors trigger the dominance of phytoplankton species across a moisture gradient of shallow lakes? *Hydrobiologia*, 752(1): 47-64. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2007-1>

Izaguirre, I., I. O'Farrell, M. L. Sánchez. 2019. ¿De qué nos habla el fitoplancton? *Ciencia Hoy*, 28(167): 18-25.

Izaguirre, I., H. Zagarese, I. O'Farrell. 2022. The limnological trace of contemporaneous anthropogenic activities in the Pampa region. *Ecología Austral*, 32: 650-662.

Katsiapi, M., M. Moustaka-Gouni, U. Sommer. 2016. Assessing ecological water quality of freshwaters: PhyCol—a new phytoplankton community Index. *Ecological Informatics*, 31: 22-29.

Kemp, P.F., Cole J.J., Sherr B.F., Sherr E.B. 1993, (Eds.) *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. CRC Press LLC, Washington, DC:117-119.

Kirchman, D. L. 1993. Statistical analysis of direct counts of microbial abundance. In

Komárek, J., B. Fott. 1983. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung Chlorococcales. En: *Das Phytoplankton des Süßwassers*. Huber Pestalozzi G., Heynig H. y Mollenhauer D. (eds.) Gustav Fischer, Jena, 548 pp.

Komárek, J., K. Anagnostidis. 1999. Cyanoprokariota. 1. Teil: Chroococcales. En: *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Ettl H., Gärtner G., Heynig H. y Mollenhauer D. (eds.). Gustav Fischer, Stuttgart, 548 pp.

Komárek, J., K. Anagnostidis. 2005. Cyanoprokariota. 2. Teil: Oscillatoriales. En: *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. y Schagerl M. (eds.). Elsevier, Heidelberg, 759 pp.

Konoplya, B.I., F. S. Soares. 2011. New geometric models for calculation of microalgal biovolume. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(3):527-534. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000300014>

Krammer, K., H. Lange-Bertalot. 1986. Bacillariophyceae. 1. Naviculaceae. En: Ettl H., Gerloff, J., Heynig H. y Mollenhauer D. (eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 2/1. Gustav Fischer Verlag, Jena, 876 pp.

Krammer, K., H. Lange-Bertalot. 1988. Bacillariophyceae. 2. Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. En: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. y Mollenhauer D. (eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 2/2. Gustav Fischer Verlag, Jena, 596 pp.

Krammer, K., H. Lange-Bertalot. 1991a. Bacillariophyceae. 3. Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. En: Ettl H., Gerloff J., Heynig H., Mollenhauer D. (Eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 2/3. Gustav Fischer Verlag, Jena, 576 p.

Krammer, K., H. Lange-Bertalot. 1991b. Bacillariophyceae. 4. Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu NAvicula (Lineolate) und Gomphonema. En: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. y Mollenhauer D. (Eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 2/4. Gustav Fischer Verlag, Jena, 473 pp.

- Kruk, C., V. L. M. Huszar, E. T. H. M. Peeters, S. Bonilla, L. Costa, M. Lüring, C. S. Reynolds, M. Scheffer. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology*, 55: 614-627. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02298.x>
- Laplace-Treytore, C., T. Feret. 2016. Performance of the Phytoplankton Index for Lakes (IPLAC): A multimetric phytoplankton index to assess the ecological status of water bodies in France. *Ecological Indicators*, 69: 686-698.
- Montagne, D.J.S., J. A. Berges, P. J. Harrison, F. J. R. Taylor. 1994. Estimating carbon, nitrogen, protein, and chlorophyll a from volume in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 39: 1044-60.
- Naselli-Flores, L., R. Barone. 2011. Fight on plankton! Or, phytoplankton shape and size as adaptive tools to get ahead in the struggle for life. *Cryptogamie, Algologie* 32: 57-204. <http://dx.doi.org/10.7872/crya.v32.iss2.2011.157>
- Nygaard, G. 1949. Hydrobiological studies on some Danish ponds and lakes, II: The quotient hypothesis and some little known or new phytoplankton organisms. *K. Dan. Vidensk. Selsk.* 7: 1-242.
- O'Farrell I., C. Motta, M. Forastier, W. Polla, S. Otaño, N. Meichtry, M. Devercelli, R. Lombardo. 2019. Ecological meta-analysis of bloom-forming planktonic Cyanobacteria in Argentina. *Harmful algae*, 83: 1-13.
- O'Farrell, I., M. L. Sánchez, M. R. Schiaffino, I. Izaguirre, P. Huber, L. Lagomarsino, L. Yema. 2021. Human impacted shallow lakes in the Pampean plain are ideal hosts for cyanobacterial harmful blooms. *Environmental Pollution*, 288: 117747.
- Padisák, J., G. Borics, I. Grigorszky, E. Soroczki-Pinter. 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: the assemblage index. *Hydrobiologia*, 553: 1-14.
- Padisák, J., L. O. Crossetti, L. Naselli-Flores. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*, 621: 1-19. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9645-0>
- Prygiel, J., M. Coste. 2000. Guide méthodologique pour la mise en œuvre de l'Indice Biologique Diatomées NF T 90-354.
- Reynolds, C.S., V. Huszar, C. Kruk, L. Naselli-Flores, S. Melo. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 24: 417-428. <https://academic.oup.com/plankt/article/24/5/417/1507791>
- Salmaso, N., J. Padisák. 2007. Morpho-Functional Groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia*, 578: 97-112. <https://doi.org/10.1007/s10750-006-0437-0>
- Sournia, A. (Ed.) 1978 *Phytoplankton Manual*. Monographs on oceanographic methodology, 6A. UNESCO, Paris, 337 pp.
- Sun, J., D. Liu. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 25(11): 1331-1346. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbg096>
- Tell, G., V. Conforti. 1986. *Euglenophyta pigmentadas de la Argentina*. Biblioteca Phycologica, Band 75. Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 301 pp. Berlin.
- Tolotti M., H. Thies, U. Nickus, R. Psenner. 2012. Temperature modulated effects of nutrients on phytoplankton changes in a mountain lake. *Hydrobiologia*, 698: 61-75. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1146-5>
- Utermöhl, M. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung Limnologie* 9: 1-38.
- Vadrucci, M. R., M. Cabrini, A. Basset. 2007. Biovolume determination of phytoplankton guilds in transitional water ecosystems of Mediterranean Ecoregion. *Transitional Waters Bulletin*, 2: 83-102. <http://dx.doi.org/10.1285/i1825229Xv1n2p83>
- Venrick, E. L. 1978. How many cells to count? In Sournia, A. (ed.), *Phytoplankton Manual*. UNESCO, Paris, 167-180.
- Verity, P.G., C. Y. Robertson, C. R. Tronzo, M. G. Andrews, J. R. Nelson, M. E. Sieracki. 1992. Relationship between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton. *Limnology and Oceanography*, 37: 1434-1446. <https://doi.org/10.4319/lo.1992.37.7.1434>
- Watson, S. B., E. McCauley, J. A. Dawning. 1997. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of different nutrient status. *Limnology and Oceanography*, 42: 487-495.

Weithoff, G. 2003. The concepts of 'plant functional types' and 'functional diversity' in lake phytoplankton – a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology*, 48: 1669-1675.

Wehr, J.D., R. G. Sheath, J. P. Kociolek. (Eds.) 2015. *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. Elsevier.

CAPÍTULO 6

Zooplankton: técnicas de muestreo y análisis

Griselda Chaparro, Nadia Diovisalvi y María Cristina Marinone

Introducción

El zooplankton de las aguas continentales se define como el conjunto de organismos heterótrofos que nadan débilmente o se encuentran suspendidos en el agua, sin movilidad suficiente como para evitar ser arrastrados por las corrientes. El zooplankton es un grupo muy diverso y un componente importante en la trama trófica acuática, ya que permite la transferencia de materia y energía desde los productores primarios (las algas) hasta los niveles tróficos superiores (peces y aves). Además, integran el bucle microbiano mediante el consumo de bacterias y materia orgánica particulada fina (Bonecker *et al.*, 2005; Work y Havens 2003). Una de las formas de clasificarlo es en función de su tamaño. El macrozooplankton (o mesozooplankton) comprende a los organismos más grandes (>200 µm): principalmente los cladóceros y los copépodos, ambos pertenecientes a la subclase Crustacea. El microzooplankton abarca los organismos más pequeños (<200 µm): los rotíferos (*phylum* Rotifera), las larvas nauplii de los copépodos y los protozoos (principalmente flagelados y ciliados) (Wetzel, 2001; Lampert y Sommer, 2007). El tiempo generacional de estos organismos depende principalmente de la temperatura, variando desde 3 a 4 semanas en los copépodos, 1 semana en los cladóceros, hasta unos pocos días en los rotíferos. Los rotíferos y los cladóceros se reproducen mayormente por partenogénesis (reproducción asexual), mediante la producción de huevos amícticos. Ciertos estímulos ambientales adversos desencadenan la reproducción sexual y la producción de machos y huevos mícticos, los que una vez fecundados constituyen estructuras de diapausa o latencia. Estos se depositan en los sedimentos, y luego de un período refractario, pueden activarse cuando las condiciones del ambiente vuelven a ser favorables para el desarrollo de las poblaciones planctónicas. Los huevos de resistencia

no solo permiten la recombinación genética, sino también la dispersión espacial y temporal de estos organismos. Los copépodos, en cambio, tienen un ciclo de vida con un desarrollo más complejo, que involucra varios estadios previos a la adultez, delimitados por sucesivas mudas. Los copépodos se reproducen sexualmente, produciendo huevos de los que eclosionan larvas nauplii, que se desarrollan en 6 estadios (N1-N6), seguidos de 6 estadios copepodito (C1-CVI), el último de los cuales es el adulto (Thorp y Covich, 2010).

Este capítulo del manual se enfocará en la metodología para el estudio de los microcrustáceos y los rotíferos, y no se incluirá la metodología particular correspondiente al estudio de los protozoos.

En un cuerpo de agua, la composición de la comunidad zooplanktónica varía temporalmente, de acuerdo con la estacionalidad climática, siendo más abundante y diversa en las temporadas cálidas (primavera-verano) en ambientes templados (Echaniz *et al.*, 2005; Diovisalvi *et al.*, 2018; Chaparro *et al.*, 2011). La composición de la comunidad también varía en el espacio, principalmente asociada con la distribución de la vegetación acuática, diferenciándose entre la zona pelágica (de aguas libres) y la zona litoral vegetada (Jeppesen *et al.*, 1998). La comunidad pelágica es generalmente poco diversa y se caracteriza por la presencia de unas pocas especies planctónicas, como copépodos del Orden Calanoida (p. ej. *Notodiaptomus*), algunas especies del Orden Cyclopoida (p. ej. *Acanthocyclops*), cladóceros de los géneros *Bosmina*, *Ceriodaphnia* y *Diaphanosoma*, y rotíferos de los géneros *Brachionus*, *Polyarthra* y *Keratella*. En la zona litoral o en lagunas someras (con mayor influencia del fondo y de la vegetación) suele desarrollarse una comunidad mucho más diversa, incluyendo distintos copépodos del Orden Cyclopoida, cladóceros de las familias Macrothricidae

(*Macrothrix*) y Chydoridae (*Alona*, *Acroperus*, *Chydorus*, *Leydigia* y *Euryalona*, entre otros) y rotíferos de los géneros *Lecane*, *Lepadella*, *Colurella* y *Trichocerca*, entre otros.

En las lagunas vegetadas, el zooplancton puede realizar migraciones horizontales entre las zonas pelágica y litoral. Estas migraciones constituyen una estrategia antipredatoria contra predadores visuales como los peces. En este sentido, algunas especies zooplanctónicas son más abundantes en la zona litoral donde se refugian entre las plantas acuáticas durante el día y migran hacia la zona pelágica durante la noche, cuando la actividad predatoria disminuye (Burks *et al.*, 2002). Sin embargo, la eficiencia de las macrofitas como refugio depende del ensamble de predadores macroinvertebrados (Mamani *et al.*, 2019) y/o peces (González Sagrario *et al.*, 2010), que tengan asociados.

Los cambios interanuales asociados a los períodos de inundación y sequía también condicionan la estructura del zooplancton. La composición del zooplancton varía como consecuencia de los cambios en las condiciones limnológicas, como por ejemplo con las fluctuaciones temporales en la salinidad y la turbidez (Echaniz *et al.*, 2006; Echaniz y Vignatti, 2011). La estructura de la comunidad de peces también suele fluctuar con las modificaciones del régimen hídrico, afectando a la comunidad del zooplancton (Renella *et al.*, 2019). Por otro lado, en las lagunas vegetadas usualmente ocurre una alternancia entre estados claro y turbio, que altera el refugio que ofrece la vegetación a los zoopláncteres. La abundancia y biomasa del zooplancton disminuye cuando la turbidez del sistema aumenta, debido principalmente a la interferencia de sedimentos inorgánicos o algas filamentosas sobre los mecanismos de filtración del zooplancton (Ardohain *et al.*, 2021; Claps *et al.*, 2011).

En el gradiente longitudinal de la extensa región pampeana, la salinidad juega un rol relevante. Al menos para la región árida de la provincia de la Pampa, la composición y riqueza del zooplancton disminuyen con el aumento en la salinidad, de tal manera que en los ambientes de salinidad extrema solo logran desarrollarse unas pocas especies halobiontes (Echaniz *et al.*, 2005).

Además de la clasificación taxonómica, el zooplancton puede clasificarse en grupos funcionales. Entre los más utilizados están los que consideran el tamaño de los organismos (micro y macrozooplancton), la forma de alimentación (filtradores, raspadores, predadores) y el hábitat (litoral o

pelágico). Esta forma de clasificar permite agrupar las especies según su relevancia ecológica, caracterizando así al ensamble zooplanctónico. José de Paggi *et al.* (2014), clasifican a los cladóceros y a los copépodos regionales en función del tipo de alimentación, siguiendo la clasificación de Barnett *et al.* (2007): Filtradores Ctenopoda (*Diaphanosoma* y *Pseudosida*), Filtradores Anomopoda (*Daphnia*, *Simocephalus*, *Ceriodaphnia* y *Moina*), Filtradores selectivos (*Bosmina* y *Bosminopsis*), Filtradores ramoneadores (*Chydoridae* y *Macrothricidae*), Micrófagos herbívoros (Calanoida adultos y copepoditos de *Diaptomus* y *Notodiaptomus*), y Macrófagos carnívoros (Cyclopoida adultos y copepoditos de *Mesocyclops* y *Acanthocyclops*). Los nauplii de los estadios más desarrollados son micrófagos, mientras que los rotíferos se separan entre micrófagos y raptoriales según la clasificación de Obertegger *et al.*, (2011), recientemente revisada por Obertegger y Wallace (2023).

Consideraciones sobre el diseño del muestreo

El diseño del muestreo depende del objetivo del estudio, de la accesibilidad a los sitios y de la heterogeneidad de los ambientes a estudiar. La cantidad de muestras a tomar se determina teniendo en cuenta un compromiso entre los recursos económicos, el tiempo disponible, la capacidad humana de análisis y la representatividad de las muestras del sistema bajo estudio.

En cuanto a la temporalidad, si solo es posible realizar un muestreo, se recomienda que éste se realice durante la estación cálida, para capturar la mayor diversidad y abundancia de la comunidad zooplanctónica. Luego, en la medida de las posibilidades, se puede incrementar la frecuencia de muestreo a una escala estacional o mensual, dependiendo del objetivo propuesto y de los ciclos de vida de los organismos. Con el fin de obtener muestras comparables, es recomendable realizar los muestreos en horarios similares, debido a que el zooplancton puede realizar migraciones durante el día, tanto de forma horizontal como vertical en la columna de agua.

Respecto a la distribución espacial, si solo es posible tomar una muestra por cuerpo de agua, se recomienda obtenerla en la zona pelágica. Si el estudio se realiza en lagunas vegetadas y se propone abarcar la heterogeneidad espacial, se deberá tomar al menos una muestra en cada zona (litoral y pelágica).

Dependiendo de la forma en que se realiza un muestreo, éste puede ser puntual o compuesto.

Una muestra puntual es la que se toma en una ubicación espacial establecida y en un momento determinado, reflejando las características instantáneas del cuerpo de agua. En cambio, una muestra compuesta o integrada en el espacio, es la que se obtiene por combinación de varias muestras puntuales, que se toman en diferentes sitios de un mismo cuerpo de agua, durante el mismo intervalo de tiempo. Este tipo de muestra es más representativa del ambiente acuático, y a su vez permite disminuir el esfuerzo en el recuento.

Materiales de campo y laboratorio

Lista de materiales de campo:

- Balde (10 litros)
- Tubo muestreador aforado (5 a 6 litros)
- Red de zooplancton (40-50 μm de tamaño de poro)
- Frascos plásticos herméticos
- Piseta (con agua potable o filtrada)
- Formaldehído puro (fraccionado en alícuotas según el volumen a fijar)
- Pipetas descartables
- Guantes de látex
- Etiquetas de papel vegetal
- Lápiz
- Rotuladores indelebles
- Planilla para anotaciones a campo

Muestreo en campo

Las muestras para el análisis del zooplancton (rotíferos y microcrustáceos) se obtienen colectando un volumen conocido de agua sub-superficial

con balde (a 20-50 cm de profundidad) o con tubo muestreador (Figura 1.6). Este volumen de agua se filtra por una red de 40 a 50 μm de tamaño de poro (la red puede tener 15 a 20 cm de diámetro de boca). Los organismos contenidos en el agua filtrada quedan retenidos en el colector de la red. Inmediatamente, se enjuaga la red por dentro con la ayuda de una piseta con agua limpia, para desprender aquellos organismos que hayan quedado adheridos a su interior y concentrarlos en el colector. Seguidamente, se trasvasa su contenido a un frasco plástico hermético, claramente rotulado, indicando que es una muestra de zooplancton, el cuerpo de agua al que pertenece, y la fecha y la hora de colección. La muestra debe ser fijada *in situ* con formaldehído, que se lleva a una concentración final de 4% (p. ej. a un frasco de 100 mL de muestra, se le agregan 4 mL de formol puro).

Tubo muestreador:

El tubo muestreador consiste en un cilindro de acrílico transparente y aforado, de aproximadamente 10 cm de diámetro, 100 cm de largo, 0,4 cm de espesor de pared y de 5 a 6 litros de capacidad (Figura 1.6a). El tubo posee una tapa inferior móvil, que se levanta permitiendo el ingreso de agua cuando el tubo se sumerge, y que se cierra por el peso del agua, cuando se detiene su desplazamiento. Una vez obtenidos los primeros 5 a 6 litros de agua, éstos se filtran por una red del modo explicado anteriormente, y el contenido del colector se trasvasa a un frasco preparado para la recepción de la muestra. Cuando el tubo se vacía, se puede repetir la operación hasta obtener el volumen de muestra adecuado (Figura 1.6b) (Paggi *et al.*, 2001).



Fig. 1. a: Esquema del ingreso de agua en el tubo muestreador y del volumen de agua contenido luego de la recolección; b: tubo muestreador utilizado en una laguna vegetada del Parque Nacional Cielito de los Pantanos.

Recomendaciones y aclaraciones:

- El volumen de agua a filtrar por la red depende de la densidad de organismos presentes en la laguna. De ser posible, el volumen más adecuado al ambiente se determinará mediante un muestreo piloto. En general, para la región pampeana, donde las lagunas son eutróficas, en períodos cálidos se recomienda filtrar 20 litros de agua, mientras que en períodos fríos o en cuerpos de agua oligotróficos es necesario filtrar de 30 a 40 litros de agua.
- Dependiendo del diseño del muestreo, la toma de las muestras puede realizarse desde un muelle, un bote o ingresando al cuerpo de agua a pie con waders. En este último caso, es recomendable moverse con mucho cuidado para evitar la resuspensión de sedimentos del fondo, y detenerse unos minutos en un sitio hasta que la columna de agua se estabilice antes de tomar la muestra.
- El balde o el tubo y la red siempre deben ser meticulosamente lavados entre la extracción de las distintas muestras para evitar la contaminación entre distintos puntos.

- Si el diseño del muestreo sólo abarca puntos pelágicos no vegetados, se recomienda extraer el agua con un balde; y si también se incluyen zonas vegetadas, se recomienda el uso del tubo muestreador, que es apropiado para ambos tipos de ambientes.

Lista de equipo y materiales de laboratorio (Fig. 2)

- Microscopio óptico
- Microscopio estereoscópico
- Submuestreador de Hensen-Stempel (1 mL)
- Submuestreador de Russell (5 mL)
- Cámara de recuento de Sedgwick-Rafter (1 mL)
- Cámara de recuento de Bogorov (5 mL) o similar
- Vasos de precipitados aforados de varios volúmenes (chequear el aforo)
- Tubos Eppendorff (0,25, 0,5 y 1,5 mL)
- Portaobjetos
- Cubreobjetos (preferentemente de 10 x 10 mm)
- Pinzas finas flexibles de acero inoxidable

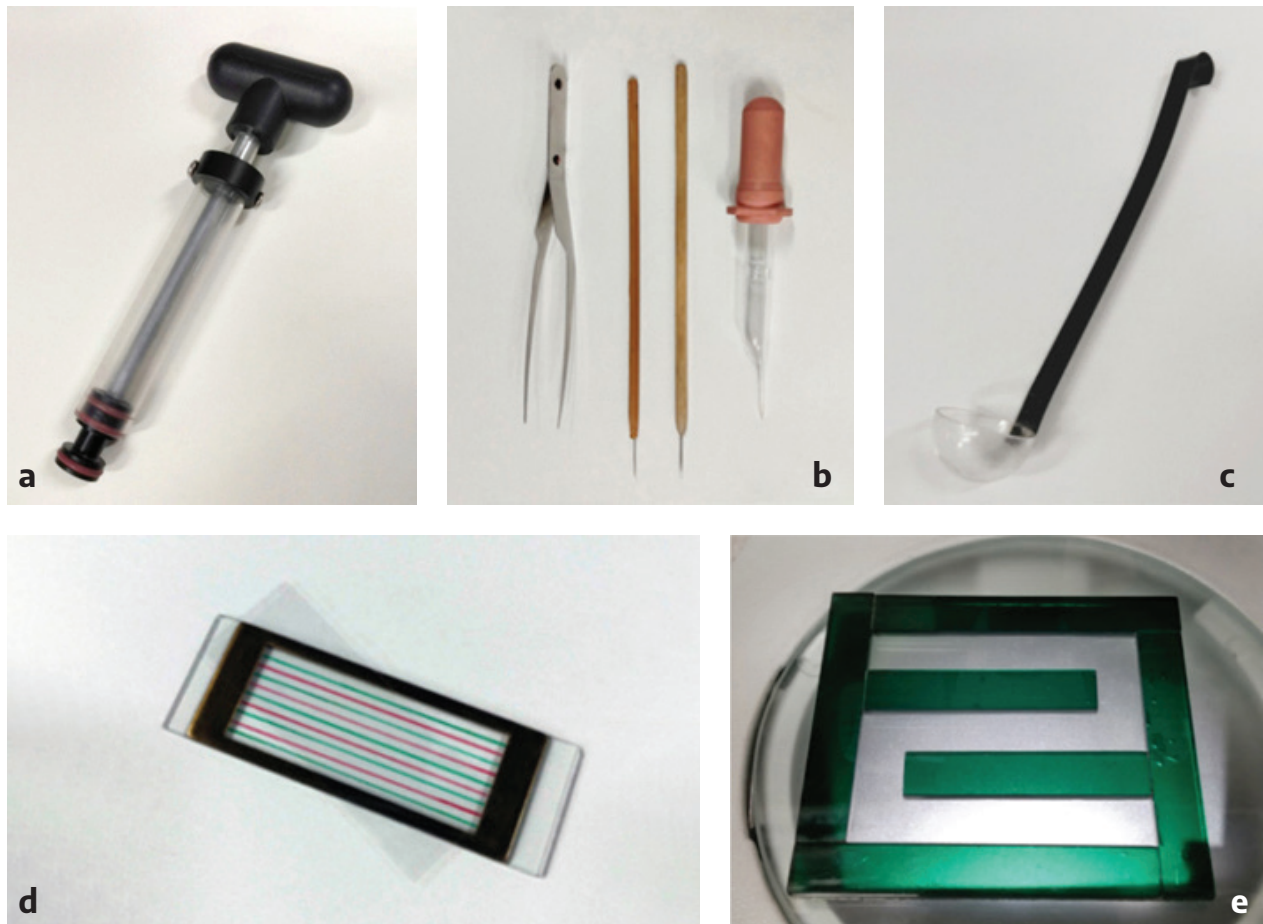


Fig. 2. Materiales utilizados para el análisis del zooplancton. a: submuestreador de Hensen-Stempel (1 mL); b: pinzas finas flexibles de acero inoxidable, agujas para microdissección y micropipeta de vidrio con tetina de goma; c: submuestreador de Russell (5 mL); d: cámara de recuento de Sedgwick-Rafter (1 mL); e: cámara de recuento tipo Bogorov (5 mL).

- Agujas ultrafinas (entomológicas o de tungsteno) enmangadas para microdissección
- Microansas enmangadas
- Micropipetas de vidrio con tetina de goma
- Solución de Rosa de Bengala para la tinción del zooplancton
- Planilla de recuentos

Conservación y descarte de muestras

Las muestras deben ser preservadas en solución de formaldehído al 4%, en frascos herméticos claramente rotulados. Éstos deben ser revisados periódicamente, y de ser necesario se les agrega fijador, para evitar que las muestras se sequen. De esta manera pueden ser almacenadas por tiempos prolongados en ambientes frescos y oscuros, sin necesidad de refrigeración. Debido a que el formaldehído es un compuesto tóxico, las muestras constituyen residuos peligrosos, que no pueden ser descartados junto con los residuos domésticos. Las muestras a descartar se deberán disponer en recipientes especiales para residuos peligrosos (bidones plásticos), para ser tratadas por los departamentos de bioseguridad de las instituciones o empresas especializadas en tales residuos.

Recuento del micro y del macrozooplancton y cálculo de abundancia

Debido a las diferencias de tamaño y de abundancia entre micro y macrozooplancton, se utilizan distintas metodologías de su recuento. Si la muestra contiene densidades muy bajas (unos 30 individuos por recuento), se recomienda realizar el conteo total de la muestra. En el caso de muestras con mayores densidades, se extraen alícuotas para contar los individuos de las diferentes fracciones.

Para el microzooplancton (rotíferos y nauplii) las alícuotas se extraen con un submuestreador tipo Hensen-Stempel de 1 mL, previa homogeneización de la muestra con el submuestreador, y el conteo se realiza en una cámara cerrada de Sedgwick-Rafter de igual volumen (Figura 1), utilizando un microscopio óptico binocular a 100 X. La cámara debe cubrirse con un cubreobjeto de las medidas adecuadas, de manera de evitar el movimiento de los organismos durante el conteo e impedir que el objetivo se empañe o se dañe. Una vez finalizado el recuento de la primera alícuota, ésta se reintegra al vaso de precipitados que contiene el resto de la muestra. Este procedimiento se repite de 3 a 5 veces, a fin de lograr un error de recuento menor al 10% (Cassie, 1971). Para el macrozooplancton (cladóceros, copépodos adultos y copepoditos), las alícuotas se obtienen con un submuestreador de Russell (mini cucharón) de 5 mL y el conteo se realiza en una cámara

abierta de Bogorov de igual volumen (Figura 1), utilizando un microscopio estereoscópico (José de Paggi y Paggi, 1995).

Tanto en el caso del micro como del macrozooplancton, el primer paso consiste en ajustar el volumen de la muestra concentrada a partir de la cual se extraerán las alícuotas para contar los organismos, de manera de minimizar el error de las estimaciones. Para ello, se lleva la muestra total a un volumen conocido (por ejemplo, de 100 mL), se extrae una alícuota de 1 o 5 mL (según corresponda) y se hace un recuento piloto. Si el recuento es de alrededor de 100 a 200 individuos por cámara, se considera que es adecuado y se prosigue con los recuentos adoptando dicho volumen de dilución. Si el recuento piloto arroja un número muy bajo o muy alto de individuos, se ajustará el volumen de dilución, concentrando o diluyendo la muestra, según corresponda. En caso de ser necesario concentrar, es importante esperar varias horas a fin de asegurarse que el zooplancton precipite antes de extraer el exceso de agua requerido. El líquido sobrenadante siempre se saca desde la superficie y muy cuidadosamente, usando una pipeta, jeringa o por sifoneo suave, evitando la resuspensión y pérdida de los organismos precipitados en el fondo del vaso. En muestras con mucho material particulado, en las cuales se dificulta la visualización de los organismos, se procede a la tinción del zooplancton agregando unas gotas (100 µl) de solución de rosa Bengala a la muestra, dejándola actuar durante unas horas antes de analizarla.

Cálculos de abundancia. Fórmulas

La abundancia se expresa como cantidad de individuos por unidad de volumen (ind./L).

La fórmula para su cálculo es:

$$\frac{(\text{Número promedio de individuos por alícuota} * \text{Volumen del concentrado}^1)}{}$$

$$(\text{Volumen filtrado en el campo} * \text{Volumen de la alícuota}^2)$$

¹ Volumen de dilución al que se lleva la muestra en el laboratorio previo a su recuento, que dependerá de la concentración de individuos en la muestra.

² Las alícuotas tienen un volumen de 1 mL para el recuento del microzooplancton y de 5 mL para el de macrozooplancton.

Se presenta una planilla modelo para registrar la información de los recuentos y efectuar los cálculos de abundancia (individuos/litro). (Ver Planilla 1)

Recomendaciones de seguridad personal en el laboratorio

Las muestras fijadas con formaldehído son tóxicas para las personas, por lo que deben manipularse

Laguna:					Vol Total del filtrado (L):		70
Fecha					Vol del concentrado (ml)		200
					Vol de la alicuota (ml)		5
Lista de Especies	Alicuota 1	Alicuota 2	Alicuota 3	Alicuota 4	Sumatoria	Promedio	Abundancia (No/L)
Especie 1	1	0	0		1	0.33	0.19
Especie 2	1	2	4		7	2.33	1.33
Especie 3	9	17	22		48	16.00	9.14

Planilla 1

con extremo cuidado, utilizando elementos de protección personal como guantes y guardapolvo, evitando el contacto de la piel y los ojos, y su inhalación (realizar el trabajo en ambientes ventilados o bajo campana extractora).

Estimación de la biomasa del zooplancton

Además de la abundancia del zooplancton suele estimarse su biomasa, que es un parámetro fundamental cuando se requiere calcular la producción secundaria de una comunidad. Por otro lado, su estimación es esencial cuando se quiere caracterizar las comunidades en un cuerpo de agua a través de la contribución en biomasa de cada nivel trófico. De los tres grupos que componen el zooplancton, los rotíferos son los que alcanzan las densidades más elevadas en las lagunas pampeanas. Sin embargo, al ser los organismos más pequeños, su contribución a la biomasa total del zooplancton es menor que la de los microcrustáceos (copépodos y cladóceros).

Existen distintas formas de estimar la biomasa del zooplancton, como por ejemplo a través de la sedimentación (o desplazamiento volumétrico), el peso húmedo y el peso seco. Estas metodologías tienen sus limitaciones en ambientes turbios y eutróficos, debido a que es muy difícil obtener muestras de zooplancton "limpias". En general, al concentrar las muestras con una red de 45 μm de tamaño de poro, evitamos subestimar la abundancia de los rotíferos, pero por efecto de la colmatación de la malla también quedan atrapadas algas coloniales y/o partículas en suspensión.

Uno de los métodos más utilizados para estimar la biomasa de los rotíferos es a partir del biovolumen; para lo cual se toman las medidas corporales requeridas por las fórmulas geométricas de las distintas especies. La biomasa de los organismos se expresa como peso seco por unidad

de volumen ($\mu\text{g/L}$). Las mediciones se realizan en microscopio óptico mediante una reglilla micrométrica ocular, previamente calibrada con un objeto micrométrico patrón. Para los rotíferos se requiere medir la longitud y el ancho corporal de 20 a 30 individuos de cada especie presente en la muestra, y aplicar las fórmulas desarrolladas por Ruttner-Kolisko (1977) para el cálculo del biovolumen (Tabla 1). Los valores obtenidos se transforman en biomasa asumiendo que $10^6 \mu\text{m}^3$ equivalen a 1 μg de peso húmedo, y que el peso seco representa el 10% del peso húmedo (Bottrell *et al.*, 1976). (Ver tabla 1)

Para los microcrustáceos (cladóceros y copépodos) se deben tomar medidas de longitud corporal, diferenciando en el caso de los copépodos a los nauplii, copepoditos, machos, hembras y hembras ovígeras. La longitud total de los copepoditos y los copépodos adultos incluye las ramas caudales (furca), pero no las sedas caudales (Fig. Al. 2). La longitud de los cladóceros excluye la espina posterior del caparazón y/o la espina anterior del escudo cefálico, si las hubiera (Figura Al. 4). Para calcular la biomasa, se aplican las fórmulas de regresión longitud-peso de Dumont *et al.* (1975) y Bottrell *et al.* (1976), seleccionadas para las especies de zooplancton más comunes en los ambientes argentinos (Ver Tabla 2).

Una vez estimada la biomasa individual de cada especie de la muestra, se multiplica su promedio por su abundancia. La biomasa de los copépodos, los cladóceros y los rotíferos se calcula sumando las biomásas de los distintos taxa de cada grupo. Por último, la biomasa total del zooplancton se estima como la sumatoria de las biomásas de todos los grupos.

En el Anexo I. se detalla información relevante para la identificación taxonómica del micro y del macrozooplancton.

Especie o taxón	Volumen	b =	c =	Cuerpo geométrico
<i>Anuraeopsis</i> spp.	0,5236 ab ²		b	elip. rev.
<i>Ascomorpha ecaudis</i>	0,5236 abc = 0,1257 a ³	0,6 a	0,4 a	elip. gral.
<i>Ascomorpha saltans</i> (C)	0,5236 ab ² // 0,5236 a ³		b	elip. rev. / esfera
<i>Asplanchna</i> spp. (C)*	0,5236 ab ² = 0,2566 a ³ // 0,5236 a ³	0,7 a	b	elip. rev. / esfera
Bdelloidea	0,5236 ab ² // 0,5236 a ³		b	elip. rev. / esfera
<i>Brachionus angularis</i>	0,5236 abc. 1,10 = 0,2094 a ² b. 1,10 = 0,1780 a ³ . 1,10 **	0,85 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Brachionus calyciflorus</i> , <i>B. plicatilis</i>	0,5236 abc. 1,10 = 0,2094 a ² b. 1,10 = 0,1466 a ³ . 1,10 **		0,4 a	elip. gral.
<i>Brachionus caudatus</i>	0,5236 abc. 1,15 = 0,2094 a ² b. 1,15 = 0,1780 a ³ . 1,15 **	0,85 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Brachionus havanaensis</i> , <i>B. satanicus</i>	abc . 1,20 = 0,33 a ² b. 1,20 **		0,33 a	paralelepípedo
<i>Collotheca</i> spp. (C)	0,7854 ab ² . 2 = 0,2827 a ³ . 2 **	0,6 a	b	cilindro
<i>Collotheca</i> spp. (E)	0,2618 ab ²		b	Cono
<i>Colurella</i> spp.	0,5236 abc = 0,2094 a ² b = 0,1466 a ³	0,7 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Conochilus</i> spp. (C)	0,7854 ab ² = 0,3848 a ³	0,7 a	b	cilindro
<i>Conochilus</i> spp. (E)	0,2618 ab ²		b	Cono
<i>Encentrum</i> spp.	0,5236 abc = 0,2094 a ² b = 0,1466 a ³	0,7 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Euchlanis dilatata</i>	0,5236 abc. 1,05 = 0,1571 a ² b. 1,05 = 0,0942 a ³ . 1,05 **	0,6 a	0,3 a	1/2 elip. gral.
<i>Filinia</i> spp.	0,5236 ab ² . 1,010 d = 0,1701 a ³ . 1,010 d	0,57 a	b	elip. rev.
<i>Gastropus stylifer</i>	0,7854 abc = 0,3142 a ² b = 0,2199 a ³	0,7 a	0,4 a	cilindro elíptico
<i>Hexarthra</i> spp.	0,2618 ab ² . 1,33 = 0,1473 a ³ . 1,33 **	0,75 a	b	Cono
<i>Keratella cochlearis</i> , <i>K. americana</i>	0,1728 a ² b + 26,18 e = 0,1210 a ³ + 26,18 e	0,7 a	0,33 a	1/4 elip. gral.
<i>Keratella kostei</i>	abc = 0,33 a ² b		0,33 a	paralelepípedo.
<i>Keratella tropica</i>	abc . 1,05 d = 0,33 a ² b. 1,05 d **		0,33 a	paralelepípedo
<i>Lecane bulla</i>	0,5236 ab ²		b	elip. rev.
<i>Lecane flexilis</i> , <i>L. closterocerca</i>	0,7854 abc = 0,2592 a ² b = 0,1812 a ³	0,7 a	0,33 a	1/2 cilindro elíptico
<i>Lecane lunaris</i> , <i>L. luna</i> , <i>L. quadridentata</i>	0,7854 abc = 0,2592 a ² b = 0,2071 a ³	0,8 a	0,33 a	1/2 cilindro elíptico
<i>Lecane leontina</i> , <i>L. ohioensis</i> , <i>L. obtusa</i>	0,7854 abc = 0,2592 a ² b = 0,2071 a ³	0,8 a	0,33 a	1/2 cilindro elíptico
<i>Lepadella</i> spp.	0,5236 abc = 0,2094 a ² b = 0,1466 a ³	0,7 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Mytilina</i> spp.	0,5236 abc = 0,2094 a ² b = 0,1466 a ³	0,7 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Notholca</i> spp.	0,1309 (3 abc + 4 c ³) = 0,1309 (0,6 a ² b + 0,032 a ³)		0,2 a	segmento de elipsoide
<i>Plationus patulus</i>	0,7854 abc = 0,4712 a ² c	0,6 a		cilindro elíptico

Continúa ►

Especie o taxón	Volumen	b =	c =	Cuerpo geométrico
<i>Platylabus quadricornis</i>	0,5236 abc. 1,10 = 0,2094 a ² b. 1,10 = 0,1780 a ³ . 1,10 **	0,85 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Ploesoma truncatum</i>	0,5236 abc = 0,1047 a ³	0,5 a	0,4 a	elip. gral.
<i>Polyarthra</i> spp.	abc . 1,10 = 0,40 a ² b. 1,10 = 0,28 a ³ . 1,10 **	0,7 a	0,4 a	paralelepípedo
<i>Pompholix sulcata</i>	0,5236 abc = 0,2618 a ² b = 0,1833 a ³	0,7 a	0,5 a	elip. gral.
<i>Sinantherina</i> spp. (C)	0,7854 ab ² = 0,3844 a ³	0,7 a	b	cilindro
<i>Synchaeta</i> spp. (C)	0,5236 ab ² = 0,3351 a ³ // 0,5236 a ³	0,8 a	b	elip. rev. / esfera
<i>Synchaeta</i> spp. (E)	0,2618 ab ² = 0,0942 a ³	0,6 a	b	Cono
<i>Testudinella</i> spp.	0,5236 a ² c = 0,1047 a ³ . 1.10 **		0,2 a	1/2 elip. rev.
<i>Trichocerca</i> spp.	0,5236 ab ² . 1,006 d **		b	elip. rev.
<i>Trichotria</i> spp.	0,5236 abc. 1,15 = 0,2094 a ² b. 1,15 = 0,1780 a ³ . 1,15 **	0,85 a	0,4 a	1/2 elip. gral.
<i>Wolga spinifera</i>	0,7854 abc = 0,2592 a ² b = 0,1683 a ³	0,65 a	0,33 a	cilindro elíptico
Dimensiones: a = longitud o dimensión mayor, b = ancho, c = espesor o altura, d = largo espinas/largo cuerpo, e = largo de la espina caudal en <i>Keratella cochlearis</i> s.l., que se agrega como el volumen de un cono de base = 10 µm. (C) = ejemplares contraídos, (E) = ejemplares extendidos. * Peso Seco (PS) = 4% del Peso Húmedo (PH). Para el resto de las especies, PS = 10% de PH. Luego: µm³. 10-6 = µg PH; µm³. 10-7 = µg PS. ** Los factores de las fórmulas, suman volúmenes de espinas, aletas, apéndices, pie o vaina mucosa, como volumen porcentual del cuerpo geométrico. Cuerpos geométricos: elip. rev. = elipsoide de revolución, elip. gral. = elipsoide general.				

Tabla 1. Fórmulas volumétricas de los rotíferos frecuentes en el zooplancton de ambientes acuáticos continentales de Argentina, algunas de las cuales fueron corregidas por M.C. Marinone a partir de las publicadas por Ruttner-Kolisko (1977).

Especie o taxón	Fórmula de regresión	Autor	Especie de referencia
<i>Bosmina</i> spp.	$W = 1,084 \cdot 10^{-8} \cdot L^{3,13}$	1*	<i>Bosmina longirostris</i>
<i>Diaphanosoma</i> spp. <i>Latonopsis australis</i>	$W = 1,760 \cdot 10^{-6} \cdot L^{2,11}$	1	<i>Diaphanosoma brachyurum</i>
<i>Ceriodaphnia</i> spp.	$W = 1,700 \cdot 10^{-6} \cdot L^{2,26}$	1	<i>Ceriodaphnia. quadrangula</i>
<i>Daphnia spinulata</i> <i>Daphnia menucoensis</i> <i>Simocephalus</i> spp.	$W = 1,890 \cdot 10^{-6} \cdot L^{2,25}$	1	<i>Daphnia magna</i>
<i>Daphnia laevis</i>	$W = 9,500 \cdot 10^{-8} \cdot L^{2,56}$	1	<i>Daphnia galeata</i>
<i>Daphnia</i> grupo <i>pulex</i> <i>Daphnia</i> grupo <i>obtusa</i> <i>Daphnia commutata</i>	$W = 2,400 \cdot 10^{-8} \cdot L^{2,77}$	1	<i>Daphnia pulex</i>
<i>Daphnia ambigua</i>	$W = 6,290 \cdot 10^{-7} \cdot L^{2,29}$	1	<i>Daphnia ambigua</i>
Chydorinae	$W = 1,450 \cdot 10^{-10} \cdot L^{3,93}$	1*	<i>Chydorus sphaericus</i>

Continúa ▶

Especie o taxón	Fórmula de regresión	Autor	Especie de referencia
Aloninae	$W = 1,350.10^{-4}.L^{1,39}$	1	<i>Alonella exigua</i>
<i>Moina</i> spp.	$W = 1,289.10^{-7}.L^{2,57}$	1*	<i>Moina micrura</i>
Macrothricidae	$W = 1,903.10^{-6}.L^{2,13}$	1*	<i>Moina mongólica</i>
Harpacticoida	$W = 7,893.10^{-13}.L^{4,40}$	1*	Harpacticoida
Cyclopoida copepoditos	$W = 1,100.10^{-5}.L^{1,89}$	1	Cyclopoida copepoditos
Cyclopoida machos y hembras no ovígeras	$W = 1,100.10^{-7}.L^{2,59}$	1	Cyclopoida machos y hembras no ovígeras
Cyclopoida hembras ovígeras	$W = 4,900.10^{-8}.L^{2,75}$	1	Cyclopoida hembras ovígeras
Calanoida copepoditos	$W = 5,152.10^{-6}.L^{2,037}$	2*	<i>Hetercope adultos y copepoditos</i>
Calanoida machos y hembras no ovígeras	$W = 7,900.10^{-7}.L^{2,33}$	1	Calanoida pooled equation
Calanoida hembras ovígeras	$W = 7,900.10^{-7}.L^{2,33,1,2}$	1	Calanoida hembras no ovígeras sumado 20% del saco ovígero

Tabla 2. Estimación de la biomasa de los macrozoopláncteres más comunes en Argentina mediante regresiones lineales entre peso seco (W) y longitud (L).

Ecuación: $W (\mu g) = a. L (\mu m)^b$. Ecuaciones originales de (1) Dumont *et al.* (1975) y (2) Bottrell *et al.* (1976), transformadas* para estandarizar formatos y unidades de medición.

Bibliografía

- Arдохайн, D., N. Gabellone, M. C. Claps. 2021. Main drivers in the structure and dynamics of the zooplankton community in a Pampean seepage shallow lake throughout an annual cycle during turbid and clear water regimes. *International Aquatic Research*, 13(1), 53–70.
- Barnett, A.J., K. Finlay, B. E. Beisner. 2007. Functional diversity of crustacean zooplankton communities: Towards a trait-based classification. *Freshwater Biology*, 52, 796–813.
- Bonecker, C.C., C. L. da Costa, L. F. M. Velho, F. A. Lansac-Tôha. 2005. Diversity and abundance of the planktonic rotifers in different environments of the Upper Paraná River floodplain (Paraná State - Mato Grosso do Sul State, Brazil). *Hydrobiologia*, 546, 405–414.
- Bottrell, H. H., A. Duncan, Z. M. Gliwicz, E. Grygierek, A. Herzig, A. Hillbricht-Ilkowska, H. Kurasawa, P. Larsson, T. Weglenska. 1976. A review of some problems in zooplankton production studies. *Norwegian Journal of Zoology*, 24, 419–456.
- Burks, R.L., D.L. Lodge, E. Jeppesen, T. L. Lauridsen. 2002. Diel horizontal migration of zooplankton: cost and benefits of inhabiting the littoral. *Freshwater Biology*, 47, 343–365.
- Cassie, R. 1971. Sampling and statistics. A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. IBP (International Biological Programme) Handbook, Oxford, England: Blackwell Vol. 17, pp. 174–209.
- Chaparro, G., M. C. Marinone, R. J. Lombardo, M.R. Schiaffino, A. de Souza Guimarães, I. O'Farrell. 2011. Zooplankton succession during extraordinary drought–flood cycles: A case study in a South American floodplain lake. *Limnologia*, 41(4), 371–381.
- Claps, M.C., N. A. Gabellone, H. H. Benítez. 2011. Seasonal changes in the vertical distribution of rotifers in a eutrophic shallow lake with contrasting states of clear and turbid water. *Zoological Studies*, 54.
- Diovisalvi, N., M. Odriozola, J. García de Souza, F. Rojas Molina, M. S. Fontanarrosa, R. Escaray, J. Bustingorry, P. Sanzano, F. Grosman, H. Zagarese. 2018. Species-specific phenological trends in shallow Pampean lakes' (Argentina) zooplankton driven by contemporary climate change in the Southern Hemisphere. *Global Change Biology*, 24 (11), 5137–5148.
- Dumont, H.J., I. van de Velde, S. Dumont. 1975. The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. *Oecologia*, 19, 75–97.
- Echaniz, S.A., A. M Vignatti. 2011. Seasonal variation and influence of turbidity and salinity on the zooplankton of a saline lake in central Argentina. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 39(2), 306–315.
- Echaniz, S.A., A. M. Vignatti, S. B. José de Paggi, J.C. Paggi, A. Pilati. 2006. Zooplankton Seasonal Abundance of South American Saline Shallow Lakes. *International Review of Hydrobiology*, 91(1), 86–100.
- Echaniz, S., A. Vignatti, J. C. Paggi, S.B. José de Paggi. 2005. Riqueza y composición del zooplancton de lagunas saladas de Argentina. *Revista FABICIB*, 9, 25–39.
- González Sagrario, M.D.L.A., E. Balseiro. 2010. The role of macroinvertebrates and fish in regulating the provision by macrophytes of refugia for zooplankton in a warm temperate shallow lake. *Freshwater Biology*, 55(10), 2153–2166.
- Jeppesen, E., T. L. Lauridsen, T. Kairesalo, M. Perrow. 1998. Impact of submerged macrophytes on fish–zooplankton interactions in lakes. En: Jeppesen, E., Søndergaard, M., Søndergaard, M., y Christoffersen, K. (eds.), *The Structuring Role of Submerged Macrophytes in Lakes Ecological Studies*, 131. Springer, New York: 91–114.
- José de Paggi, S.B., M. Devercelli, F. R. Molina. 2014. Zooplankton and their driving factors in a large subtropical river during low water periods. *Fundamental and Applied Limnology*, 184(2), 125–139.
- José de Paggi, S.B., J. C. Paggi. 1995. Determinación de la abundancia y biomasa zooplanctónica. En: Lopretto, E. y Tell, G. (eds.), *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio*. Tomo I. Ediciones Sur, La Plata, pp. 315–323.
- Lampert, W., U. Sommer. 2007. *Limnoecology*. Oxford University Press. 324 pp.
- Mamani, A., M. L. Koncurat, M. Boveri. 2019. Combined effects of fish and macroinvertebrate predation on zooplankton in a littoral mesocosm experiment. *Hydrobiologia*, 829(1), 19–29.

Obertegger, U., H. A. Smith, G. Flaim, R. L. Wallace. 2011. Using the guild ratio to characterize pelagic rotifer communities. *Hydrobiologia*, 662(1), 157–162.

Obertegger, U., R. L. Wallace. 2023. Trait-Based Research on Rotifera: The Holy Grail or Just Messy? *Water*, 15 (1459).

Paggi, J.C., R. O. Mendoza, C. J. Debonis, S. B. José de Paggi. 2001. A simple and inexpensive trap-tube sampler for zooplankton collection in shallow waters. *Hydrobiologia*, 464, 45–49.

Rennella, A.M., M. D. Geronazzo, M. E. Romero, M. Boveri, J. J. Rosso. 2019. Hydrological variability, zooplankton availability and the shift between planktivore-benthivore feeding behaviour in the visual predator fish, *Odontesthes bonariensis*. *Environmental Biology of Fishes*, 102(5), 713–725.

Ruttner-Kolisko, A. 1977. Suggestions for biomass calculation of planktonic rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 8, 71–76.

Thorp, J.H. A. P. Covich. (eds.) 2010. *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Third Edition. Academic Press. 1021 pp.

Wetzel, R.G. 2001. *Limnology*. Third Edition, Saunders College Publishing. 1006 pp.

Work, K.A., K.E. Havens. 2003. Zooplankton grazing on bacteria and cyanobacteria in a eutrophic lake. *Journal of Plankton Research*, 25, 1301–1307.

Anexo I: Identificación taxonómica del zooplancton

Diversidad taxonómica del zooplancton

Para los tres grupos considerados en el presente capítulo, el inventario más reciente para Argentina (José de Paggi et al., 2022) registra un total de 665 especies en todo el territorio. En la región pampeana hay 278 especies: 179 rotíferos, 63 cladóceros y 36 copépodos (excluyendo los Harpacticoida). Si bien existen claves para la identificación de las familias y los géneros de los grupos mencionados, para determinar las especies es necesario consultar descripciones y redescripciones de especies, y revisiones actualizadas de géneros presentes en la región, ya que la fauna local es rica en endemismos. Es importante señalar que, tanto para los cladóceros como para los copépodos, las claves para las especies de otras regiones biogeográficas no son apropiadas para la determinación de las especies sudamericanas.

Copépodos

En ambientes de agua dulce dominan tres órdenes de copépodos: Calanoida, Cyclopoida y Harpacticoida; pero estos últimos se encuentran

asociados a los sedimentos y sólo aparecen esporádicamente en las muestras de plancton. El ciclo de vida de los copépodos comprende un número preestablecido de estadios: 6 larvas nauplii y 6 copepoditos (5 estadios juveniles y 1 estadio adulto). Las nauplii eclosionan con tres pares de apéndices: antenas 1, antenas 2 y mandíbulas. Durante los sucesivos estadios el cuerpo se alarga por el agregado de segmentos y aparecen primordios de los siguientes apéndices. Las nauplii de Calanoida suelen ser robustas, con el dorso encorvado, rostro bien marcado y antenas 1 gruesas. Las nauplii de los Cyclopoida son generalmente más pequeñas, aplanadas en forma de escudo, con rostro poco prominente y antenas 1 delgadas (Figura AI.1).

En los copepoditos (CI a CV), el número de segmentos corporales y de patas natatorias se incrementa con las sucesivas mudas. El cuerpo del adulto (CVI) se divide en cefalosoma, metasoma (los que juntos integran el prosoma) y urosoma (Figura AI.2). El cefalosoma consta de 6 segmentos fusionados: 5 segmentos cefálicos con piezas bucales y el primer segmento torácico con maxilipedios.

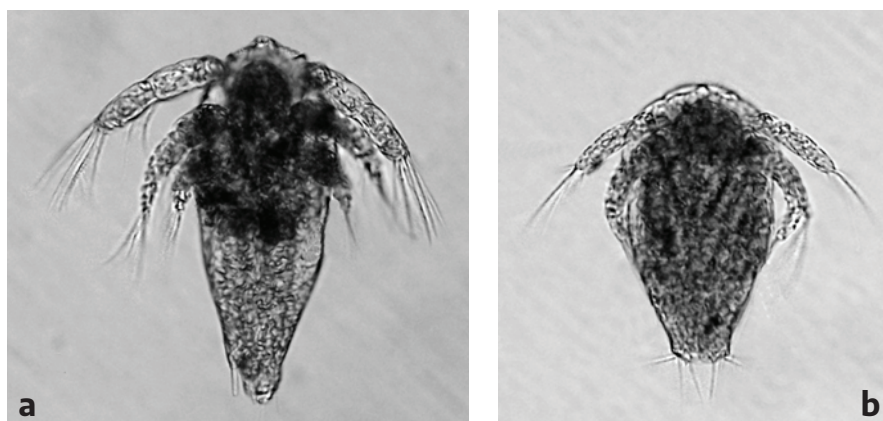
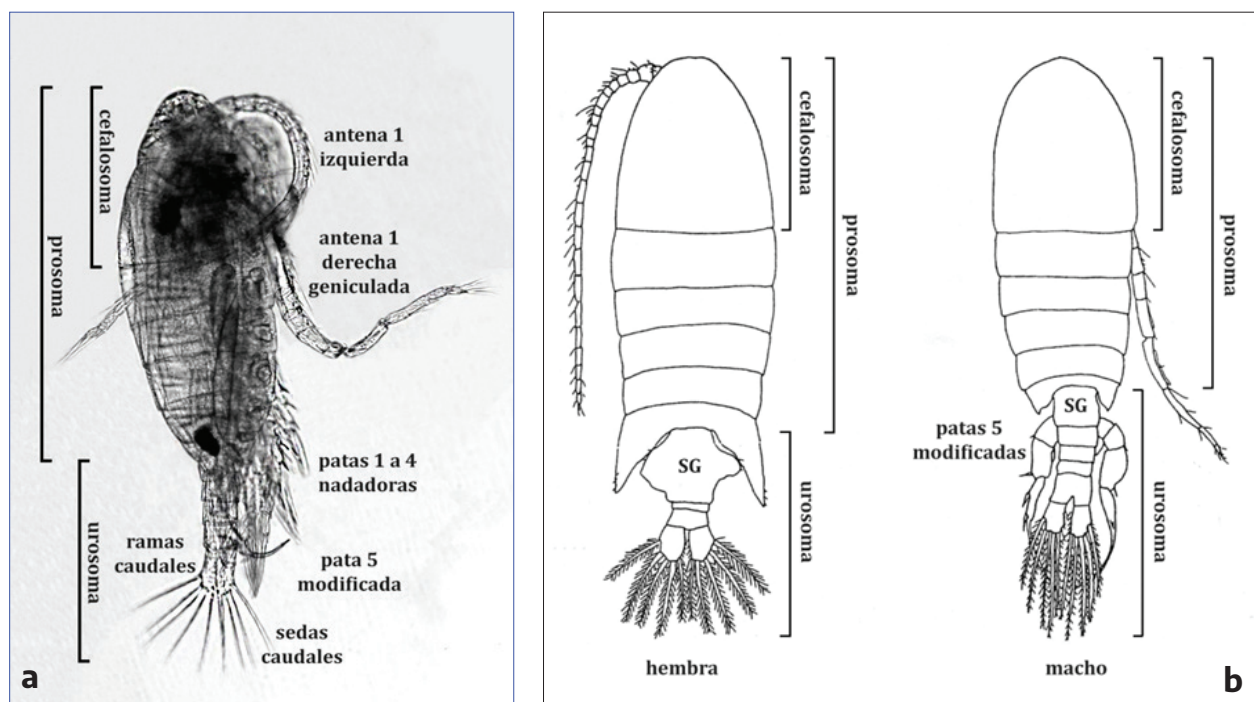


Fig. AI.1. a: larva nauplius del orden Calanoida (*Notodiaptomus incompositus*); b: larva nauplius del orden Cyclopoida (*Acanthocyclops robustus*).



El primer par de apéndices del cefalosoma son las antenas 1 (A1 o anténulas), que tienen funciones natatorias y sensoriales. En los machos de los distintos órdenes, una o ambas anténulas están modificadas (Figura Al. 3, Tabla Al.2) en una zona de flexión (son geniculadas), que sirve para la sujeción de la hembra durante la cópula. Cada uno de los segmentos torácicos 2 a 6, posee un par de patas nadadoras (toracópodos 1 a 4). En los calanoideos, los toracópodos 5 (o P5) presentan un dimorfismo sexual marcado: en los machos están modificadas en ganchos para el acople, que son de valor taxonómico para la determinación de las especies (Figura Al. 2). En los Cyclopoida, las P5 están reducidas en ambos sexos, y para la determinación taxonómica se consideran los caracteres de las P5 de las hembras. El siguiente segmento (el primero del urosoma), lleva las aberturas genitales en ambos sexos. En las hembras, el segmento genital suele estar fusionado al siguiente o más segmentos del urosoma (Figura Al. 2b). En Calanoida, el urosoma carece de apéndices (Suborden Gymnoplea), mientras que en Cyclopoida y Harpacticoida existe un par de patas vestigiales (Suborden Podoplea) (Tabla Al.2). El último segmento del urosoma (el cuarto) termina en dos ramas caudales (furca), provistas de sedas terminales (Figura Al.2a).

Para la identificación de los copépodos a nivel de especie es necesario disecar las patas 5 (de

machos de Calanoida o de hembras de Cyclopoida), las antenas y otras estructuras anatómicas de importancia taxonómica, empleando un par de agujas de micro-disección, bajo microscopio estereoscópico (Figura 2). La disección se realiza en una gota de glicerina diluida, en un portaobjeto excavado, donde las piezas separadas pueden ser orientadas sin aplastarlas, hasta lograr una posición adecuada para su observación en preparados transitorios, bajo microscopio óptico. La toma de microfotografías digitales es muy útil para documentar las determinaciones. La clave para los géneros de copépodos de Argentina (Battistoni, 1995) ha quedado desactualizada, por lo que se recomienda consultar el listado de especies y la bibliografía sobre nuevas claves y descripciones de especies de la región Neotropical, citadas en la revisión publicada por José de Paggi *et al.* (2022). Para la identificación de las especies, y como fuente de información sobre la anatomía, biología, fisiología y ecología de Copepoda, se puede consultar la siguiente bibliografía:

Battistoni, P. 1995. En: Lopretto E. y Tell, G. (eds.), Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio. Tomo III, Ediciones Sur, La Plata, pp. 953–971.

Bayly, I. A. E. 1992. Fusion of the genera *Boeckella* and *Pseudoboeckella* (Copepoda) and revision of their species from South America and

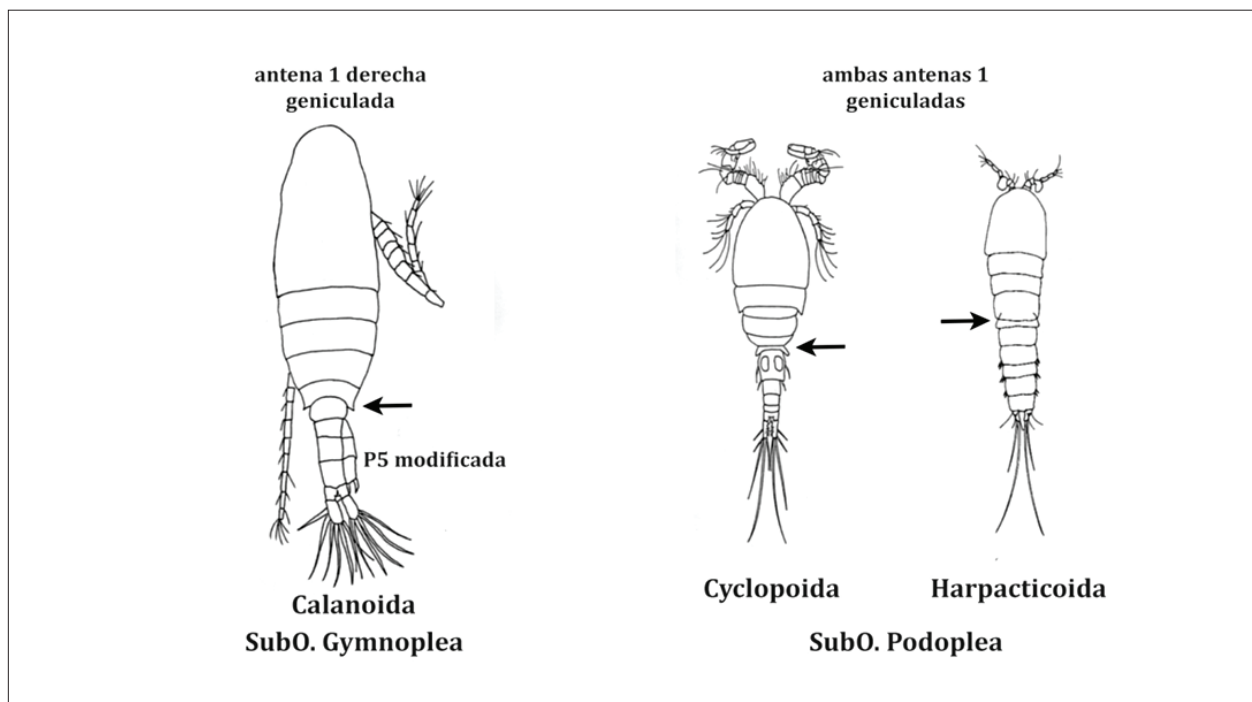


Figura A1.3. Esquema corporal de los órdenes y subórdenes de Copepoda de vida libre de agua dulce. Las flechas indican la constricción y articulación principal del cuerpo.

Calanoida	Cyclopoida	Harpacticoida
forma de torpedo: prosoma más ancho que el urosoma	forma de gota: prosoma más ancho que el urosoma	forma cilíndrica: prosoma y urosoma casi del mismo ancho
constricción y articulación principal del cuerpo entre el segmento torácico que lleva las patas 5 y el segmento genital	constricción y articulación principal del cuerpo entre los segmentos torácicos que llevan las patas 4 y 5	constricción leve y articulación principal del cuerpo entre los segmentos torácicos que llevan las patas 4 y 5
A1 largas (22-25 artejos): pueden superar el extremo posterior del prosoma	A1 cortas (6-18 artejos): alcanzan como máximo el extremo posterior del prosoma	A1 muy cortas (5-9 artejos): llegan como máximo al extremo posterior del cefalosoma
una de las A1 del macho (en general la derecha) geniculada	ambas A1 del macho geniculadas	ambas A1 del macho geniculadas
patas 5 bien desarrolladas (birramosas), simétricas en hembras, asimétricas y modificadas en machos	patas 5 muy reducidas (unirramosas)	patas 5 muy reducidas (unirramosas)
urosoma sin apéndices, segmento genital ápodo	urosoma con patas 6 vestigiales en el segmento genital	urosoma con patas 6 vestigiales en el segmento genital, (mayores en machos)
hembras con 1 ovisaco medial	hembras con 2 ovisacos laterales	hembras con 1 ovisaco medial (raramente hasta 4 sacos)
mayormente planctónicos	planctónicos, litorales y bentónicos	bentónicos, litorales y semiterrestres

Tabla A1.2. Comparación de los caracteres morfológicos y hábitats de los tres órdenes de Copepoda de vida libre de agua dulce.

sub-Antarctic islands. *Revista Chilena de Historia Natural*, 65, 17-63.

José de Paggi, S.B., M. C. Marinone, G. C. Küppers, M. C. Claps, J. C. Paggi. 2022. Taxonomic diversity of the freshwater Zooplankton in Argentina: A review. *Limnologica* (100 (2023) 126029). <https://doi.org/10.1016/j.limno.2022.126029> (datos suplementarios en la versión online)

Menu Marque, S.A. 2003. Las especies del género *Boeckella* (Copepoda, Calanoida, Centropagidae) de la República Argentina y taxa afines. Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Paggi, J.C. 1995. Biodiversidad del zooplancton en los ecosistemas acuáticos continentales de la región neotropical: revisión de las especies del género *Notodiaptomus* Kiefer (Copepoda, Calanoida). Tesis de Maestría, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.

Perbiche-Neves, G., E. Suárez-Morales, D. Previattelli, E.N. dos Santos-Silva, C.E.F. da Rocha. 2020. Chapter 21. Class Copepoda. Calanoida: Diaptomidae. En: Damborenea, C., Rogers, D.C., Thorp, J.H. (eds.), *Keys to Neotropical and Antarctic Fauna*. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Fourth Edition, Vol. V., Academic Press, pp. 673–698.

Reid, J.W. 1985. Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). *Bolm. Zool., Univ. São Paulo* 9, 17–143.

Reid, J.W., C. E. Williamson. 2010. Chapter 21. Copepoda. En: Thorp, J.H., Covich, A.P. (eds.), *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, Third Edition, Academic Press, Elsevier, pp. 829–899.

Suárez-Morales, E. 2020. Chapter 21. Class Copepoda. Calanoida: Centropagidae. En: Damborenea, C., Rogers, D.C., Thorp, J.H. (eds.), *Keys to Neotropical and Antarctic Fauna*. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Fourth Edition, Vol. V., Academic Press, Elsevier, pp. 699–702.

Suárez-Morales, E., M.A. Gutiérrez-Aguirre. 2020. Chapter 21. Class Copepoda. Order Cyclopoida: Cyclopidae: Halicyclopinidae and Cyclopinae. En: Damborenea, C., Rogers, D.C., Thorp, J.H. (eds.), *Keys to Neotropical and Antarctic Fauna*. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Fourth Edition, Vol. V., Academic Press, Elsevier, pp. 745–767.

Suárez-Morales, E., N. F. Mercado-Salas. 2020. Chapter 21. Class Copepoda. Order Cyclopoida: Cyclopidae: Eucyclopinae. En: Damborenea, C., Rogers, D.C., Thorp, J.H. (eds.), *Keys to Neotropical and Antarctic Fauna*. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Fourth Edition, Vol. V., Academic Press, Elsevier, pp. 767–780.

Cladóceros (Fig. Al.4)

Los cladóceros son microcrustáceos de la Clase Branchiopoda. Si bien el término “Cladocera” ha perdido validez taxonómica, aún resulta de utilidad práctica para referirse al grupo. En los ambientes dulceacuícolas de la República Argentina existen representantes de los órdenes Ctenopoda y Anomopoda. Los cladóceros tienen un cuerpo compacto, constituido por unos pocos segmentos exteriormente indiferenciables, salvo por la presencia de apéndices. La mayoría de los cladóceros posee un caparazón transparente plegado en dos valvas, que contiene y protege la porción postcefálica del cuerpo, a la vez que funciona como órgano de intercambio gaseoso, cámara de filtración y cámara de cría. El caparazón suele presentar una espina posterior, y está unido al cuerpo por la región anterodorsal del tórax. La cabeza está protegida por un escudo cefálico, a menudo provisto de una espina anterior o una cresta. La cabeza cuenta con un ojo compuesto, un ocelo diminuto, 2 anténulas

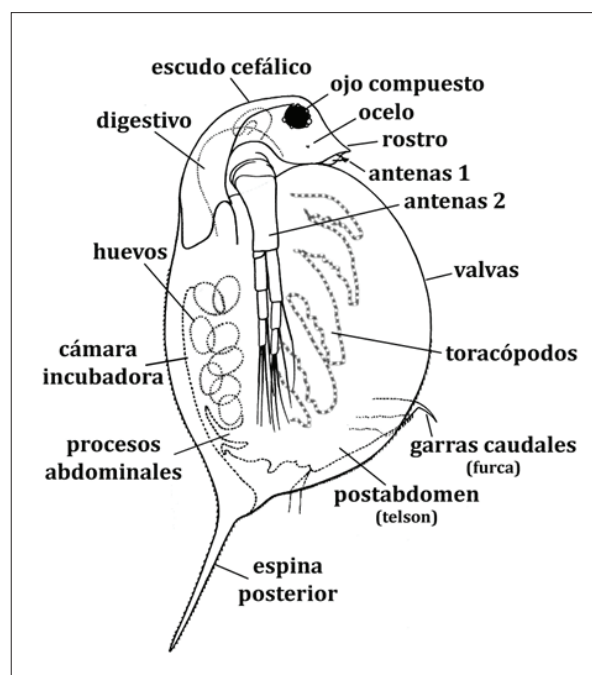


Fig. Al.4. Esquema corporal de un cladóceros Anomopoda (*Daphnia spinulata*) en vista lateral. Las estructuras representadas en líneas de puntos se encuentran cubiertas por el caparazón.

(o antenas 1) en general pequeñas y no segmentadas, de función quimiosensorial. La abertura bucal y los apéndices masticatorios (mandíbulas, maxilas 1 y maxilas 2) se encuentran por detrás de la cabeza, ocultos bajo el caparazón. Las antenas (o antenas 2) son conspicuos apéndices birramosos segmentados, provistos de largas sedas de función natatoria a la vez que actúan como paracaídas. En los Ctenopoda, el tórax posee 6 pares de apéndices filopodiales de morfología aproximadamente uniforme, mientras que en los Anomopoda hay 5 o 6 pares que son heterónomos. Los toracópodos tienen función respiratoria y realizan la filtración selectiva del alimento (o raspadora en las familias bentónicas). El abdomen está reducido a unas pocas protuberancias dorsales que cierran la parte posterior de la cámara incubadora. La porción terminal del cuerpo es un postabdomen (o telson) móvil donde se ubica el ano, y que termina en un par de garras caudales (o furca), que pueden sobresalir entre las valvas del caparazón.

Los machos son más pequeños que las hembras, poseen anténulas muy desarrolladas, una seda sensorial muy larga y un gancho copulador (clasper) en el primer par de toracópodos, y tienen un postabdomen modificado con dos poros genitales o un par de penes. Los machos aparecen esporádicamente, cuando las condiciones ambientales se tornan desfavorables. Las poblaciones de cladóceros suelen estar constituidas por hembras que se reproducen por partenogénesis, generando clones femeninos. Eventualmente, las hembras producen embriones diploides de machos, los que al madurar realizan la fecundación. La reproducción sexual permite la aparición de huevos de resistencia, que la hembra lleva en la parte dorsal del caparazón, dentro de un estuche cuticular esclerotizado denominado efipio (Dodson *et al.*, 2010). El efipio provee una forma de dispersión pasiva, tanto espacial como temporal, ya que pueden viajar enormes distancias hasta nuevos ambientes y/o permanecer por años en estado de vida latente como bancos de huevos en los sedimentos. Los cladóceros se caracterizan por su notoria diversidad morfológica y su plasticidad fenotípica y fisiológica, lo que les ha permitido ocupar una gran variedad de hábitats. Existen asimismo grupos de especies crípticas, cuya identificación requiere de la taxonomía integrativa. Dichas características hacen que su determinación taxonómica sea compleja.

Para determinar cladóceros a nivel de específico, es necesario disecarlos bajo microscopio estereoscópico en un portaobjetos excavado, usando un par de agujas de micro-disección (Figura 2). Las estructuras anatómicas de importancia

taxonómica se montan entre porta y cubreobjeto, como preparados transitorios en glicerina diluida. La manipulación de los toracópodos requiere de un buen entrenamiento, ya que son muy pequeños y delicados. Es muy práctico tomar microfotografías digitales para documentar las determinaciones. Para familiarizarse con el esquema taxonómico básico de los principales grupos de cladóceros, se puede consultar el diagrama de NIWA (2002). La clave de Paggi (1995) permite determinar los principales géneros de cladóceros de la región Neotropical, además de brindar información general sobre el grupo, pero desde su publicación se han descrito y reportado nuevos géneros y especies, y han ocurrido cambios nomenclatoriales, especialmente en los Chydoridae de la Subfamilia Aloninae. José de Paggi *et al.* (2022) presentan una actualización del elenco faunístico local y una regionalización de las especies presentes en Argentina (citado anteriormente).

Dodson, S.L., C. E. Cáceres, D. C. Rogers. 2010. Chapter 20. Cladocera and other Branchiopoda. En: Thorp, J.H. y Covich, A.P. (eds.), *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, Third Edition, Academic Press, Elsevier, pp. 773–827.

NIWA. 2002. Quick-guide to New Zealand Cladocera families, and genera with representatives in the plankton. Diagrama online en: https://niwa.co.nz/sites/niwa.co.nz/files/import/attachments/planktonic_cladocera.pdf

Paggi, J.C., 1995. Cladocera. En: Lopretto, E. y Tell, G. (eds.), *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio*. Tomo III, Ediciones Sur, La Plata, pp. 909–951.

Rotíferos (Fig. A1.5)

En los ambientes dulceacuícolas, el *phylum* Rotifera está representado por las Subclases Monogononta (con un solo ovario) y Digononta (con dos ovarios), perteneciendo los Bdelloidea a este último grupo. La Subclase Monogononta comprende al 80% de los rotíferos. El cuerpo de los rotíferos es mayormente cilíndrico o sacciforme, pero presentan una enorme diversidad morfológica. Muchos Monogononta poseen una gruesa lámina intradérmica de queratina, que conforma una lórica rígida de función protectora. Los Bdelloidea tienen aspecto vermiforme y una cutícula flexible les permite telescoparse. El cuerpo de un rotífero se divide en tres regiones: corona, tronco y pie. La corona lleva una o más bandas de cilias, de función locomotora y trófica, ya que el batido ciliar propulsa al animal

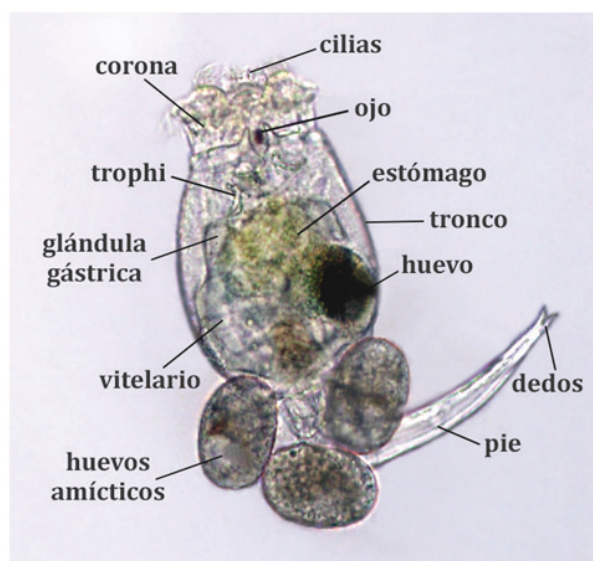


Fig. A1.5. Esquema corporal *in vivo* de un rotífero Monogononta (*Brachionus caudatus*).

y lleva las partículas de alimento hacia la boca. La corona también posee órganos sensoriales como cirros y antenas. La faringe consta de un *mastax* musculoso que mueve un *trophi* compuesto por 7 piezas quitinosas, que presentan diferentes configuraciones de acuerdo a la forma de alimentación de las especies (filtradora, moledora, raptora, etc.), y que reviste gran importancia taxonómica.

Los Bdelloidea se reproducen exclusivamente por partenogénesis, mientras que los Monogononta los hacen por partenogénesis cíclica, con la aparición esporádica de machos con un marcado dimorfismo sexual. A diferencia de los cladóceros, los machos de los Monogononta son haploides enanos, con aparato digestivo atrofiado, y un pene bien desarrollado, de modo que su breve vida se limita a producir espermatozoides y a copular. En muestras fijadas, los machos contraídos no son reconocibles. La reproducción sexual permite la producción de huevos de resistencia o durables, que son liberados al ambiente y tienen similares capacidades de dispersión espacial y temporal que los cladóceros. Los rotíferos presentan una gran diversidad morfo-funcional, y algunas especies tienen plasticidad fenotípica inducida por factores ambientales, lo que puede dificultar su determinación taxonómica.

Para la determinación de las especies de rotíferos se consideran las características de la lórica, el *trophi*, el pie y los apéndices (cuando los hay). Muchas de las especies iloricadas se contraen con la fijación, en cuyo caso es necesario observar ejemplares vivos o la estructura del *trophi* para su identificación. Para ello, se separa el espécimen en una

gota de agua, usando micropipeta *ad hoc* (Figura 2) o microansa, y se lo coloca entre porta y cubreobjeto, evitando aplastarlo. Una vez enfocado, se pone una gotita de hipoclorito de sodio diluido en contacto con uno de los bordes del cubreobjeto y se espera a que penetre por capilaridad. En pocos minutos, el cuerpo del rotífero se degrada, excepto las piezas quitinosas del *trophi*, permitiendo así su visualización e identificación. Hay que tener cuidado de no exponer los objetivos ni otras partes del microscopio al hipoclorito, ya que es corrosivo. Las microfotografías digitales son muy útiles para documentar las determinaciones.

Los rotíferos de la Subclase Monogononta presentes en Argentina pueden determinarse hasta familias y géneros usando las claves de José de Paggi (1995). Para la determinación de los géneros de Monogononta y Digononta neotropicales y antárticos, se recomienda la clave actualizada y profusamente ilustrada de José de Paggi *et al.* (2020). Por otra parte, José de Paggi *et al.* (2022) proporcionan una actualización de los elencos faunísticos para las distintas regiones de Argentina (citado anteriormente) y una extensa base bibliográfica. El Rotifer World Catalog de Jersabek y Leitner (2013) es una fuente de información taxonómica online, muy completa y de fácil consulta. A continuación, se presenta un listado de trabajos relevantes para la determinación de las especies con mayor representación en las lagunas pampeanas.

Ahlstrom, E.H. 1940. A revision of the Rotatorian genera *Brachionus* and *Platytias*, with descriptions of one new species and two new varieties. Bulletin of the American Museum of Natural History, 77, 143–184.

Jersabek, C.D., M. F. Leitner. 2013. The Rotifer World Catalog. World Wide Web electronic publication. <http://www.rotifera.hausdennatur.at/>

José de Paggi, S.B., R. Wallace, D. Fontaneto, M.C. Marinone. 2020. Chapter 8. Phylum Rotifera. En: Damborenea, C., Rogers, D.C. y Thorp, J.H. (eds.), Keys to Neotropical and Antarctic Fauna. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Fourth Edition, Vol. V., Academic Press, Elsevier, pp. 145–200.

Koste, W., R. J. Shiel. 1989. Rotifera from Australian inland waters. IV. Colurellidae (Rotifera: Monogononta). Transactions of the Royal Society of South Australia, 113(3), 119–143.

Ruttner-Kolisko, A. 1974. Plankton Rotifers Biology and Taxonomy. Die Binnengewässer 26(1)

Supplement, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller), Stuttgart, 146 pp.

Segers, H. 1995. The Lecanidae (Monogononta). En: Nogrady, T. (ed.): Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World 6, SPB Academic Publishing, pp. 1–226.

Shiel, R.J. , W. Koste. 1992. Rotifera from Australian inland waters. VIII: Trichocercidae (Monogononta). Transactions of the Royal Society of South Australia, 116(1-2), 1-27.

CAPÍTULO 7

Metodología para el estudio del picoplancton y el nanoplancton

Fernando Unrein, María Victoria Quiroga y Juliana Ospina-Serna

Consideraciones generales

Los organismos microscópicos son sumamente relevantes en el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos. Considerando tanto los océanos como los sistemas continentales, los ambientes acuáticos representan aproximadamente el 75% de la superficie del planeta. La mitad de la producción primaria que se genera en el planeta sucede en el agua (Field et al., 1998; Falkowski, 2002), de la cual el 90% se debe a los microorganismos (Duarte y Cebrián, 1996). Asimismo, la mayor parte de la respiración en sistemas acuáticos también corresponde a microorganismos (del Giorgio y Duarte, 2002). Es decir, que la mayor parte del carbono que fluye a través de las tramas tróficas acuáticas pasa por los organismos más pequeños presentes en el agua.

Los microorganismos se pueden clasificar de acuerdo a su tamaño siguiendo el criterio de Sieburth et al. (1978) en: picoplancton (0,2-2 μm), nanoplancton (2-20 μm) y microplancton (20-200 μm). Dentro de cada una de estas fracciones podemos encontrar distintos microorganismos (Figura 1).

Las **bacterias heterótrofas** son en general unicelulares y su tamaño oscila alrededor de 0,5-1 μm , por lo que suelen encontrarse mayormente en la fracción picoplanctónica. Aunque también hay bacterias unicelulares >2 μm , bacterias filamentosas o formando agregados que pueden llegar a medir varias micras de longitud o diámetro.

El fitoplancton abarca todas las fracciones. En particular, el picoplancton fotosintético o **picofitoplancton**,

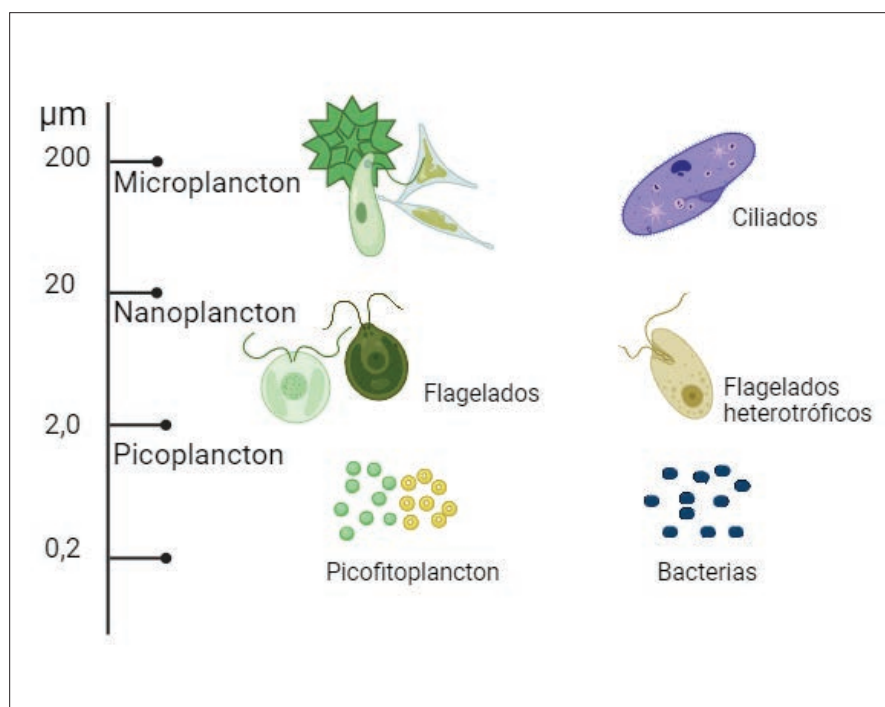


Fig. 1. Esquema de las distintas fracciones de microorganismos de acuerdo al tamaño y a la presencia de pigmentos fotosintéticos. Extraído de BioRender.com.

es la fracción más pequeña (<2 µm). Está compuesto por cianobacterias cocoides, mayormente del orden Synechococcales (picocianobacterias, Pcy) y por algas eucariotas picoplanctónicas o picoeucariotas (Peuk). Las Pcy suelen separarse en dos grandes grupos dependiendo de su composición pigmentaria, pudiéndose diferenciar aquellas que tienen como pigmento accesorio dominante la ficoeritrina (PE-Pcy) o aquellas ricas en ficocianina (PC-Pcy) (Callieri 2007). Las Peuk son un grupo heterogéneo que abarcan diferentes linajes de eucariotas fotosintéticos, tales como Trebouxiophyceae, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, entre otros (Stockner y Antia, 1986; Padisák et al., 1997; Raven, 1998; Not et al., 2004; Diez et al., 2001; Metz et al., 2019).

Los **flagelados heterótrofos**, antiguamente denominados protozoos, componen un grupo heterogéneo de microorganismos incoloros, flagelados, de vida libre y que se alimentan generalmente de manera heterotrófica. Pueden encontrarse en las tres fracciones, aunque predominan en la fracción nanoplanctónica.

Finalmente, los **ciliados** se encuentran en las fracciones nano y microplanctónica.

Excepto en el caso del fitoplancton de mayor tamaño y los ciliados, que muchos de ellos pueden identificarse y cuantificarse de acuerdo a sus características morfológicas mediante microscopio invertido, el resto de los microorganismos mencionados (i.e. bacterias heterótrofas, pico-fitoplancton y flagelados heterótrofos) no pueden cuantificarse por técnicas convencionales de microscopía, debido a su pequeño tamaño, y a la ausencia de pigmentos en el caso de los heterótrofos.

Por estas razones, para estos microorganismos se utilizan técnicas de:

- **microscopía de epifluorescencia**

- **citometría de flujo**

- ADN ambiental (link a Manual lóticos <https://re-maqua.conicet.gov.ar/>)

A continuación desarrollaremos las primeras dos técnicas.

Microscopía de epifluorescencia

Esta técnica se fundamenta en la detección de microorganismos en base a la propiedad fluorescente que poseen algunas moléculas orgánicas.

Algunos pigmentos fotosintéticos como la clorofila-a, la ficocianina y la ficoeritrina son fluorescentes, lo que permite identificar a distintas algas. Asimismo, existen pigmentos fluorescentes que tiñen los ácidos nucleicos (e.g. DAPI) (Porter y Feig, 1980), que permiten identificar organismos no pigmentados como las bacterias y los flagelados heterótrofos. La técnica se basa en filtrar la muestra sobre un filtro de policarbonato negro, el cual es montado entre portaobjeto y cubreobjeto con aceite de inmersión apto para microscopía de fluorescencia. Los organismos quedan fijados y retenidos en el filtro para poder ser analizados más adelante.

Para esta técnica se requieren los siguientes materiales:

- Guantes descartables
- Falcon de 50 mL para toma de muestra
- Glutaraldehído 10%
- Equipo de filtración para filtros de 25 mm de diámetro
- Bomba de vacío
- Pinza de punta fina
- Agua destilada o MQ para realizar lavados
- DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) 0,5 mg/mL
- Filtros de acetato de celulosa de 25 mm y de entre 2 a 5 µm de poro (filtro soporte)
- Filtros de policarbonato negros de 25 mm y de 0,2 µm de poro (para picoplancton)
- Filtros de policarbonato negros de 25 mm y de 0,6 o 0,8 µm de poro (para nanoplancton)
- Aceite de inmersión para fluorescencia
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Caja para almacenar preparados
- Microscopio de epifluorescencia

La metodología estandarizada se divide en los siguientes pasos principales:

Toma de muestras

- Fijar 45 mL de muestra con 5 mL de glutaraldehído 10% frío (4°C) y filtrado por 0,2 µm (1% concentración final).

- Mantener a 4°C hasta procesar la muestra (preparar los filtros) que debe hacerse entre 1h y 24hs después de la fijación. No se puede preservar las muestras fijadas en medio líquido por mucho tiempo ya que las células se lisan y se subestima el recuento.

Filtrado (Figura 2)

- Humedecer con una gota de agua MQ (i.e. libre de bacterias) el embudo del equipo de filtración. Esto facilita que el filtro se quede pegado.

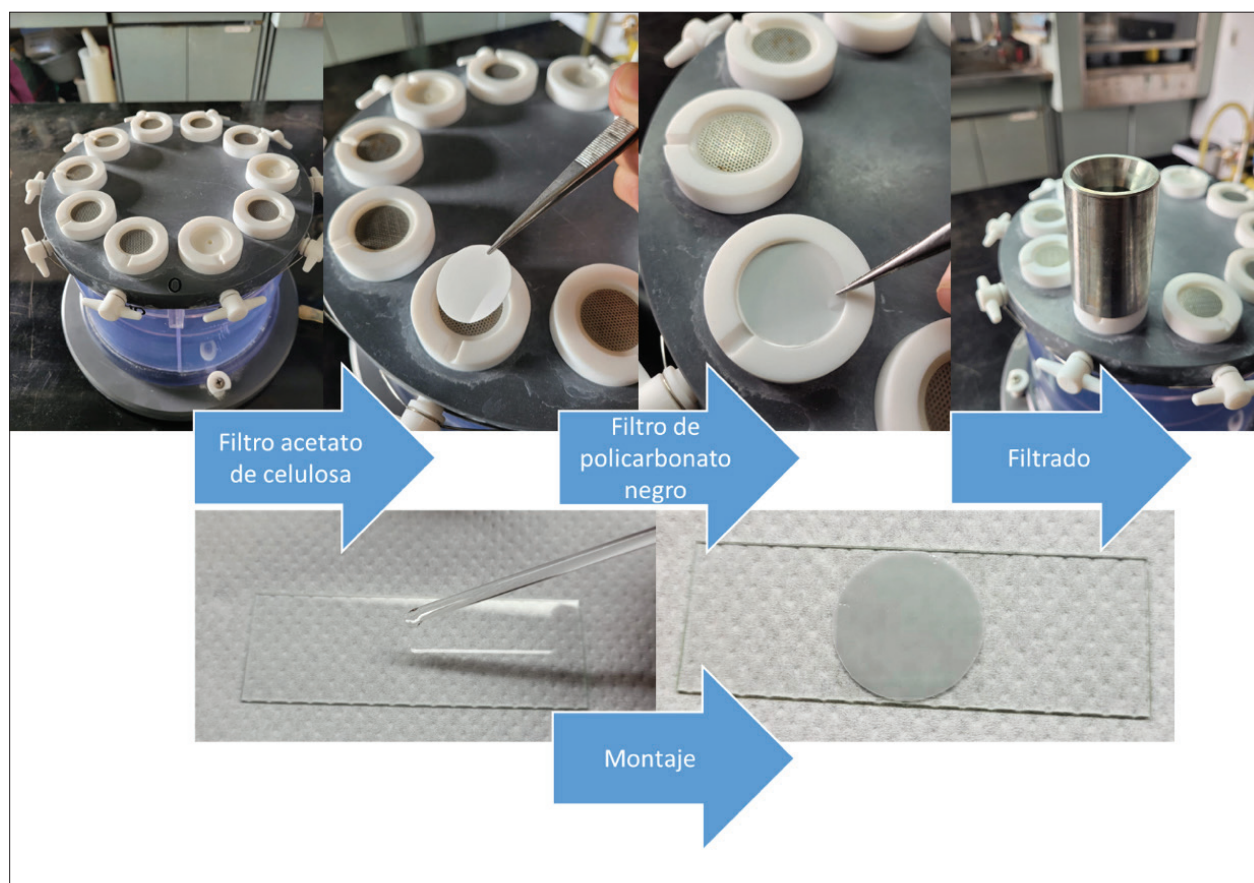


Fig. 2. Secuencia de filtración de la muestra y montaje del filtro para epifluorescencia.

- Colocar el filtro soporte de acetato de celulosa. Este paso es opcional, se hace para garantizar la distribución homogénea de la muestra sobre el filtro.

- Colocar el filtro de policarbonato negro sobre el filtro de acetato de celulosa. Para picoplancton se utiliza un tamaño de poro de 0,2 μm , mientras que para nanoplancton se utiliza de 0,6 a 0,8 μm . Siempre colocar la parte brillante del filtro hacia arriba.

- Homogeneizar la muestra agitando suavemente.

- Agregar la muestra fijada en la columna de filtración. El volumen a filtrar es variable y depende de la abundancia de microorganismos en la muestra. Si se filtra demasiado volumen los organismos quedarán superpuestos en el filtro y será imposible su cuantificación. Por el contrario, si se filtra muy poco volumen casi no se verán organismos en el filtro y será necesario inspeccionar un área muy grande para obtener un recuento fiable.

Si no se conoce el sistema a estudiar y no se tiene ninguna información previa, es recomendable hacer una prueba con la primera muestra y observar

en el microscopio para evaluar y decidir el volumen más adecuado a filtrar.

A modo de ejemplo, en un ambiente oligotrófico se suele filtrar aproximadamente 5 mL para picoplancton y 20 mL para nanoplancton. Mientras que en ambientes eutróficos los volúmenes pueden ser inferiores a 100 μL y 500 μL para picoplancton y nanoplancton respectivamente. En el caso de que sea necesario filtrar un volumen inferior a 500 μL , se recomienda hacer una dilución previa con agua de la laguna filtrada dos veces por un tamaño de poro de 0,2 μm (*), para evitar pipetear volúmenes muy pequeños que pueden arrastrar errores en los cálculos.

- Si se colocó más de 5 mL, filtrar la muestra hasta que queden 5 mL. Si se colocó menos, agregar agua filtrada (*) hasta completar volumen.

- Agregar 50 μL de DAPI de la solución de trabajo 0,5 mg/mL (5 $\mu\text{g/mL}$ concentración final).

- Dejar teñir durante 10 min protegiendo la muestra con DAPI de la luz.

- Terminar de filtrar.

- Dejar secar el filtro en oscuridad.
- Colocar una pequeña gota de aceite de inmersión de baja fluorescencia en un portaobjetos, colocar el filtro seco sobre la gota, colocar otra gota encima y sobre ésta, el cubreobjetos.
- Dejar unos segundos que el aceite se expanda. Presionar levemente el cubreobjetos con papel absorbente para extraer el exceso de aceite.
- Guardar las muestras a -20°C en cajas especiales para portaobjetos.

Recomendaciones

- El DAPI es un colorante específico de ADN cancerígeno y fotosensible. En consecuencia, debe ser manipulado con extremo cuidado y se debe evitar su exposición a la luz. Para trabajar se recomienda el uso de guantes y anteojos protectores. Por otro lado, es conveniente trabajar con la intensidad de luz más baja posible durante el montaje de los preparados.
- Enjuagar muy bien el sistema de filtración entre una muestra y la siguiente con agua MQ o destilada libre de microorganismos.

Solución de trabajo de DAPI

- Agregar 1 mL de agua destilada filtrada por 0,2 µm en el vial de 10 mg DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol).
- Pasar la solución de 10 mg/mL de DAPI a un falcon recubierto con papel aluminio.
- Lavar el vial con sucesivos agregados de 1 mL de agua destilada filtrada y pasar al falcon.
- Completar el falcon con agua destilada filtrada hasta llegar a 20 mL. La concentración de DAPI en el falcon será de 0,5 mg/mL de DAPI.
- Filtrar esta solución por 0,2 µm (utilizar jeringa y filtros de jeringa tipo Millex) y hacer alícuotas de a 1 mL en 20 Eppendorf o crioviales de 1,5 mL. Esta es la solución de trabajo.
- Cerrar cada tubo con parafilm.
- Mantener a -20°C hasta su uso.
- Cuando se vaya a usar, descongelar un vial, utilizarlo y volver a congelarlo teniendo la precaución de no exponer el colorante a la luz.

Análisis de las muestras

Las muestras se cuantifican utilizando un microscopio de epifluorescencia a 1000x. La configuración óptica básica consiste en tres cubos con diferente longitud de onda de excitación (Tabla 1).

La radiación UV excita el DAPI, que tiñe ADN, el cual fluoresce celeste/azul. La excitación de la muestra con este filtro permite identificar bacterias y diferenciar el núcleo en organismos eucariotas (Figura 3). En algunos casos incluso permite observar los flagelos en organismos flagelados.

La clorofila es excitada por la luz azul y fluoresce rojo, lo que posibilita identificar los cloroplastos y así diferenciar los organismos fotosintéticos de aquellos incolores heterótrofos (Figura 3).

Otros pigmentos accesorios como la aloficocianina, la ficocianina y la ficoeritrina I y II, presentes en cianobacterias y criptoficeas, también fluorescen al ser excitadas con luz azul y verde. Dependiendo de la composición relativa de los ficobilisomas, estas algas suelen clasificarse en ricas en ficoeritrina (PE) o ricas en ficocianina (PC). Las ricas en PE se observan amarillas y amarillo/naranjas al ser excitadas con luz azul y verde respectivamente, mientras que las ricas en PC se observan rojo débil al ser excitadas con luz azul y rojo brillante con luz verde.

Citometría de flujo

Al igual que la microscopía de epifluorescencia, la citometría de flujo también se basa en la detección de microorganismos por la propiedad fluorescente que poseen algunas moléculas orgánicas. Brevemente, las células son transportadas una detrás de la otra a través de un flujo, y son interceptadas por un láser. La interacción entre el láser y las células proporciona información acerca de: la capacidad de la célula para dispersar la luz incidente (en inglés *scatter*) y la capacidad de emitir fluorescencia tanto de los pigmentos fotosintéticos autofluorescentes, como de las tinciones artificiales como el *SybrGreen I*. En general, la configuración óptica estándar de los citómetros de flujo cuenta con un láser azul (488 nm) y uno rojo (635 nm), que permite detectar hasta cuatro fluorescencias diferentes, y dos parámetros relacionados con el *scatter*:

- FL1 o FITC: fluorescencia verde (530/30 nm) emitida al excitar con láser azul. Permite detectar fluorocromos que emiten en verde como el FITC y el *SybrGreen I*.

Descripción	Filtro de excitación (nm)	Espejo dicróico (nm)	Filtro barrera (nm)
UV	355/50	400 LP	420 LP
Azul	470/40	500 LP	515 LP
Verde	535/50	565 LP	590 LP

Tabla 1. Configuración óptica típica de un microscopio de epifluorescencia para análisis de microorganismos acuáticos. Pueden variar levemente de acuerdo a la marca del microscopio.

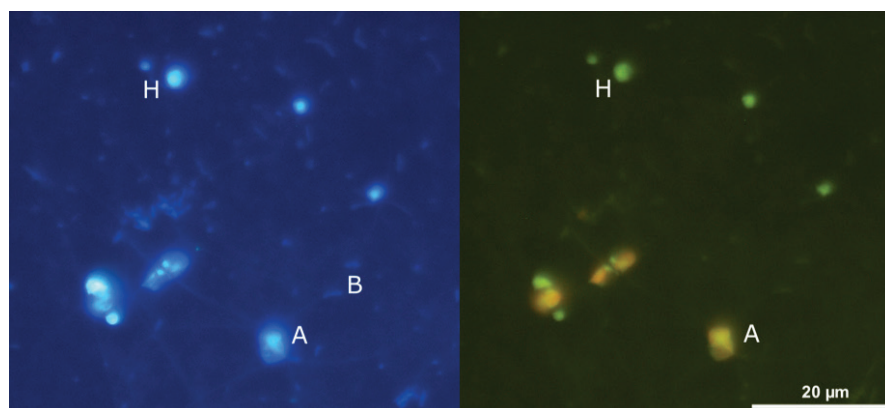


Fig. 3. Fotografías tomadas con microscopio de epifluorescencia. La imagen de la izquierda corresponde a una muestra teñida con DAPI y excitada con radiación UV, mientras que la imagen de la derecha es el mismo campo iluminado con luz azul. B: bacterias heterótrofas; H: organismos heterótrofos eucariotas (flagelados heterótrofos); A: organismos fotótrofos eucariotas (fitoplancton).

- FL2 o PE: fluorescencia amarillo/naranja (585/42 nm) al excitar con láser azul. Permite detectar la ficoeritrina.
- FL3 o PerCP: fluorescencia roja (670LP nm) al excitar con láser azul. Permite detectar la clorofila-a.
- FL4 o APC: fluorescencia roja (661/16 nm) al excitar con láser rojo. Permite detectar la ficocianina.
- FSC (*forward scatter*): dispersión de la luz hacia el frente, en un ángulo de aprox. 15°. Relacionado con el tamaño de las partículas.
- SSC (*side scatter*): dispersión de la luz a 90°. Relacionado con la rugosidad y la granulometría interna de las partículas y, en células muy pequeñas, también con su tamaño.

Las longitudes de onda de los láseres y de los detectores pueden variar levemente entre distintos modelos de citómetros de flujo.

Para esta técnica se requieren los siguientes materiales:

- Crioviales
- Caja para guardar crioviales a -80°C (criobox)
- Nitrógeno líquido
- Fijadores (ver más abajo las distintas opciones de fijación)
- Freezer -80°C
- Pipeta y tips (P1000, P200, P20)
- Rotulador

La metodología estandarizada se divide en los siguientes pasos principales:

Toma de muestras

- Rotular los crioviales de 4,5 mL (*) de capacidad indicando: sitio, fecha y fijador utilizado.
- Agregar 400 μL del fijador (*).
- Agregar 4 mL de muestra (*).
- Dejar 10 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente.
- Sumergir en N₂-líquido hasta que se congele, mínimo 15 min.
- Almacenar los crioviales en crioboxes a -80°C hasta su análisis.

(*) Pueden utilizarse crioviales de 2 mL de capacidad. En ese caso se fija 1,8 mL de muestra con 180 μL de fijador (siempre manteniendo una relación fijador:muestra de 1:10).

Recomendaciones para la correcta preservación de las muestras

- Fijar la muestra lo más rápido posible tratando de evitar que el fijador P+G permanezca descongelado y a temperatura ambiente el menor tiempo posible.
- Idealmente, llevar el tanque de N₂-líquido al sitio de muestreo y fijar la muestra *in situ*.
- De no ser posible esta opción, entonces coleccionar la muestra y transportarla en oscuridad y frío (4°C) hasta el laboratorio y fijarla lo más rápido posible.

- En el caso de que el traslado de la muestra requiera cierto tiempo antes de su fijación, se sugiere filtrar la muestra a través de una red de zooplancton.
- El congelamiento es una parte clave para la preservación de la muestra. Lo importante es que el congelamiento de la muestra fijada sea lo más rápido posible y a la temperatura más baja posible, de ahí la necesidad de contar con N₂-líquido. De no poseer N₂-líquido, entonces congelar directamente a -80°C. La congelación directa a -20°C es una opción de último recurso, y no garantiza la correcta preservación de la muestra.
- La muestra no debe descongelarse hasta que se vaya a analizar. Si se transportan muestras ya fijadas deben transportarse siempre congeladas.

Fijadores

Para fijar la muestra pueden usarse diferentes tipos de fijadores. Los más comunes y recomendados son el P+G (paraformaldehído + glutaraldehído) y el formol tamponado. El GlyTE (glicerol + buffer TE) suele dar muy buen resultado sin embargo no es un fijador sino un criopreservante. El glutaraldehído (1% concentración final) también puede utilizarse ocasionalmente. Si bien en algunos sitios funciona adecuadamente, en general suele aumentar el ruido de la muestra y no siempre permite observar las poblaciones citométricas de manera correcta.

P+G (1% paraformaldehído + 0,05 % glutaraldehído final)

Preparación de 1 L de P+G:

- Trabajar bajo campana de extracción.
- Calentar 800 mL de PBS 1X a 60°C y mantener a esa temperatura con agitador magnético.
- Agregar 100 g de paraformaldehído (Sigma P6148).
- Agregar lentejas de NaOH de a una y seguir agitando hasta que la solución se clarifique (debería tardar entre 1-5 min).
- Sacar del calor.
- Agregar 20 mL de glutaraldehído 25%.
- Ajustar a pH 7,2 con HCl.
- Llevar a 1 L con PBS 1X.
- Filtrar a través de filtro de policarbonato de 0,2 µm.
- Alicuotar 400 µL en cada criovial de 4,5 mL.
- Congelar las alícuotas con N₂-líquido o a -80°C.
- Almacenar en freezer a -20°C.

- Una vez descongelado debe guardarse a 4°C (no volver a congelar) y usarse dentro de la semana o descartarse.

GlyTE (glicerol + buffer TE)

- Preparar 100 mL de solución EDTA 0,5 M.
Agregar 18,6 g de EDTA a 80 mL agua MQ.
Mientras se mezcla con el agitador magnético, ajustar a pH 8 agregando lentamente NaOH.
Agregar MQ hasta un volumen final de 100 mL.
Filtrar a través de un filtro de 0,22 µm de poro.
- Preparar TE 100X (Tris 1 M; EDTA 100 mM).
Mezclar 12,1 g de TRIS con 20 mL de EDTA 0,5 M.
Añadir agua MQ hasta 80 mL.
Mientras se mezcla con el agitador magnético, ajustar a pH 8 agregando lentamente HCl (37%).
Agregar agua MQ hasta un volumen final de 100 mL.
Filtrar a través de un filtro de 0,2 µm de poro.
- Preparación de stock de GlyTE
Mezclar lo siguiente:
20 mL TE 100X pH 8
60 mL de agua MQ
100 mL de glicerol de grado molecular (usar jeringa)
- Filtrar el stock de GlyTE a través de un filtro de jeringa de 0,2 µm y almacenar refrigerado (4°C).
Volver a filtrar antes de usar.
- Autoclavar las soluciones de EDTA 0,5 M y TE 100X restantes y reservar refrigerado para la próxima preparación de GlyTE.

Formol tamponado

- Diluir ~1 cucharada sopera de bórax en 1 L de formol 37%.
- Diluir al 10% con agua MQ.
- Filtrar a través de un filtro de 0,2 µm de poro
- Almacenar a temperatura ambiente.
- Volver a filtrar cada vez antes de usar.

Glutaraldehído

- Preparar una solución de glutaraldehído 10% diluyendo con agua MQ.
- Filtrar a través de un filtro de 0,2 µm de poro.
- Almacenar refrigerado (4°C).

Procesamiento de las muestras

Dado que existe una variedad grande de citómetros de flujo de distintas marcas y con diferentes características, no es posible estandarizar los *settings* para todos los equipos, aunque sí se pueden establecer algunos criterios de análisis (Gasol y Morán, 2015):

- El threshold debe ser colocado siempre en la fluorescencia "FL1 o FITC" para las tin-

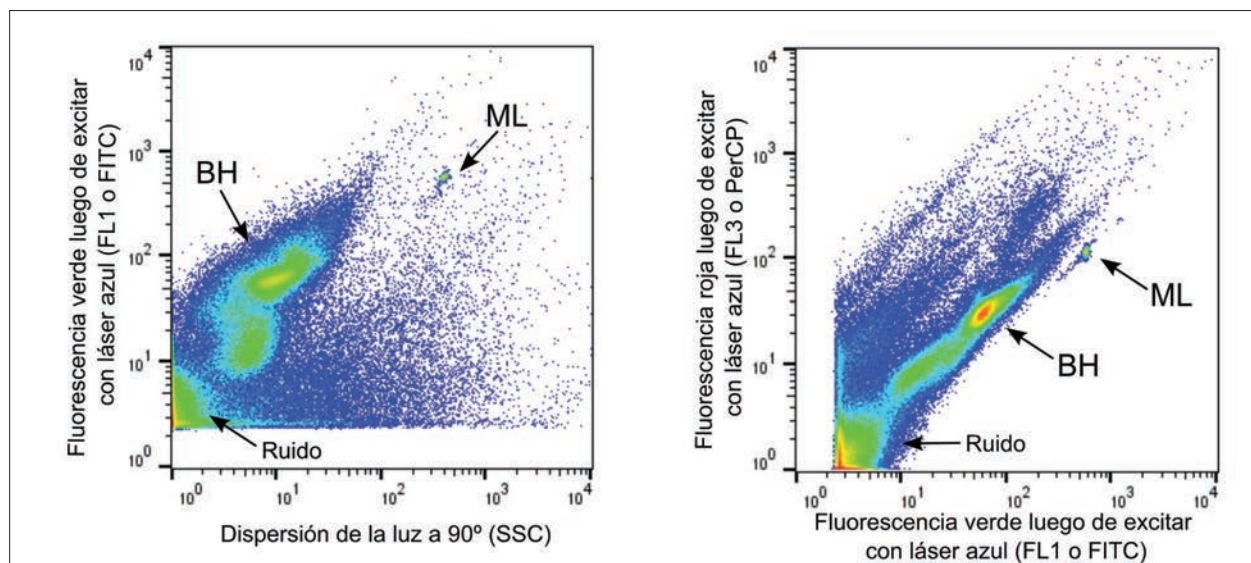


Fig. 4. Identificación de bacterias heterótrofas (BH) en los citogramas. ML: microesferas de látex.

ciones con *SybrGreen I* y "FL3 o PerCP" para recuentos de algas.

- Es muy útil agregar en la muestra *beads* o microesferas de látex (Yellow-green fluorescent latex beads 1 μ m, FluoSpheres Invitrogen) como estándar de tamaño y fluorescencia.

Tanto el preparado de las muestras como el análisis dependerá de los organismos a analizar.

Bacterias heterótrofas

- Colocar 400 μ L de muestra en el tubo para citometría.
- Agregar 4 μ L de la solución de trabajo *SybrGreen I* 100X (1X concentración final).
- Incubar a temperatura ambiente y en oscuridad durante 10 min.
- Agregar 2 μ L de una solución de *beads* de aprox. 10^6 *beads*/mL. Utilizar una solución de *beads* más concentrada para muestras donde la concentración de células es más elevada. Sin embargo, se debe tener en cuenta que las *beads* nunca deben representar más del 10% de las células de interés.
- Las bacterias se analizan típicamente en dos bi-plots: FL1-SSC y FL3-FL1 (Gasol y del Giorgio 2000; Gasol y Morán, 2015) (Figura 4).

SybrGreen I 100X

- Diluir 1:100 el stock comercial de *SybrGreen I* (10.000X) en DMSO.
- Dividir en alícuotas de volúmenes pequeños (e.g. 100 μ L)
- Almacenar en freezer -20°C.
- Cuando se vaya a usar, descongelar una alícuota, utilizarla y volver a congelarla teniendo la precaución de no exponer el colorante a la luz.

Picofitoplancton

- Colocar 500 μ L de muestra en el tubo para citometría.
- Agregar 2 μ L de una solución de *beads* de aprox. 10^6 *beads*/mL. Utilizar una solución de *beads* más concentrada para muestras donde la concentración de células es más elevada.
- Las muestras se analizan sin teñir usando típicamente bi-plots: FL3-SSC, FL3-FL2 y FL3-FL4 (Gasol y Morán, 2015; Schiaffino et al. 2013). Los últimos dependen de si las picocianobacterias presentes en las muestras son ricas en ficoeritrina (FL2) o en ficocianina (FL4) (Figura 5).

Nanofitoplancton

- Se utiliza la misma muestra y los mismos gráficos que para el picoplancton pero modificando los *settings* (i.e. bajando el voltaje) de modo de ubicar los picoeucariotas abajo a la izquierda en el plot FL3-SSC, de forma que se visualice mejor toda la población de nanofitoplancton situada más arriba y a la derecha (Gasol y Morán, 2015; Schiaffino et al. 2013) (Figura 6).

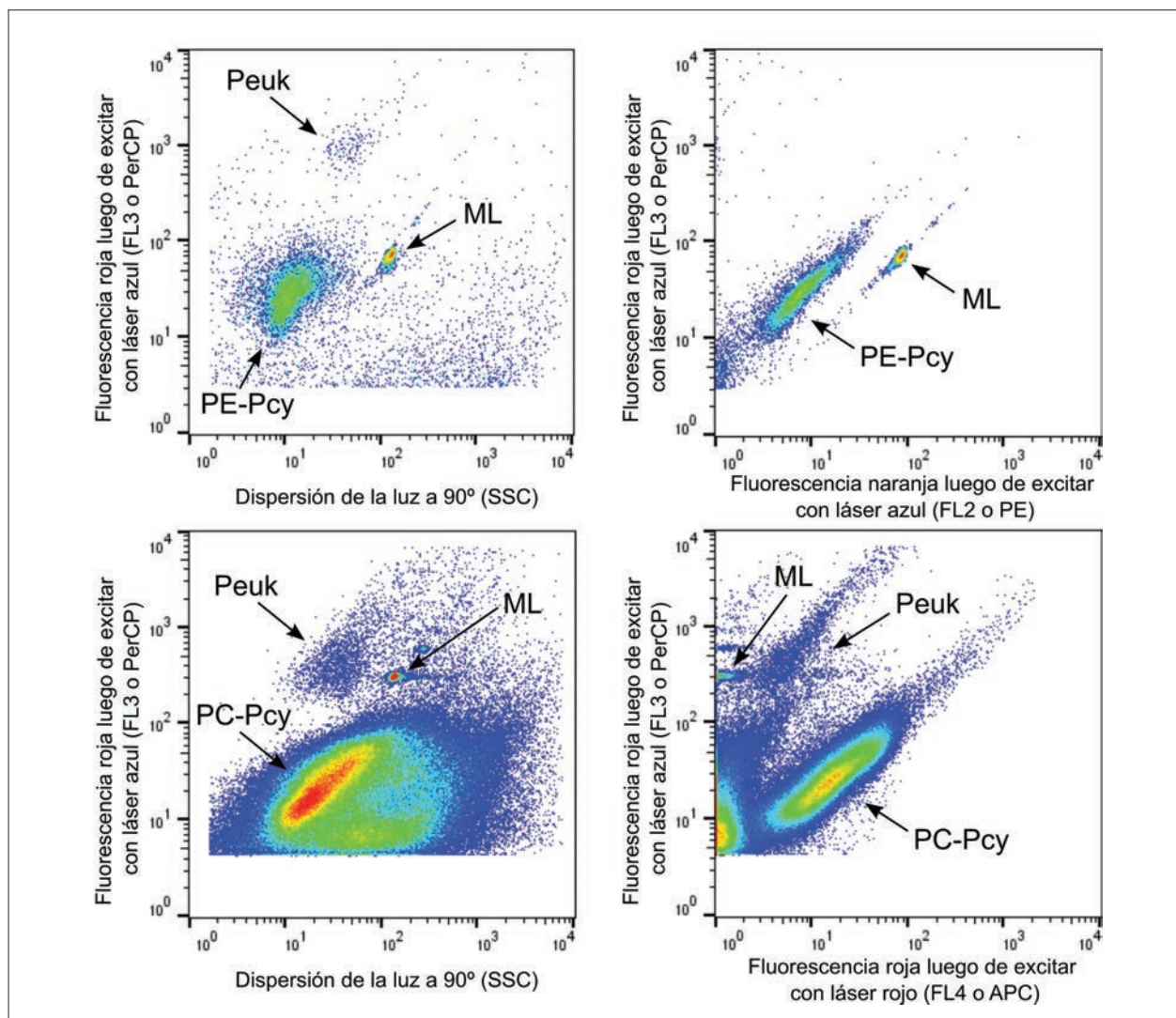


Fig. 5. Identificación de picocianobacterias ricas en ficoeritrina (PE-Pcy) o ficocianina (PC-Pcy) y picoeucariotas (Peuk) en los citogramas. ML: microesferas de látex.

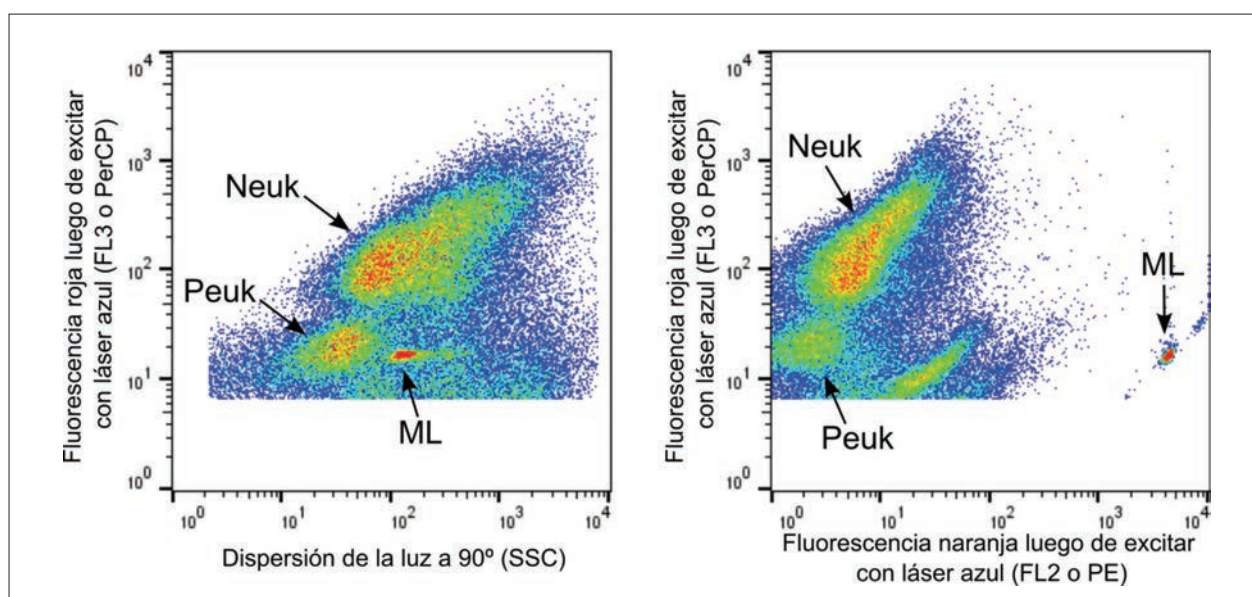


Fig. 6. Identificación de algas picoeucariotas (Peuk) y nanoeucariotas (Neuk) en los citogramas. ML: microesferas de látex.

Bibliografía

Callieri, C. 2007. Picophytoplankton in freshwater ecosystems: The importance of small-sized phototrophs. *Freshwater Reviews*, 1(1), 1–28. <https://doi.org/10.1608/frj-1.1.1>

Díez, B., C. Pedrós-Alió, R. Massana. 2001. Study of genetic diversity of eukaryotic picoplankton in different oceanic regions by small-subunit rRNA gene cloning and sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7), 2932–2941. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.2932-2941.2001>

del Giorgio, P., C. Duarte. 2002. Respiration in the open ocean. *Nature*, 420,379–384.

Duarte C. M. y Cebrián, J. 1996. The fate of marine autotrophic production. *Limnology and Oceanography*, 41(8), 1758–1766

Falkowski, P. G. 2002. The ocean's invisible forest. *Scientific American*, 287(2), 54–61. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0802-54>

Field, C. B., M. J. Behrenfeld, J. T. Randerson, P. Falkowski. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281(5374), 237–240. <https://doi.org/10.1126/science.281.5374.237>

Gasol, J.M., P.A. del Giorgio. 2000. Using flow cytometry for counting natural planktonic bacteria and understanding the structure of planktonic bacterial communities. *Scientia Marina*, 64(2), 197–224.

Gasol, J.M., X. A. G. Morán. 2015. Flow cytometric determination of microbial abundances and its use to obtain indices of community structure and relative activity. En: McGenity, T., K. Timmis, B. Nogaes. (Eds.) *Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols*. (pp. 159–187). Springer. https://doi.org/10.1007/8623_2015_139

Metz, S., D. Singer, I. Domaizon, F. Unrein, E. Lara. 2019. Global distribution of Trebouxiophyceae diversity explored by high-throughput sequencing and phylogenetic approaches. *Environmental Microbiology*, 21(10), 3885–3895. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14738>

Not, F., M. Latasa, D. Marie, T., Cariou, D. Vault, N. Simon. 2004. A single species, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the Western English Channel. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7), 4064–4072. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.7.4064-4072.2004>

Padisák, J., L. Krienitz, R., Koschel, J. Nedoma. 1997. Deep-layer autotrophic picoplankton maximum in the oligotrophic Lake Stechlin, Germany: Origin, activity, development and erosion. *European Journal of Phycology*, 32(4), 403–416. <https://doi.org/10.1080/09670269710001737349>

Porter, K. G., Y.S. Feig. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*, 25(5), 943–948. <http://dx.doi.org/10.4319/lo.1980.25.5.0943>

Raven, J. A. 1998. The twelfth Tansley Lecture. Small is beautiful: The picophytoplankton. *Functional Ecology*, 12 (4), 503–513. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1998.00233.x>

Schiaffino, M. R., J. M. Gasol, I. Izaguirre, F. Unrein. 2013. Picoplankton abundance and cytometric group diversity along a trophic and latitudinal lake gradient. *Aquatic Microbial Ecology*, 68(3), 231–250. <https://doi.org/10.3354/ame01612>

Sieburth, J. M., V. Smetacek, J. Lenz. 1978. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography*, 23 (6), 1256–1263.

Stockner, J. G., N. J. Antia. 1986. Algal picoplankton from marine and freshwater ecosystems: a multidisciplinary perspective. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43(12), 2472–2503. <https://doi.org/10.1139/f86-307>

CAPÍTULO 8

Métodos de muestreo y estudio de las comunidades bentónicas

Daniel Cataldo

Se denomina bentos al conjunto de organismos que habitan el fondo de los cuerpos de agua tanto en ecosistemas de agua dulce como marinos. Por ser estos hábitats muy diversos y heterogéneos la fauna bentónica cuenta con una notable variedad de estrategias de forma de vida que incluyen organismos nadadores, reptadores, enterradores (que viven enterrados) o que habitan anclados en el fondo del sustrato.

Las comunidades bentónicas son una parte muy importante de la cadena alimentaria y proporcionan servicios ecosistémicos esenciales como el reciclado de nutrientes, el mantenimiento del flujo de energía y la aireación de sedimentos (van de Bund et al. 1994, Wallace y Webster 1996). Los organismos filtradores, como por ejemplo almejas y mejillones, desempeñan un papel esencial en la conservación de la salud de los ecosistemas debido a que retienen las partículas suspendidas en la columna del agua disminuyendo desechos o contaminantes como parte de su proceso de alimentación. Mientras que otros organismos se alimentan de materia orgánica muerta, descomponiéndola y reciclándola (Covich 1988, Hutchinson 1993, Wallace y Webster 1996). Esto los hacen un componente esencial en el reciclado de nutrientes y la devolución de nutrientes al medio ambiente en formas utilizables para los productores primarios como las algas y las macrófitas.

Las diferentes especies comprenden distintos grupos funcionales que proporcionan integridad ecológica a los ecosistemas acuáticos. En algunos casos, estos grupos funcionales pueden estar representados solo unas pocas especies, por lo que cualquier pérdida de diversidad podría ser perjudicial para el funcionamiento del ecosistema. Por lo tanto, es cada vez más importante proteger la biodiversidad de las comunidades bentónicas para reducir el riesgo de consecuencias inesperadas y no deseadas. (Covich et al 1999).

Clasificación por tipo de organismos

Existen varias formas de aproximarse al estudio del bentos, de la misma manera que son muy diversas las formas de proceder para su clasificación. Una de las más comunes, debido que es la forma más simple y cómoda de clasificarlo durante las colectas en el campo es referirse al tamaño y a la posición que ocupan los organismos en el sustrato (Figura 1).

1. Clasificación por clase de tamaño

Microbentos: Comprende a los organismos bentónicos microscópicos, de un tamaño inferior a 0.1 mm., como las amebas, las bacterias, hongos y las diatomeas.

Meiobentos: Organismos que viven asociados en el lecho de los cuerpos de agua de tamaño inferior a 1 mm pero mayor de 0.1 mm., como los tardígrados, copépodos, nematodos, hirudíneos, anfípodos, isópodos y ostrácodos, entre otros.

Macrobentos: > 1 mm. Son organismos más grandes, que se pueden ver a simple vista. Aunque existen excepciones y no resulta tan simple de clasificar por lo general no superan los 3 cm. Estos son los bivalvos, los gusanos poliquetos, los crustáceos, y larvas de insectos (Lepidoptera, Diptera, Chironomidae y Ceratopogonidae, Coleoptera Hydrophilidae, ninfas de Odonata y Ephemeroptera).

Megabentos: este ítem corresponde a organismos de tamaños superiores a 3 centímetros, entre los que se encuentran cangrejos, peces bentónicos como rayas y viejas del agua, y grandes moluscos bivalvos. Sin embargo, algunos estudios de fauna bentónica engloban a los bivalvos en la categoría de organismos macrobentónicos.

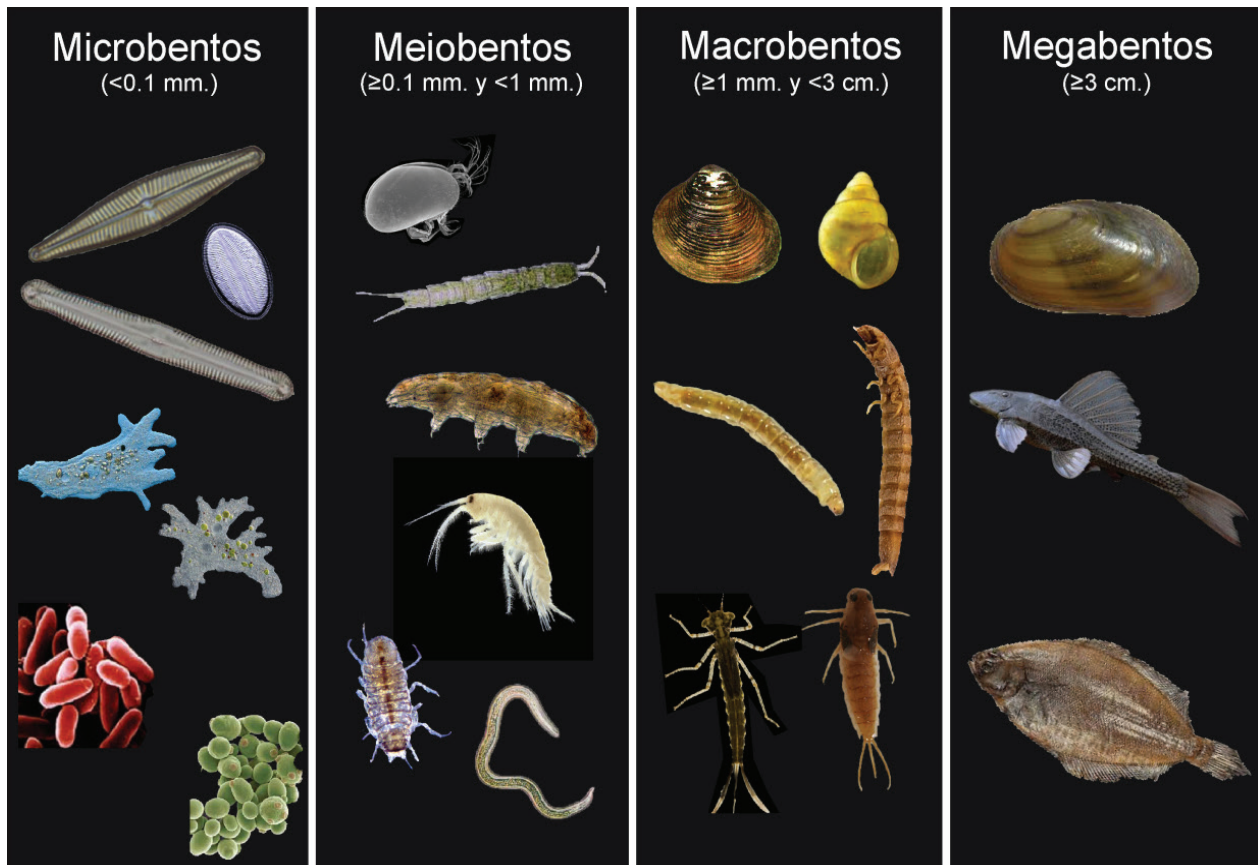


Fig. 1. Clasificación de los organismos bentónicos por clase de tamaño

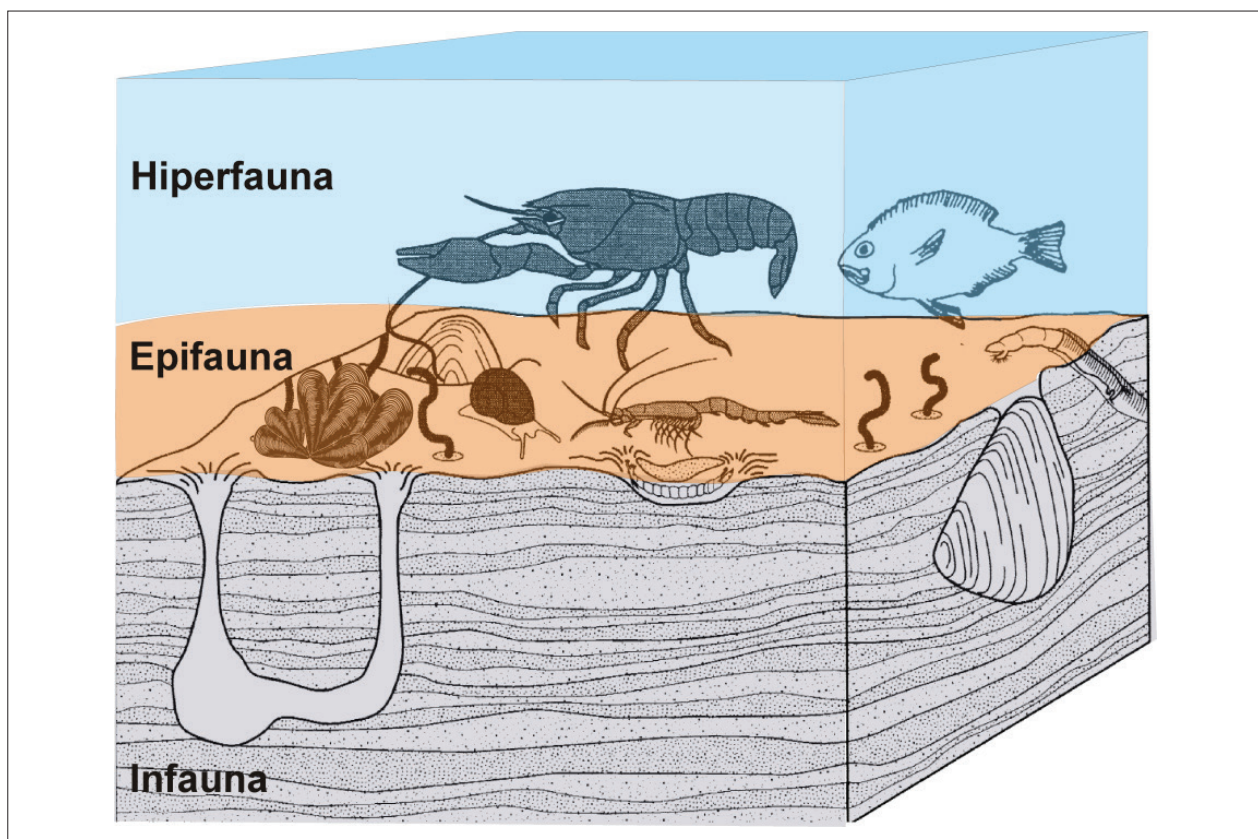


Fig. 2. Posición de los organismos bentónicos en el sustrato (Modificado de Covich et al., 1999)

2. Clasificación según la posición en el sustrato

Desde otro punto de vista y debido a que ocupan todas las áreas en el fondo de los cuerpos de agua, las comunidades bentónicas pueden ser clasificadas en relación a la posición que ocupan en el sustrato (Figura 2). Esta clasificación comprende tres grandes grupos.

Infauna: Es el conjunto de organismos que se han adaptado para vivir dentro de los sedimentos, pudiendo crear, en algunos casos, túneles subterráneos. Ejemplos de organismos infaunales son los moluscos bivalvos como las almejas. A los organismos con este hábito de vida también se los denomina con el nombre de Endobentos.

Epifauna: La constituyen principalmente animales (zoobentos) que viven sobre el fondo de los cuerpos de agua, pudiéndose distinguir entre organismos sésiles o sedentarios que viven fijos al sustrato y organismos vágiles o errantes que lo hacen desplazándose sobre él.

Hiperfauna: Estos son los organismos que tienen la capacidad de nadar y vivir cerca del fondo, pero no están adheridos a él. Los lenguados y muchas especies de siluriformes denominados vulgarmente como viejas de agua y bagres son peces hiperbentónicos característicos de cuerpo de agua lénticos.

Muestreo de las comunidades bentónicas

Para la planificación correcta de un muestreo es fundamental definir previamente el objetivo del estudio y plantear de la manera más clara y concisa posible la o las pregunta o hipótesis a responder. Es a partir de estas que se definirán los recursos hídricos a muestrear, la ubicación de los puntos de recolección, los períodos y frecuencia de muestreo, y el tipo de muestreo a realizar. En ese diseño del muestreo resulta conveniente definir sitios de referencia, es decir, ambientes con características físicas, químicas y biológicas similares acordes al objeto de estudio. Para la ubicación inicial de los puntos de colecta, se pueden utilizar distintas herramientas como mapas, cartas batimétricas, imágenes satelitales y realizar una exhaustiva revisión bibliográfica de los estudios previos llevados a cabo en el área de interés. En todos los casos, un reconocimiento del sitio antes del trabajo de recolección resulta de gran utilidad.

Métodos de Muestreo

Los equipos y los métodos de muestreo que analizaremos son los que comúnmente se emplean para estudiar y caracterizar las comunidades bentónicas así como también puede ser utilizado para documentar los cambios espaciales y temporales

en la calidad del agua. Los dispositivos y métodos de muestreo pueden ser clasificados como muestreo cualitativo, semicuantitativo y cuantitativo.

Muestreo Cualitativo

Los muestreos cualitativos permiten realizar comparaciones dentro o entre sitios con el fin de obtener información sobre la riqueza y la abundancia relativa de taxones y/o especies presentes en los sedimentos. Las muestras se obtienen con el uso de una amplia variedad de métodos y artes de recolección, muchos de los cuales no son susceptibles de cuantificación por unidad de área o volumen. Una gran variedad de dispositivos (por ejemplo, dragas, muestradores de núcleo, rastras, trineos etc.) pueden ser utilizados para recolecciones cualitativas de fauna bentónica. El uso de varios métodos de recolección en cada sitio puede aumentar el número total de taxones afectados. Las principales ventajas de este tipo de muestreo consisten en la amplia gama de instrumentos de muestreos y los tipos de hábitats que se pueden muestrear son relativamente irrestrictos y el procesamiento de las muestras suele llevar menos tiempo.

Sin embargo, las principales limitaciones son debidas a que las técnicas de recolección son subjetivas ya que dependen de la habilidad y experiencia del operario, y los resultados del muestreo de un investigador pueden ser difíciles de comparar con los de otro.

Muestreo semicuantitativo

En este tipo de muestreo las muestras se pueden obtener con la misma variedad de dispositivos que los muestreos cualitativos. La diferencia consiste en que en los muestreos semicuantitativos los datos se expresan en base a las colectas de organismos por nivel de esfuerzo (por ejemplo, capturas por unidad de esfuerzo, o tiempo invertido por hábitat) o cuando se utilizan dispositivos de muestreo cuantitativo para recolectar muestras de una manera no aleatoria. Algunos ejemplos de algunos métodos semicuantitativos incluyen el método de las 10 rocas (Klem et al., 1990), el método de muestreo itinerante propuesto por Hornig y Pollard (1978); Pollard, 1981) y los protocolos de bioevaluación rápida propuestos por Plafkin y colaboradores (1989). Los muestreos cualitativos y semicuantitativos tienen la ventaja de permitir un análisis más rápido y por lo tanto permite el diagnóstico de un mayor número de sitios a menor costo, pero ambos tipos de muestreos no permiten estudios cuantitativos de abundancia y biomasa.

Muestreo cuantitativo

Los métodos cuantitativos permiten una estimación del número o biomasa de los diversos

componentes de la comunidad bentónica por unidad de área, volumen o unidad de muestreo. Las estimaciones cuantitativas se obtienen utilizando dispositivos que muestrean una unidad de área o volumen del hábitat. Las consideraciones principales son el tamaño de las unidades de muestreo, el número de unidades de muestreo en cada muestra y la ubicación de las unidades de muestreo en el área de muestreo.

El proceso básico en el muestreo cuantitativo es empujar un recipiente (caja o tubo) en el sedimento y cerrarlo de manera de mantener la muestra adentro mientras se eleva a la superficie. Alternativamente también se pueden utilizar para este tipo de muestreo, marcos, rastras, trineos etc.

Como regla general, cuanto menor es el área de superficie del sustrato abarcada por un dispositivo de muestreo, mayor es el número de unidades de muestreo necesarias para obtener el nivel deseado de precisión (Elliott, 1971). El número total de muestras dependerá del grado de precisión requerido, y de los objetivos del estudio.

En general, los siguientes requisitos son necesarios para la realización eficaz de un muestreo cuantitativo. Cualquier desvío representa una limitación que debe tenerse en cuenta al evaluar el material. El o los dispositivos que se utilicen para la realización de muestreos deberán cumplir las siguientes condiciones:

- tener un volumen o peso que permita una operación segura tanto desde una embarcación o desde la costa.
- orientarse correctamente sobre el fondo para la colecta de las muestras.
- penetrar al menos hasta 20 cm en sedimentos lacustres ordinarios. Esta profundidad variará con el tipo de sedimento, según la profundidad en la que vivan los animales, pero debería ser suficiente para incluir al menos el 90% de la población. Por otro lado, el muestreador no debe hundirse tanto que el sedimento se derrame por la parte superior.
- La profundidad muestreada debe ser al menos bastante uniforme en toda el área muestreada. Esta es la falla común de los muestreadores cerrados por mandíbulas
- El área de la muestra debe ser determinable. Esto no es un problema con los tipos de núcleos o cajas, pero es un problema con aquellos dispositivos del tipo pinzas articuladas; por ejemplo, *draga Petersen*.
- No debe haber onda de presión para desplazar los sedimentos superficiales más blandos u organismos durante la aproximación al fondo.

- La muestra no debe estar sujeta a lavado en el camino hacia arriba. Estos requisitos se cumplen más o menos en una variedad de formas, la draga Ekman, o sus modificaciones, ha sido quizás el muestreador más conocido y utilizado para sedimentos blandos.

Equipos y dispositivos de muestreo

La elección de un dispositivo de muestreo debe ser necesariamente un compromiso basado en los requisitos de la investigación, las condiciones de trabajo y la disponibilidad de equipo adecuado. La elección a menudo puede estar restringida por el peso de los equipos. A diferencia de los estudios en cuerpos de agua profundos, tanto marinos como continentales, en donde se utilizan equipos pesados operados desde grande buques de investigación provistos de aparejos de elevación adecuados (Eleftheriou y McIntyre, 2005), los muestreos en cuerpos de agua someros se realizan con equipos más livianos que puedan ser operados desde la costa o desde botes o pequeñas embarcaciones a motor dependiendo de la superficie del cuerpo de agua bajo estudio.

Se han desarrollado varios tipos de equipos para resolver los problemas de muestreo de los muy diferentes tipos de material del fondo de los cuerpos de agua, todos basados en relativamente pocos principios (Edmondson, 1971). Cualquier muestreador dado puede ser utilizable en más de un tipo de sustrato, y un tipo dado de sustrato puede ser accesible para más de un tipo de muestreador. El objetivo de esta sección no es cubrir todo el campo ni ofrecer una revisión histórica de los equipos de muestreo, sino que es proporcionar las diferentes alternativas que son utilizados frecuentemente en distintos tipos de hábitat. Entre la gran variedad y alternativas de los dispositivos nos centraremos en especial en aquellos equipos más útiles para nuestro propósito que se pueden adquirir comercialmente en la actualidad.

Los muestreadores bentónicos pueden agruparse en las siguientes categorías:

Pinzas articuladas.

Muestreadores de Cajas.

Muestreadores de núcleos o tubos (*Coring Samplers*).

Dispositivos de arrastre de fondo.

Pinzas articuladas

Para más detalles de diseño y funcionamiento de los dispositivos de muestreo se puede consultar los siguientes trabajos listados en la sección de referencias: Edmondson y Winberg (1971), Holme y McIntyre (1971), Brinkhurst (1974), Elliott y Drake (1981), y Downing (1984) Welch 1948; Holme 1966; Petersen 1908.

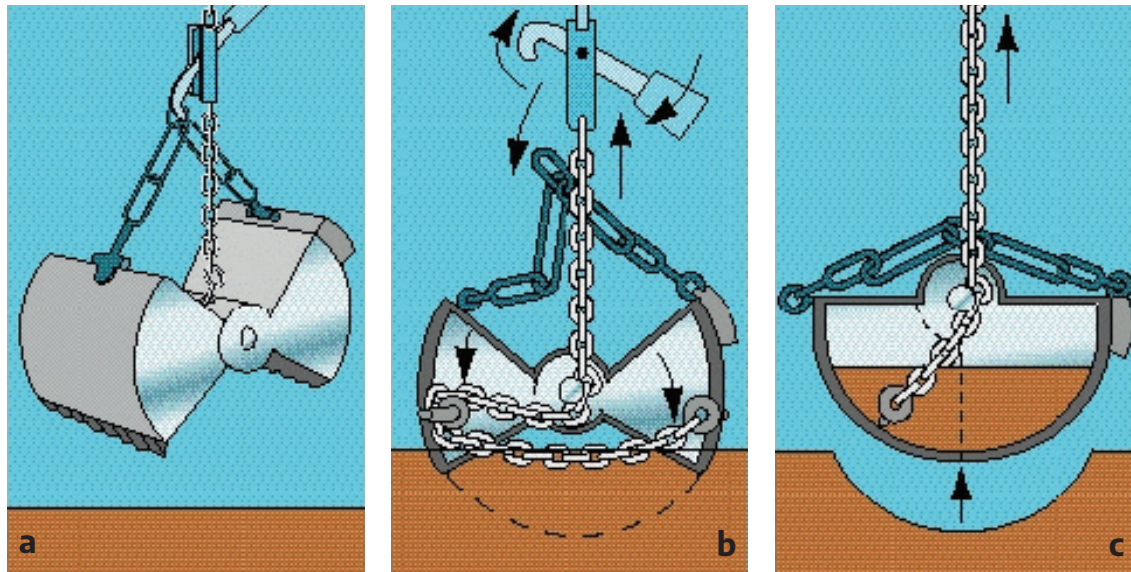


Fig. 3. Desempeño de las dragas Petersen y Van Veen durante la colecta. Descenso de la draga en posición abierta (A). Al llegar al sustrato se activa el dispositivo de cierre (B). Recuperación, los dos cubos se unen y encierran una sección semicircular de los sedimentos (C).

Dragas Petersen y Van Veen

Este tipo de draga consiste en dos cubos articulados entre sí, mediante una bisagra, en forma de pinza que se bajan en la posición abierta hasta los sedimentos. Al tomar contacto con el fondo se activa el mecanismo de liberación. Tras la recuperación, los dos cubos se unen y encierran una sección semicircular de los sedimentos (Figura 3). La ventaja de este tipo dispositivo de muestreo es su penetración efectiva en los sedimentos moderadamente blandos, como arena, debido a su construcción pesada. El área comúnmente muestreada es algo mayor que $1/20$ de m^2 . Al igual que con cualquier dispositivo con mandíbula, las piedras, valvas de moluscos y objetos similares pueden evitar el cierre y provocar pérdidas por lavado durante la recuperación. La desventaja más severa de este muestreador es que su diseño cerrado o semicerrado crea ondas de presión que perturban los sedimentos y la fauna bentónica a medida que la muestra se acerca a los sedimentos. Debido a su diseño que recoge una parte semicircular del sedimento del fondo, el desempeño para muestreos cuantitativos es cuestionable. Muchos estudios han demostrado que la abundancia y biomasa de organismos colectados con la draga Petersen son mucho más pequeños que los de otros tipos de muestreadores (Holme 1964). Otra de las limitaciones es debido a su peso, ya que requiere un bote con cabrestante para su utilización.

Un dispositivo, conocido como Ponar, se desarrolló como una versión mejorada de la draga Petersen, entre las principales ventajas se incluye que las partes superiores estén cubiertas con una

pantalla para reducir las ondas de presión (Powers y Robertson, 1967).

Draga Ponar

La draga Ponar consta de dos mandíbulas accionadas por sendos brazos unidos en su parte superior por un grillete que permite abrir y cerrar la draga. Durante el descenso, la draga permanece abierta. Al tomar contacto con el fondo se libera el mecanismo de bloqueo y al tirar de la línea principal para recuperar la draga, las mandíbulas se cierran permitiendo la toma de la muestra. La parte superior de las mandíbulas constan de dos ventanas cubiertas por una malla de acero inoxidable que permiten el flujo de agua cuando la draga desciende, para disminuir el efecto de las ondas de choque al llegar al fondo del cuerpo de agua. Los brazos tienen 2 pesos que permiten que la draga penetre fácilmente en el sedimento (es posible añadir pesos adicionales) (Figura 4). Construida en acero inoxidable o latón presenta dos versiones. La Ponar clásica que debido a su peso (23 - 25 kg) requiere por lo general el uso de un bote con cabrestante y la Petite Ponar (9 kg) que puede ser utilizada desde la costa o desde un bote por un solo operador.

La draga Ponar está diseñada para colectar muestras cuantitativas y cualitativas de sedimentos de agua dulce y salada de fondos duros como arena, grava, lodos o arcillas consolidadas. Pero es menos eficiente en sedimentos blandos como arcillas.

Es considerado uno de los mejores muestreadores de macroinvertebrados bentónicos y otros organismos sésiles en fondos duros (Klemm et al.,



Fig. 4. Draga Ponar. En posición abierta durante el descenso (A), en posición cerrada, luego de coleccionar el material (B)

1990), sin embargo, no es del todo adecuado para la captura de organismos de excavación profunda en sedimentos blandos. Como todas las dragas, las mandíbulas pueden quedar bloqueadas por piedras, palos y otros objetos duros provocando la pérdida de parte de la muestra.

Muestreadores de Cajas

Draga tipo Ekman

La draga Ekman consiste en una caja cuadrada (entre 15,2 x 15,2 y 25 x 25 cm; peso 3-6 kg), generalmente construida en latón o acero inoxidable. La parte inferior del dispositivo consta de un par de mordazas (también denominadas mandíbulas), que se oponen entre sí, accionadas por resorte que se cierran herméticamente cuando se sueltan para encerrar un área específica de los sedimentos. La parte superior de la caja está cubierta por dos tapas delgadas, con bisagras y superpuestas que se abren cuando la draga desciende por el agua, pero que se cierran y se mantienen cerradas por la presión del agua mientras la draga se eleva a la superficie evitando el lavado de la muestra. El equipo se completa con una cuerda unida al dispositivo para permitir su descenso y un mensajero que se desliza por la cuerda y acciona el mecanismo de cierre bajo el agua (Figura 5.A).

Durante la operación, se debe separar por completo las mandíbulas para dejar abierta la parte inferior de la caja. Las mandíbulas se fijan mediante cables de acero al mecanismo de disparo situado en la parte superior del dispositivo. Precaución: el cierre accidental puede causar lesiones; mantenga las manos alejadas. Luego, el muestreador se baja al agua hasta que descansa sobre los sedimentos.

Por lo general, su propio peso es adecuado para penetrar en los sedimentos blandos en toda o la mayor parte de su altura. Luego, el mensajero es enviado por la cuerda para cerrar las mandíbulas. Si el muestreador ha funcionado correctamente, se puede sacar a la superficie sin partículas de material o alteraciones en su interior. Al llegar a la superficie, se coloca un recipiente debajo del muestreador y la muestra se obtiene simplemente tirando hacia arriba los cables de acero que accionan las mordazas. Si las mordazas no se cerraron por completo, la muestra debe desecharse.

Para muestreos en aguas someras (< 2 m. de profundidad) es posible sustituir el uso del mensajero que acciona las mandíbulas por una barra de extensión. Esta barra se une con la parte superior de la draga, y en su extremo opuesto dispone de un gatillo que acciona el sistema de cierre manualmente. La barra de extensión permite controlar la profundidad de penetración, evitando en sedimentos muy blandos que el dispositivo se hunda demasiado en el fondo y pierda parte del contenido por la parte superior, o ejercer una mayor presión de penetración en sedimentos más compactados.

Se ha encontrado que las pinzas Ponar y Ekman toman muestras con eficiencia aceptable en sedimentos blandos hasta un tamaño de partícula de grava fina (Elliott y Drake, 1981). Además del diseño original existen dos variantes que permiten ampliar el desempeño de este dispositivo. La draga Ekman aumentada (o forma alta) y la draga Ekman-lenz.

La draga Ekman aumentada o alta (Figura 5.B), es semejante en todas sus características al modelo

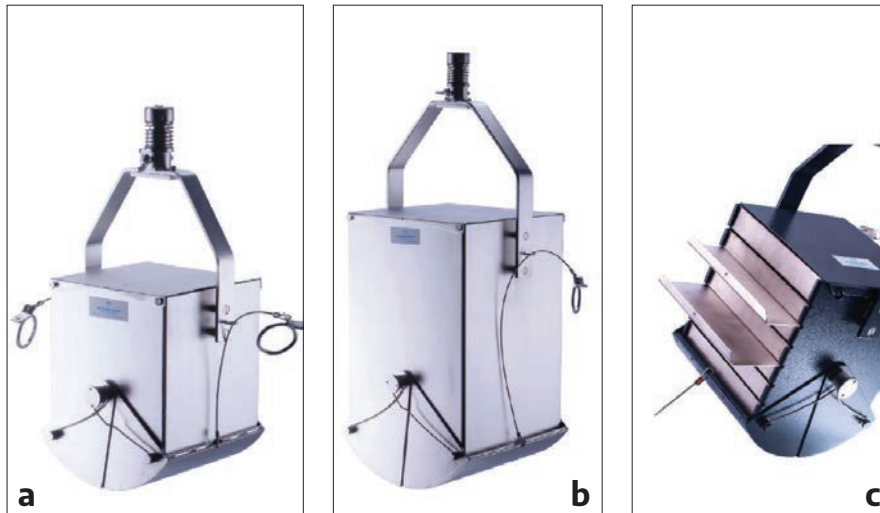


Fig. 5. Draga Ekman estándar u original (A), Ekman aumentada o forma alta (B), y la Draga Ekman-lenz (C)

original, excepto que la parte de la caja es aproximadamente el doble de alta. Esta modificación permite, cuando es accionada por mensajero, evitar que en sedimentos muy blandos se pierda parte del contenido por la parte superior del dispositivo. O mediante el muestreo con la barra de extensión obtener muestras a mayor profundidad del sedimento.

La Draga Ekman-lenz (Figura 5.C) también funciona bajo el mismo principio que la original pero presenta una notable variante ya que permite separar la muestra de sedimento en 5 capas o estratos de 20 mm de espesor mediante láminas divisorias. Este dispositivo permite obtener muestras estratificadas de la composición de la fauna bentónica. Se ha encontrado que la draga Ekman colecta muestras cuantitativas con eficiencia aceptable en sedimentos blandos hasta un tamaño de partícula de grava fina (Elliott y Drake, 1981)

Muestreadores de núcleos o tubos (*Coring Samplers*)

Se ha ideado una gran variedad de muestreadores de tipo núcleo. El elemento esencial de este tipo dispositivo es un tubo que se empuja hacia el sedimento ya sea por caída libre, por fuerza ejercida desde la superficie, o por medio de un sistema de pistón dentro del tubo (Figura 6. A).

En la parte superior del tubo se incluye generalmente una válvula que permanece abierta para permitir el flujo de agua durante el descenso y la penetración del dispositivo en el sedimento, debido a que si se impide la salida de agua, aunque sea levemente, la presión del agua dentro del tubo apartará el sedimento suelto y la epifauna en la interfaz sedimento-agua. Mientras que durante la recuperación del dispositivo esta válvula permanece

cerrada para evitar que los sedimentos se laven. Este tipo de dispositivos permiten el análisis estratificado de muestras tanto cuantitativas como cualitativas (Boltovskoy y Boltovskoy, 1968). Los muestreadores de núcleos pueden utilizarse en aguas poco profundas a medias de hasta 30,5 m (EPA, 1990). Otra de las ventajas consiste en que, se pueden utilizar en una variedad de sustratos hasta tipos más duros; el tubo de muestreo se puede modificar para varios diámetros de hasta 100 cm² de superficie del sustrato, presentan menor perturbación en la interfaz agua / fondo, y se disponen de una amplia variedad de tubos y boquillas.

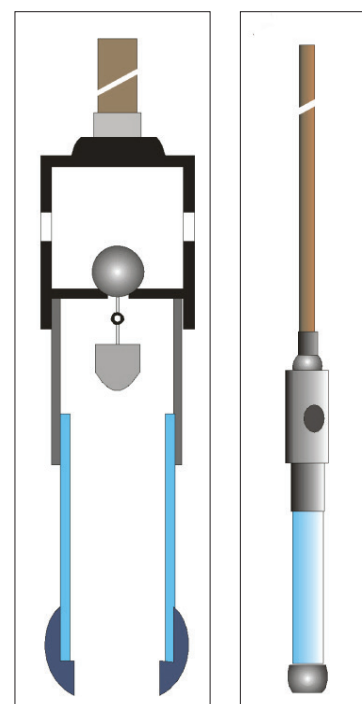


Fig. 6. Tubo de Lankford. Corte transversal (A), Vista exterior (B)

Tubo de Lankford.

El tubo de Lankford es un extractor de sedimentos que puede ser utilizable hasta profundidades de no más de 6 o 7 m (Figura 6. B). Consta de un par de tubos metálicos con una válvula en su interior. Al tubo superior se pueden adicionar la cantidad de mangos prolongadores que hiciera falta para llegar a la profundidad deseada; el inferior se enrosca al tubo de acrílico transparente que recoge la muestra. Una vez armado el extractor, se lo introduce en el sedimento, levantándose luego con cuidado. Apenas se ha sacado el tubo del agua se obtura la abertura inferior del tubo de acrílico con un tapón de goma, luego se desenrosca el tubo de acrílico y se obtura su extremo superior. Una vez rotulado el tubo se debe guardar en posición vertical. En caso necesario se fija su contenido con unos ml de formaldehído, en una cantidad aproximadamente igual al 5-10% del contenido del tubo. Este dispositivo tiene la ventaja, que al ser intercambiables, se pueden utilizar un tubo de acrílico para cada una de las muestras, permitiendo que las muestra lleguen intacta al laboratorio para su procesamiento.

El área relativamente pequeña (de 10 a 50 cm²) de estos dispositivos muestreo es un inconveniente cuando la abundancia de los organismos es escasa, obligando realizar múltiples lances en cada sitio bajo estudio. Una alternativa en estos casos es el empleo de un colector múltiple.

Colector múltiple (*Multiple corer*)

Un colector múltiple, como el ilustrado en la figura 7, es excelente ya que permite tomar varios núcleos simultáneamente. Este dispositivo, está provisto de un mensajero que cae a lo largo de la línea desde la superficie y libera un dispositivo compuesto por medias esferas que sellan los extremos superiores de los tubos (Hamilton et al., 1970).

Además, el colector múltiple presenta las siguientes ventajas sobre la draga de Ekman:

1. Está diseñado para crear una mínima onda de presión.
2. El sedimento de la superficie no se pierde durante la recuperación
3. La varianza dentro de una estación de muestreo se puede determinar ya que se toman cuatro núcleos a la vez en un área muy pequeña.
4. El tiempo de tamizado y clasificación se reduce ya que los cuatro núcleos combinados producen un volumen menor que una muestra simple de Ekman.

Dispositivos de arrastre de fondo

Se han diseñado muchos tipos de dispositivos de arrastre de fondo. Algunos de ellos son poco más que una red de plancton que se desliza sobre el fondo, mientras que los sistemas más sofisticados permiten coleccionar muestras a dos profundidades diferentes. Este tipo de dispositivos al ser arrastrados por el fondo con una embarcación permiten obtener la muestra de una amplia área y permiten obtener muestras cualitativas o cuantitativas de la epifauna e hiperfauna bentónica. Las principales limitaciones que presentan son debidas a: la obstrucción de la abertura por el sedimento o partículas de gran tamaño como rocas, ramas etc., los organismos más delicados pueden sufrir daños a medida que se acumulan en el colector, al filtrado irregular si la malla se obstruye.

Si se necesita una densidad precisa de la macrofauna, las muestras colectadas con núcleos o dragas de caja tipo Eckman serían más precisas. Sin embargo, los dispositivos de arrastre de fondo son útiles para recolectar especies raras y para proporcionar información sobre un área que no está bien estudiada.

Rastras o dragas de arrastre

El extremo anterior de este tipo de dispositivos consiste en un marco metálico (hierro o acero inoxidable) que en su cara inferior está provisto de una placa inclinada y filosa que permite que se introduzca en el sedimento y retenga los organismos

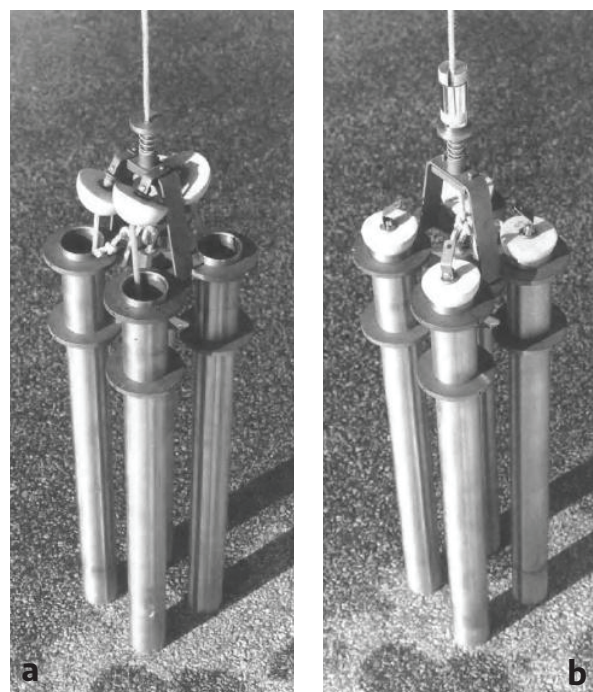


Fig. 7. Colector de tubo múltiple (tomado de Wetzel y Likens, 1990)

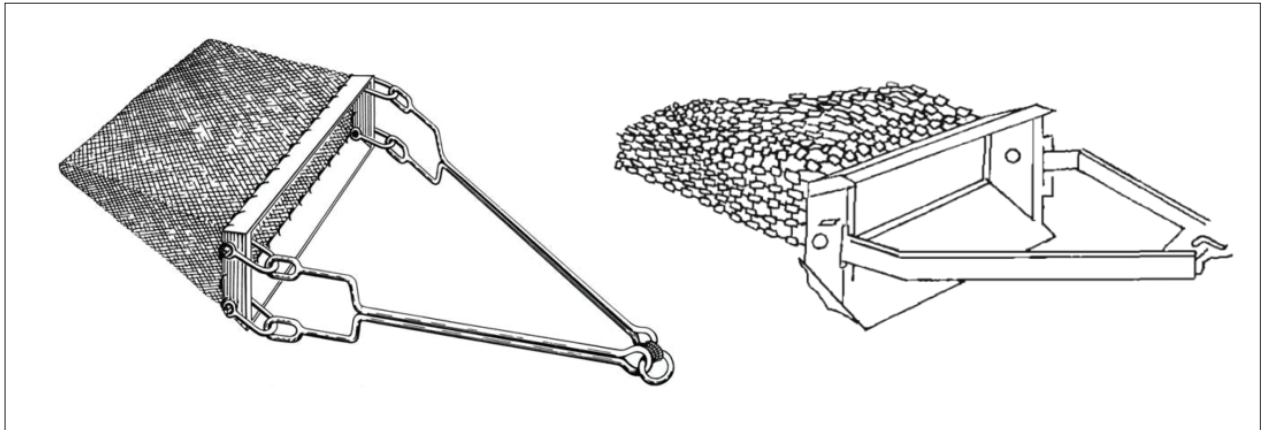


Fig. 8. Diferentes modelos de rastras o dragas de arrastre

que se encuentra tanto en la superficie como ligeramente enterrados. En el extremo posterior puede tener una malla con la abertura deseada, permitiendo que sólo el sedimento fino salga, o bien se puede colocar una bolsa para permitir que se acumule toda la muestra (Figura 8).

La maniobra de muestreo (lance) consiste que al llegar al sitio elegido, la embarcación se debe de detener completamente, descendiendo la draga hasta que toque el fondo, la embarcación navegará entonces en un círculo a la menor velocidad posible (entre uno y tres nudos) dándole al cable de arrastre una longitud igual a tres veces la profundidad. El tiempo de arrastre variará de acuerdo al tamaño de la draga y a la abertura de malla, pero por lo general no superará los cinco minutos. Con la ayuda de un GPS (sistema de posicionamiento satelital) se podrá, mediante la estimación de la posición inicial y final del lance, estimar la distancia recorrida por la draga.

Otra variante de este tipo de muestreador consiste en un marco metálico triangular con su lado inferior en forma de cuchilla y el ángulo superior fijado a un mango de aproximadamente 2 m de largo. Del marco pende una bolsa de tela (de malla variable)

que retiene el sedimento colectado pero deja pasar el agua. Al utilizar la rastra es importante recoger solamente la capa superficial de sedimento. Este tipo de rastra puede ser también utilizada desde una embarcación o desde la costa por un operador.

Trineo o patin epibentónico

El patín epibentónico está diseñado para ser remolcado desde una embarcación, mientras se desliza sobre la superficie blanda no rocosa del fondo. Colecta cualquier tipo de organismos en la superficie o en los primeros centímetros del sedimento. Consta de unos patines de aluminio o acero que facilitan su deslizamiento por el lecho de los cuerpos de agua y que albergan una caja de acero inoxidable que únicamente se abre al contacto con el fondo. Esta caja puede ser simple o doble. La caja simple está diseñada para colocar una sola red de plancton. En el caso de la caja doble, permite colocar 2 redes, obteniendo 2 muestras distintas en los colectores de plancton. De acuerdo al objetivo de estudio se pueden intercambiar las redes ajustando el tamaño de malla adecuado. También es posible añadirle una cámara de grabación multimedia en la parte superior del patín (Figura 9).



Fig. 9. Patín epibentónico de caja doble y dos redes de plancton que permite colectar dos muestras diferentes

Separación de los organismos de las muestras de sedimentos

La separación de los organismos de las muestras de sedimentos es una tarea que presenta un importante grado de dificultad y por lo general demanda un tiempo considerable en el proceso. Se han desarrollado varios métodos para ayudar con esta tarea, todos son tediosos y requieren paciencia y cuidado. A menudo, la separación inicial de los organismos de los sedimentos se realiza en el campo mediante tamices que eliminan parte del sedimento y reducen el volumen. Cuanto menor sea el tamaño de la malla de los tamices, más cantidad de organismos se retienen, pero también más sedimentos son retenidos, por lo que el tiempo necesario para tamizar y clasificar aumenta enormemente. Por lo general un tamaño de malla de 0,20 mm, es la más utilizada por que representa el límite de tamaño más bajo para los estudios de animales bentónicos. El tamaño de malla y el método de separación dependerán del objetivo del estudio.

Otro de los métodos ampliamente utilizados para separar los organismos de los sedimentos son los métodos de flotación. Las muestras se colocan en una solución de sal o azúcar de alta densidad. Los organismos flotan y las partículas de sedimento, más densas que la solución, se hunden. Cuando las muestras contienen mucho material vegetal, el método de flotación no funciona bien, ya que también flotan muchos restos vegetales.

Si bien se han utilizado varios tipos de soluciones (NaCl, CaCl₂, MgSO₄), el azúcar (sacarosa) en una concentración suficiente para producir una densidad de 1,12 a 1,13 g/ml es la sustancia más utilizada. Las muestras se mezclan con solución de azúcar en una proporción volumétrica de aproximadamente 1:5 o 1:10, se agitan vigorosamente y los organismos flotantes se colectan rápidamente con unas pinzas o un colador pequeño. La agitación se repite varias veces. Sin embargo, varios tipos de organismos como moluscos y pequeñas larvas de quironómidos no son susceptibles de separar por este método.

Muchos invertebrados al ser menos densos que la arena y la grava pueden separarse haciendo pasar rápidamente un flujo de agua a través de los sedimentos (técnicas de elutriación). Los organismos de cuerpo ligero como Copépodos, quironómidos, nemátodos, odonatos y efemerópteros se separan con mayor eficacia, mientras que para organismos más densos como moluscos esta técnica resulta ineficiente.

Fijación y preservación de las muestras

La fijación y preservación de los organismos bentónicos puede satisfacer requerimientos de tipo

general, en los cuales el material biológico total es fijado y preservado con un fluido de tal manera que los especímenes pueden utilizarse *a posteriori* para, el análisis de sus cantidades, el análisis de biomasa, identificación específica mediante técnicas genéticas (PCR: reacción en cadena de la polimerasa y secuenciación genómica) y otros requerimientos especiales, como, por ejemplo, estudios por medio de microscopía electrónica, microscopía electrónica de barrido, análisis de las sales de calcio, contenido en aceite, etc.

Entre los requerimientos generales de los líquidos fijadores-preservadores debe considerarse que el elegido sea adecuado tanto para la fijación, como para la preservación; ello minimiza las inversiones en dinero y esfuerzo con relación a procesos que implican la utilización de una droga para la fijación y otra para la preservación. Las sustancias fijadores-preservadores, no deben descomponerse químicamente, deben mantener a los organismos suficientemente resistentes y elásticos como para permitir su examen sin provocar deterioros en ellos, no deben ser inflamables, excesivamente tóxicos o peligrosos, deben ser poco volátiles, incoloros, fácilmente disponibles y listos para mezclar, deben permitir la observación y separación de los organismos en recipientes abiertos, como cápsulas de Petri u otros, deben ser económicos y por último deben ser resistentes al crecimiento de bacterias, hongos y mohos.

Estos requerimientos son, en gran medida, ideales, y ningún preservador los reúne completamente; sin embargo se ha demostrado que el formaldehído es aquel que reúne la mayor cantidad de ventajas como para ser adecuado para la mayoría de los estudios de abundancia y biomasa de la fauna y flora bentónica.

El formaldehído es comercialmente disponible a una concentración del 40%. Los fabricantes recomiendan una temperatura de almacenamiento de 10 a 25°C. El formaldehído (HCHO) se puede presentar como polímero (paraformaldehído, trioxano), y la disminución de la temperatura del ambiente donde se encuentra reducirá la cantidad de formaldehído en solución y aumentará la cantidad de paraformaldehído. En consecuencia, el almacenamiento del formaldehído comercial en ambientes fríos puede llevar al depósito de este polímero. Su presencia se pone en evidencia debido a la débil turbidez de la solución, seguida por la formación de un sedimento blanco que se deposita en el fondo del recipiente. Esta polimerización se revierte calentando la solución o agregando pequeñas cantidades de solución de NaOH en agua,

lo que ayudará a la despolimerización del paraformaldehído aclarando la solución.

Para la fijación de los organismos una vez separado de los sedimentos, se utilizará una concentración de formaldehído al 3-4% (por ejemplo, 10 ml de formaldehído al 40% en 90 ml de agua dan una solución acuosa de formaldehído al 4%). El procedimiento consiste en agregar a un recipiente de, por ejemplo, 500 ml, suficiente cantidad de formaldehído concentrado (comercial, al 40%) como para lograr una concentración del 4% cuando el recipiente sea llenado hasta el tope con agua y organismos bentónicos. En este caso la cantidad de formaldehído necesaria será de 50 ml, y luego se agrega la muestra en medio líquido con los organismos aún vivos hasta completar el volumen total del frasco.

En el caso que la separación no se pueda lograr en el campo en unas pocas horas después de la colecta, las muestras de sedimentos deben conservarse *in situ* mediante la adición de una solución de formaldehído (40%) para obtener una concentración final de formol de aproximadamente entre 5-10% del contenido total de la muestra.

Sin embargo, si la identificación específica de los organismos va a ser realizada mediante técnicas genéticas, el formaldehído no es el fijador adecuado. En este caso es recomendable separar los organismos en el campo y fijarlos vivos con una solución de etanol (75-90%). Este mismo fijador también puede ser utilizado en los estudios de abundancia y biomasa de la fauna y flora bentónica.

Estimación de densidad

Las estimaciones de la densidad de organismos se llevan a cabo relativizando el número de organismos obtenidos respecto del área o volumen de la muestra.

Densidad = número de organismos / área o volumen de la muestra

De esta forma la densidad de organismo queda expresada por la cantidad de organismos colectados por unidad de área o volumen.

Estimación de biomasa

Las estimaciones de biomasa de organismos generalmente se llevan a cabo sobre la base del peso seco y del peso de la materia orgánica. Debido a la gran cantidad de materiales inorgánicos que forman parte de muchos organismos bentónicos, por ejemplo, conchas de caracoles y almejas, es importante que el peso seco tenga en cuenta estos componentes.

El peso seco se obtiene alojando el material, en una cápsula de porcelana previamente pesada, en una estufa a 60-70°C. A intervalos regulares de tiempo se verifica el peso de la cápsula con su contenido hasta que tres pesadas sucesivas presenten iguales valores. Una vez que se ha llegado a peso constante, las cápsulas de porcelana se ponen en una mufla a 600-650°C durante aproximadamente 4 horas. Luego la cápsula se deja enfriar lentamente bajo campana de desecación y se pesan nuevamente; la biomasa se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Biomasa} = [(pms - pmc) \times 100] / pms$$

Donde pms: peso de material seco; pmc: peso de material calcinado. El resultado será el porcentaje de material orgánico (quemado) que contiene la muestra en cuestión.

Cuando los organismos se han conservado en alcohol, hasta el 25% de la biomasa (peso seco) se perderá por lixiviación (Holme, 1964). Mientras que, en algunos organismos se produce un ligero aumento de peso cuando se conservan en formol. En ambos casos, es necesaria la evaluación de los cambios y se deben aplicar los factores de corrección adecuados.

Bibliografía

Boltovskoy, E., A. Boltovskoy. 1968. Foraminíferos y tecamebas de la parte inferior del río Quequen grande. *Revista del Museo argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*. 2(4): 127-171

Brinkhurst, R.O. 1974. The benthos of lakes. St. Martin's Press, New York, NY. 190 pp.

Covich, A.P., Palmer M. A., Crow T A., 1999. The role of benthic invertebrate species in freshwater ecosystems: zoobenthic species influence energy flows and nutrient cycling. *Bioscience* 49 (2):119-127

Downing, J.A. 1984. Sampling the benthos of standing waters, p. 87-130. *In*: J.A. Downing & F.H. Rigler (eds.) *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters*. 2nd ed. IBP Handbook 17. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England.

Edmondson, W.T., G.G. Winberg (eds.). 1971. *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh water*. IBP Handbook No. 17. Blackwell Sci. Publ., Oxford and Edinburgh. 358 pp.

Eleftheriou, A., A. D. McIntyre. 2005. *Methods for the study of marine benthos*. Oxford; Malden, M.A.: Blackwell Science. 418 pp.

Elliott, J.M. 1971. Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates. *Freshwat. Biol. Assoc. (U.K.)*, Ferry House, Ambleside, Westmoreland, London, UK. 144 pp.

Elliott, J.M., C.M. Drake. 1981. A comparative study of four dredges used for sampling benthic macroinvertebrates in rivers. *Freshwater Biol.* 11:245-261.

Hamilton, A.L., W. Burton, I.F. Flannagan. 1970. A multiple corer for sampling profundal benthos. 1. *Fish. Res. Bd. Canada* 27:1867-1869.

Holme, N.A. 1964. Methods of sampling the benthos. *In*: F.S. Russel (ed.). *Adv. Mar. 8 iol. (Lond.) Academic Press Vol. 2*. pp.171-260.

Holme, N. A., A. D. McIntyre (eds.). 1971. *Methods for the study of marine benthos*. IBP Handbook No. 16. Blackwell Sci. Publ., Oxford and Edinburgh. 334 pp.

Hornig, C. E., J. E. Pollard. 1978. Macroinvertebrate sampling techniques for streams in semi-arid regions. Comparison of the Surber method and a unit-effort traveling kick method.

EPA-600/478- 040. U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV.

Hutchinson, G. E. 1993. *A Treatise on Limnology*. Vol. 4. The Zoobenthos. New York: John Wiley & Sons. Wallace JB, Webster JR. 1996. The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual Review of Entomology* 41: 115-139.

Klemm, D. J. 1990. Hirudinea. *In*: B.L. Peckarsky, P.R. Fraissinet, M.A. Penton & D.J. Konkin, Jr. (eds.). *Freshwater macroinvertebrates of north-eastern North America*. Cornell University Press. Cornell, NY. pp. 398-415.

Klemm, D.J., P. Lewis, F. Fulk, J. Lazorchak. 2002. *Macroinvertebrate Field and Laboratory Methods for Evaluating the Biological Integrity of Surface Waters*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/4-90/030 (NTIS PB91171363).

Petersen, C. G. J. 1918. The sea bottom and its production of food. *Rep. Danis. biol. Sla.* 25, 62 pp.

Plafkin, J.L., M.T. Barbour, K.D. Porter, S.K. Gross, R.M. Hughes. 1989. Rapid bioassessment protocols for use in streams and rivers: Benthic macroinvertebrates and fish. EPA/444/4-89-001. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC 20460.

Pollard, J.E. 1981. Investigator differences associated with a kicking method for sampling macroinvertebrates. *J. Freshw. Ecol.* 1 (2): 215-224

Powers, C.F., A. Robertson. 1967. Design and evaluation of an all purpose benthos sampler. Special Report No. 30. Great lakes Research Div. University of Michigan) Ann Arbor) MI. pp. 126-131.

van de Bund, W.J., W. Goedkoop, R. K. Johnson. 1994. Effects of deposit-feeder activity on bacterial production and abundance in profundal lake sediment. *Journal of the North American Benthological Society* 13: 532-539.

Wallace, J.B., J. R. Webster. 1996. The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual Review of Entomology* 41: 115-139.

Welch, P. S. 1948. *Limnological methods*. McGraw-Hill Book Co., New York, NY. 381 pp.

Wetzel, R. G., G. E. Likens, 1991. *Limnological Analyses Second Edition* Springer-Verlag New York, Inc. ISBN 978-1-4757-4100-1 New York: Springer-Verlag. 371 pp.

CAPÍTULO 9

Macrófitas acuáticas: formas de vida y metodologías para su relevamiento

Maira Patricia Gayol, Natalia Soledad Morandeira y Alejandro López

¿Qué son las macrófitas acuáticas?

Las “macrófitas acuáticas” son un diverso grupo de organismos fotosintéticos, visibles a simple vista, cuyas partes vegetativas crecen sumergidas, emergen desde el agua o flotan en la superficie del agua, de forma permanente o periódica (Cook *et al.*, 1974; Denny, 1985). Esta definición incluye a los organismos que habitan en ambientes con agua permanente, temporal o efímera. Los ambientes con agua permanente rara vez se secan (o incluso nunca), aquellos con agua temporal se secan y se vuelven a llenar luego de un período de tiempo por lo general predecible, y los que tienen agua de forma efímera tienen una ocurrencia menos predecible (Murphy *et al.*, 2019).

De acuerdo a esta definición, las macrófitas ocurren en ecosistemas acuáticos y en humedales. Los humedales son ambientes con presencia temporaria o permanente de agua superficial o subsuperficial, que entre otros rasgos distintivos suelen presentar plantas hidrófitas (Benzaquén *et al.*, 2017). Sin embargo, cabe aclarar que no todas las plantas que ocurren en humedales son macrófitas acuáticas (Tiner, 1991; Cowardin & Golet, 1995), ya que existen especies facultativas que, si bien pueden tolerar la presencia de agua por períodos cortos, no requieren necesariamente germinar o crecer en ambientes inundados como parte esencial de su estrategia de vida (Murphy *et al.*, 2019).

Dentro de las macrófitas acuáticas se incluyen plantas vasculares, plantas no vasculares (algunas briófitas) y macroalgas (principalmente algunos géneros de la clase Charophyceae) (Denny, 1985; Thomaz *et al.*, 2008). En este capítulo nos enfocaremos en las plantas vasculares de los ambientes acuáticos lénticos, que en nuestra región suelen ser macrófitas herbáceas. Se estima que

las macrófitas acuáticas vasculares están representadas a nivel global por cerca de 3457 especies de 456 géneros, pertenecientes a 93 familias (Murphy *et al.*, 2019). Sin embargo, no es posible conocer el número exacto de especies ya que la definición del término macrófitas acuáticas varía según la bibliografía utilizada. Además, se siguen descubriendo nuevas especies, sobre todo en las zonas tropicales, y los avances recientes en filogenética molecular llevan a revisiones de la clasificación en casi todos los niveles taxonómicos (Chambers *et al.*, 2008).

Importancia de las macrófitas en los ecosistemas

Las macrófitas cumplen con roles estructurales y funcionales claves en los ecosistemas (Chambers *et al.*, 2008). Proveen refugio, hábitat y son fuente de alimento para una gran diversidad de organismos, intervienen en el ciclado de nutrientes (nitrógeno, carbono, fósforo, etc.), mejoran la calidad del agua, modifican la hidrología y la dinámica de los sedimentos, sostienen una alta biodiversidad (Chambers *et al.*, 2008; Kandus *et al.* 2010, 2010; Bornette & Puijalon, 2011), entre otras funciones. Aumentan la variabilidad y la complejidad estructural de los ecosistemas acuáticos, lo que permite un mayor número de nichos disponibles y por ello las zonas con macrófitas suelen ser las más diversas, productivas y heterogéneas de los cuerpos de agua (Chambers *et al.*, 2008). En relación con su uso directo por las sociedades humanas, las macrófitas pueden ser utilizadas como fuente de alimento, de forraje para el ganado, de recursos apícolas, de materiales para la construcción; tienen usos medicinales y también tecnológicos (por ejemplo, hay especies de las que se obtienen taninos, resinas, aceites, colorantes, fibras y pasta

celulósica) (Kandus et al., 2010). Las macrófitas son consideradas indicadores biológicos confiables de la integridad de los ecosistemas acuáticos debido a que su distribución y abundancia están afectadas por las condiciones ambientales (Tagliaferro, 2020). A su vez, su uso como indicadores presenta algunas ventajas ya que son relativamente fáciles de identificar, se pueden monitorear mediante imágenes satelitales, responden más rápido a los cambios ambientales que otros organismos y, en el caso de las plantas arraigadas, su inmovilidad facilita las estrategias de muestreo (Tagliaferro, 2020).

Formas de vida de las macrófitas

Según su forma de vida, las macrófitas pueden agruparse en cuatro grandes tipos: emergentes arraigadas, arraigadas de hoja o tallo flotante, sumergidas arraigadas y flotantes libres (Sculthorpe,

1967) (Figura 1). Las macrófitas **emergentes arraigadas** se encuentran enraizadas o ancladas en el sustrato, producen tallos emergentes y órganos reproductivos aéreos y las hojas crecen por encima de la superficie del agua (Sculthorpe, 1967; Denny, 1985; Schneider et al., 2018). Las macrófitas **de hoja o tallo flotante** se encuentran ancladas o enraizadas en el sustrato y poseen hojas que flotan en la superficie del agua o bien extienden sus tallos sobre la superficie del agua y las hojas emergen de la columna de agua, respectivamente (Denny, 1985; Schneider et al., 2018). Algunas de las hojas pueden estar sumergidas y las flores o inflorescencias suelen emerger. Las macrófitas **sumergidas arraigadas** se encuentran enraizadas o ancladas en el sustrato y crecen por debajo de la superficie del agua, aunque algunas poseen flores o inflorescencias que pueden emerger a través de la superficie (Denny, 1985; Chambers et al., 2008). Las macrófitas **flotantes libres** flotan por sobre o debajo de la superficie del agua y absorben los nutrientes de la

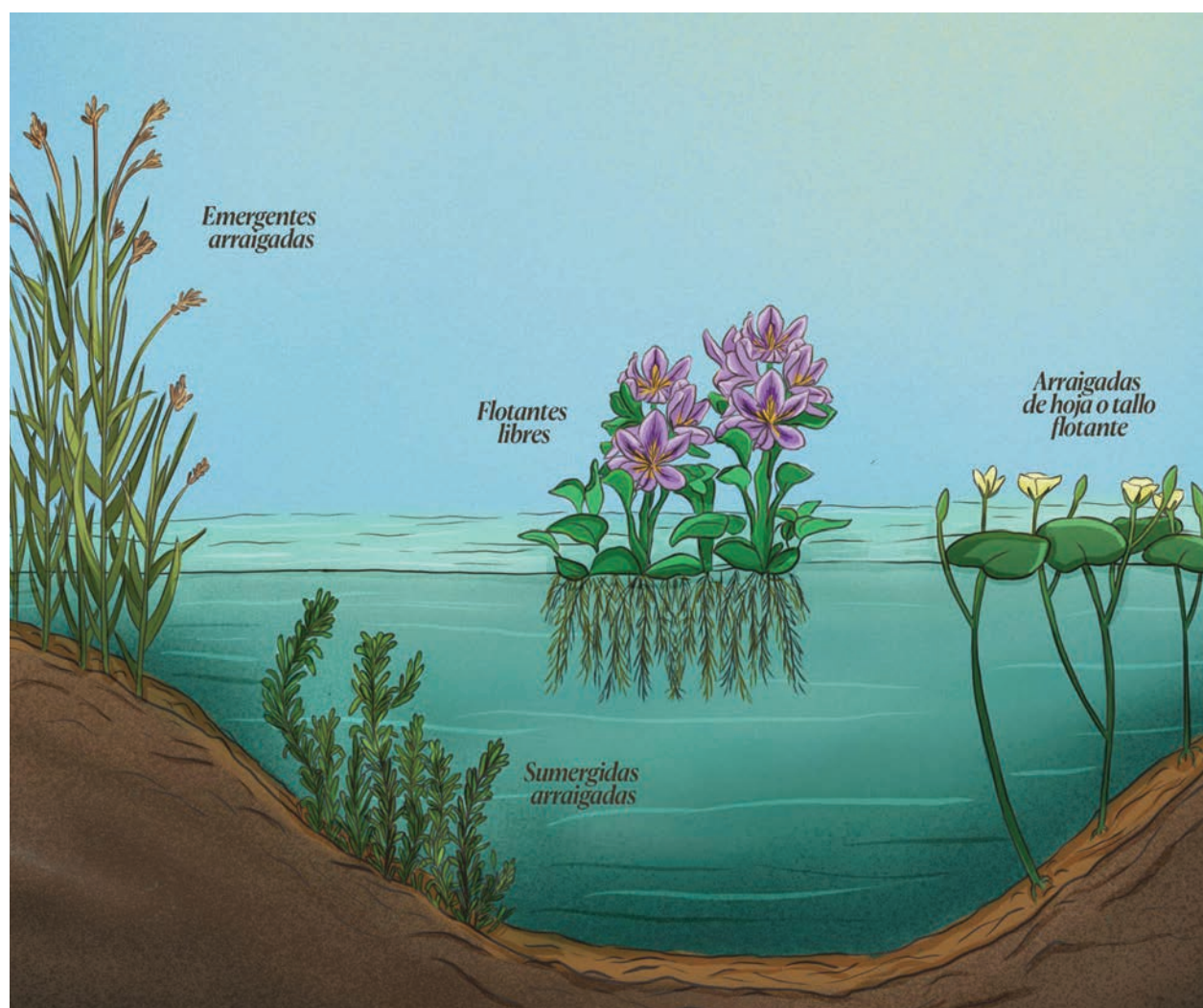


Fig. 1. Esquema de las formas de vida de las macrófitas acuáticas. Emergentes arraigadas, sumergidas arraigadas, flotantes libres y arraigadas de hoja o tallo flotante. Ilustración: Agustina Lacota.

columna de agua (Thomaz *et al.*, 2008; Schneider *et al.*, 2018). Están desarraigadas pero algunas especies con sistemas de raíces muy extensos pueden anclarse al sustrato en aguas someras (Sculthorpe, 1967). Poseen formas muy diversas e incluso algunas pueden estar sumergidas (Sculthorpe, 1967). Algunas especies de macrófitas acuáticas pueden incluirse dentro de diferentes formas de vida a lo largo de su ciclo de vida. Por ejemplo, algunas especies sumergidas arraigadas, pueden fragmentarse y flotar para formar nuevas plantas (Denny, 1985). Los fragmentos flotantes resultan así en propágulos que facilitan la reproducción asexual y dispersión a otras zonas del cuerpo de agua o son transportadas por aves a otros cuerpos de agua.

Especies de macrófitas acuáticas en lagunas pampeanas

Algunas especies comunes que pueden observarse en lagunas pampeanas, clasificadas según su forma de vida, son:

Emergentes arraigadas (Figura 2). *Alternanthera philoxeroides* (lagunilla), *Bolboschoenus maritimus* (junquito), *Cyperus giganteus* (pirí), *Echinodorus grandiflorus* (cucharero), *Equisetum giganteum* (cola de caballo), *Hymenachne perambucense* (carrizo),

Louisiella elephantipes (canutillo), *Ludwigia* spp. (duraznillo de agua), *Myriophyllum aquaticum* (milhojas, helecho de agua), *Oplismenopsis najada*, *Paspalum repens*, *Polygonum* spp. (catay), *Sagittaria montevidensis* (saeta), *Schoenoplectus americanus* (junquito), *Schoenoplectus californicus* (junco), *Senecio bonariensis* (margarita del bañado), *Thalia geniculata* (achira, talia) y *Typha latifolia* (totora).

Arraigadas de hoja o tallo flotante (Figura 3). *Hydrocotyle* spp. (redondita de agua), *Hydrocleys nymphoides* (amapolita de agua), *Marsilea ancylopoda* (trébol acuático), *Nymphoides indica* (camalotillo, estrellita de agua) y *Pontederia azurea* (camalote).

Sumergidas arraigadas (Figura 4). *Cabomba caroliniana* (ortiga de agua), *Egeria densa* (elodea), *Potamogeton* spp. (espiga de agua) y *Stuckenia pectinata*. Dentro de este grupo se encuentran algunas especies de macroalgas del género *Chara* que, pese a no ser plantas vasculares, son comunes en lagunas pampeanas y cumplen roles ecológicos similares en los ecosistemas.

Flotantes libres (Figura 5). Algunas especies comunes que flotan sobre la superficie del agua son: *Azolla filiculoides* (helechito de agua), *Lemna* spp. (lentejitas de agua), *Limnobium laevigatum* (cucharita de agua), *Pistia stratiotes* (repollito de agua), *Pontederia*



a



b



c



d

Fig. 2. Ejemplos de macrófitas emergentes arraigadas. a. *Ludwigia* sp. b. *Schoenoplectus californicus*. c. *Sagittaria montevidensis*. d. *Senecio bonariensis*.



Fig. 3. Ejemplos de macrófitas arraigadas de hoja o tallo flotante. a. *Hydrocotyle ranunculoides*. b. *Hydrocleys nymphoides*. c. *Nymphoides indica*. d. *Pontederia azurea*.



Fig. 4. Ejemplos de macrófitas sumergidas arraigadas. a. *Cabomba caroliniana*. b. *Egeria densa*. c. *Potamogeton* sp. d. *Chara* sp (es un género de macroalgas).

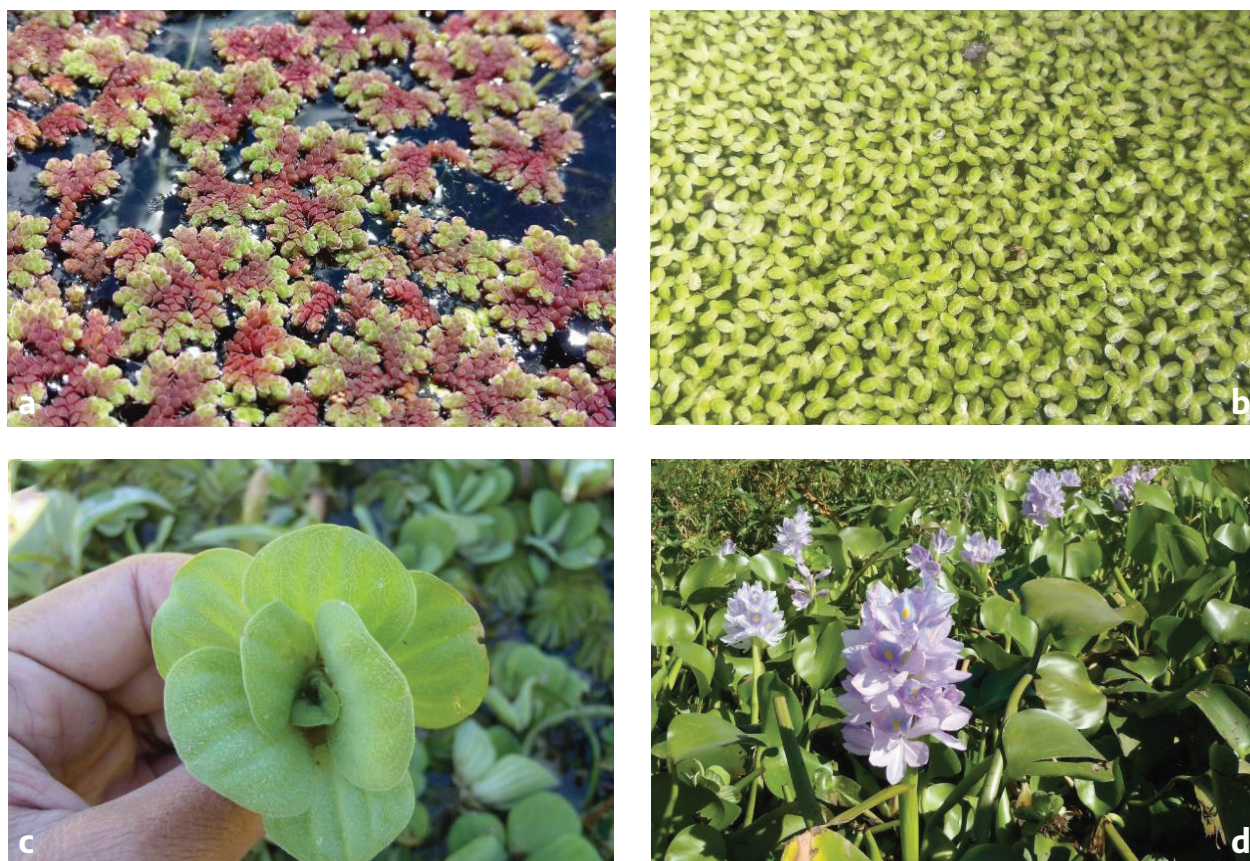


Fig. 5. Ejemplos de macrófitas flotantes libres. a. *Azolla filiculoides*. b. *Lemna* sp. c. *Pistia stratiotes*. d. *Pontederia crassipes*.

crassipes (camalote), *Salvinia* spp. (helechito de agua, acordeoncito del agua), *Spirodela intermedia* (lentejón de agua) y *Wolffiella* spp. (lenteja de agua). *Ricciocarpus natans* (Ricciocarpos) no es una planta vascular, pero es común en lagunas pampeanas. *Utricularia platensis* (utricularia) y *Ceratophyllum demersum* (pinito de agua, cola de zorro) flotan libremente sumergidas, debajo de la superficie del agua.

Metodologías para el relevamiento de macrófitas

Las metodologías para el relevamiento de macrófitas pueden variar sustancialmente de acuerdo a nuestros objetivos. ¿Estudiamos una única laguna o un conjunto de lagunas?, ¿el estudio se repite en el tiempo, en distintas estaciones del año o condiciones hidrológicas? ¿Nos interesa relevar las macrófitas para caracterizar el hábitat de la fauna acuática?, ¿o es un fin en sí mismo describir los ensambles de macrófitas? ¿Nos interesa también tomar muestras de tejidos para medir nutrientes o retención de sustancias químicas, o para hacer una caracterización anatómica? ¿Es nuestro objetivo describir diferencias fenotípicas o rasgos funcionales que puedan ser fuente de variabilidad entre los individuos de la misma especie?

Los siguientes lineamientos están enfocados en realizar una descripción del ensamble de macrófitas en una única laguna, pero las metodologías son de utilidad para otros propósitos (o para repetir en múltiples lagunas). En el **Recuadro 1** se presentan algunas indicaciones para elegir el o los cuerpos de agua a relevar. Como en todo relevamiento, es primordial tener en claro nuestro objetivo para asignar recursos al muestreo, es decir, evaluar los costos (personas y capacidades técnicas requeridas, insumos y equipamiento, tiempo por sitio y horas de trabajo total en el relevamiento) en relación a los beneficios de obtener los datos. En ocasiones un relevamiento rápido cumple satisfactoriamente con los objetivos del trabajo. Asimismo, suele haber un compromiso entre el costo de cada muestreo y la capacidad que tengamos de repetirlo en múltiples sitios y/o durante un período de tiempo extendido.

Antes de realizar los muestreos, se recomienda familiarizarse con la vegetación del ambiente de interés. De no contar experiencia en el área de estudio, una posibilidad es recopilar bibliografía (Link a Messeta et al., 2023 (<https://www.researchgate.net/publication/369376337>) sobre la flora acuática y preparar un listado de las posibles especies a encontrar. Además de libros y artículos,

las plataformas colaborativas de ciencia ciudadana son hoy día una fuente de información en línea, en las que se pueden consultar fotografías de las especies registradas previamente.

Para identificar a las especies que no se conozcan se sugiere sacar buenas fotografías (en lo posible con lente macro) y recolectar material vegetal a herborizar para su posterior identificación o consulta con especialistas (ver Recuadro 2) con algunas nociones sobre cómo herborizar macrófitas). Las plataformas de ciencia ciudadana también resultan muy útiles para subir fotografías de nuestros registros de vegetación y solicitar ayuda de la comunidad para su identificación. Si no se conoce fehacientemente de qué especie se trata un ejemplar particular, es posible asignarle un nombre de fantasía con el que identificar consistentemente a esa especie en los listados de cada uno de los sitios de muestreo.

Por otro lado, una lista de especies no suele ser suficiente para registrar las características de la comunidad de vegetación, sino que se recomienda complementarla con información sobre las abundancias y/o coberturas de las especies. También es relevante registrar algunas características adicionales sobre la vegetación: información sobre la fenología, la altura de las especies (altura emergente por sobre el nivel del agua), la altura del agua, los estratos de vegetación con diferentes alturas, las formas de vida presentes, y/o sobre el estado del cuerpo de agua.

Materiales sugeridos

- Planilla de campo.
- Lápiz (preferentemente atado a la planilla).
- Esquema de la laguna (si hay múltiples sitios de muestreo por laguna) y/o mapa (si se muestrea más de una laguna).
- Cinta métrica o metro.
- Cuadrante para muestrear, ó cuatro estacas.
- Cámara de fotos. Se sugiere contar con lente macro.
- GPS o cámara de fotos con geolocalización activada.
- Botas o traje de pescador.

Para recolectar muestras de biomasa y/o herborizar

- Bolsas plásticas.
- Cinta de papel y marcador para rotular.
- Elemento cortante (machete, tijera de poda, etc.)
- Pala.
- Material para herborizar: papel de diario y/o papel secante, cartón, prensa, etc.

Diseño de la planilla de campo

Antes de ir al campo, se sugiere diseñar una planilla que facilite el registro de los datos en el momento de muestreo. Una planilla bien preparada nos guía en el orden a registrar los datos y busca evitar olvidos. Algunos ítems sugeridos son: fecha, identificación del sitio, ubicación (coordenadas de GPS), personas destinadas al relevamiento, especie dominante, una tabla con renglones para registrar el listado de especies y sus abundancias-coberturas, un listado de ítems sobre la vegetación, características del sitio, un espacio para realizar observaciones, un espacio para realizar un esquema de la laguna y coberturas de vegetación, número de fotos o cámara utilizada. De acuerdo a nuestro objetivo, los ítems pueden ser abiertos (ejemplo: *Formas de vida dominantes*) o pueden ser cerrados a tildar o a seleccionar (ejemplo: *Presencia de juncos*).

Sugerimos imprimir y anillar múltiples copias de la planilla. Otra posibilidad es tener una ficha a completar en un dispositivo electrónico, pero recomendamos tomar las anotaciones en papel para evitar la dependencia de la batería o problemas de guardado de datos y la posibilidad de daño del equipo por estar muestreando en una laguna.

Tamaño y forma de la unidad de muestreo

Cuando se realizan muestreos de ensambles de plantas es importante que las especies estén bien representadas. Si el objetivo del trabajo de campo es el muestreo de ensambles de vegetación recurrentes, se suele determinar la denominada "área mínima" de la comunidad (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974). El área mínima es el área más pequeña en la que la composición de especies de la comunidad en estudio está adecuadamente representada y es un indicador del tamaño de la unidad muestral a utilizar. Por el contrario, cuando el énfasis está en el muestreo de la variación cuantitativa de las especies dentro de grandes comunidades definidas sólo por especies dominantes, en lugar de utilizar unos cuantos cuadrantes o parcelas de área mínima, el muestreo se distribuye sobre cada segmento de vegetación tanto como sea posible en forma de pequeños cuadrantes o muestras puntuales (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974). En relación a la forma de la unidad muestral tradicionalmente se han utilizado cuadrados (Mateucci & Colma, 1982), pero pueden usarse rectángulos o círculos. Para muestrear vegetación herbácea, el tamaño del cuadrante puede ser de 1 m² (1 x 1 m) (Bolfor, Fredericksen & Todd, 2000; Morandeira & Kandus, 2015; Schneider et al., 2015), o bien se puede determinar el área del cuadrante en un muestreo piloto como se explica a continuación.

El método para determinar el área mínima de los cuadrantes de muestreo implica en primer lugar definir un área pequeña, por ejemplo de 0.5 x 0.5 m (0.25 m²), y registrar todas las especies que ocurren dentro de esa superficie. Luego el área se amplía al doble, luego a 4 veces el tamaño inicial, 8 veces, etc. (Figura 6a). Las especies adicionales que ocurren en cada área se registran por separado. El área de muestreo se amplía hasta que las especies

añadidas a la lista son muy pocas. Luego se grafica el número de especies por área muestreada (curva de especies/área) (Figura 6b). El área mínima es el área de muestreo indicada por el punto marcado por una recta tangente a la curva. Es aconsejable elegir un área algo mayor a ésta para un tamaño adecuado de parcela o de cuadrante de muestreo. Otra opción es utilizar el punto de la curva en el cual un aumento en el 10% del área muestreada se

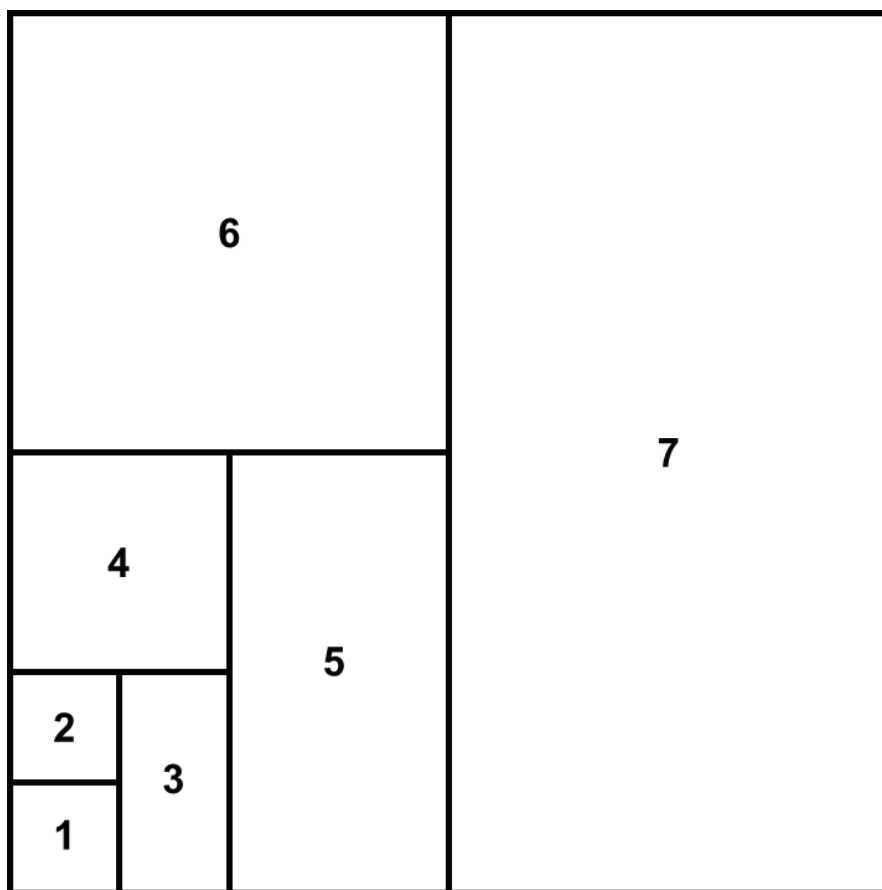


Fig. 6a. Sistema de unidades muestrales anidadas para establecer el área mínima. Cada subunidad numerada consecutivamente después de 1 incluye el área de las subunidades anteriores. (Redibujado a partir de Mateucci & Colma, 1982).

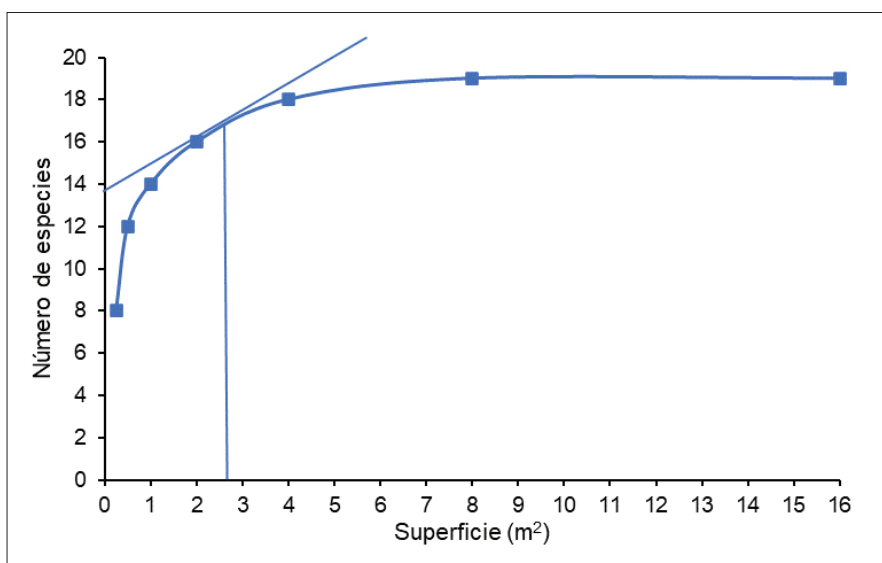


Fig. 6b. Curva especies/área. (Redibujado a partir de Mateucci & Colma, 1982).

asocia sólo con un aumento menor al 10% de especies del número total registrado.

Al momento del muestreo, es necesario delimitar estos cuadrantes en el cuerpo de agua. Para ello, es posible tener preparada una estructura flotante (si es un cuadrado o rectángulo uno de los vértices puede abrirse, de manera de colocar el cuadrante debajo de la vegetación emergente) o bien delimitar en el momento el área a relevar: se toman medidas con cinta métrica o metro y se señalizan los cuatro vértices por medio de estacas. Las estacas deben ser suficientemente largas para quedar por sobre el nivel del agua y se sugiere que estén pintadas de rojo o un color llamativo para distinguirlas de la vegetación.

De acuerdo con la profundidad del cuerpo de agua, es posible que con el tipo de muestreo con cuadrantes se subestime a las especies sumergidas por sobre las especies emergentes o flotantes. Si el objetivo del estudio es relevar en detalle las especies sumergidas (por ejemplo, para evaluar la disponibilidad de hábitat para el zooplankton o para analizar cambios de densidad en relación a penetración de luz en el cuerpo de agua), es posible encarar un muestreo subacuático con herramientas de snorkel o buceo, que incluso puede buscar describir el ensamble a distintas profundidades (Sheldon & Boylen, 1978; Zhu *et al.*, 2006).

Elección de los puntos de muestreo dentro del cuerpo de agua

En la selección de los sitios de muestreo en ambientes acuáticos es importante tener en cuenta la accesibilidad a los mismos. Dadón & Vicari (1995) recomiendan como método de muestreo el sistemático (o regular), para los ambientes dominados por *Schoenoplectus californicus* (junco), *Schoenoplectus americanus* y plantas de morfología similar. En aquellos ambientes donde la vegetación presenta características homogéneas, proponen un muestreo sistemático simple y para el caso de que la vegetación cambie a medida que se avanza dentro del agua, recomiendan un muestreo sistemático estratificado.

Muestreo aleatorio

Las unidades muestrales se ubican al azar, para lo cual hay varios procedimientos. Se pueden colocar en un esquema de la laguna puntos al azar sobre una grilla o sistema de coordenadas, tomando los valores de una tabla de números aleatorios (Figura 7a) (Mateucci & Colma, 1982). Esta técnica es poco práctica para ubicar las unidades muestrales en una zona pequeña, porque es difícil encontrar los puntos seleccionados en el campo. También se puede elegir un punto al azar dentro de la zona vegetada del cuerpo de agua, y a

partir de allí caminar una distancia cuya longitud se ha escogido al azar y en una dirección también escogida al azar; en el punto de destino se toman los datos y a partir de allí se repite el procedimiento. Sin embargo, este procedimiento puede ser largo y tedioso. Resulta una técnica adecuada para superficies pequeñas y cuando se desea obtener información global acerca de las variables consideradas.

Muestreo sistemático simple

Este tipo de muestreo permite detectar variaciones espaciales en la comunidad. Consiste en ubicar las unidades muestrales en un patrón regular en toda la zona de estudio. Esto puede realizarse por medio de transectas (Figura 7b) (Schneider *et al.*, 2015). Los puntos de muestreo se colocan en transectas perpendiculares a la línea de costa. Dentro de cada transecta la distancia entre los puntos es constante. Idealmente las transectas van desde la línea de costa hasta el final del parche de vegetación, por lo que el número de puntos en cada transecta varía de acuerdo con el largo de esta. Por otro lado, el número de transectas en cada cuerpo de agua depende de su área.

Muestreo sistemático estratificado

En el caso de que en la franja de vegetación se destaquen sectores con características disímiles (en términos de la densidad de vegetación, la diversidad de especies, la forma de distribución de las plantas), se puede adoptar una distancia diferente entre los puntos de muestreo para cada sector (Figura 7c) (Dadón & Vicari, 1995).

Extensión del muestreo por cuerpo de agua

La extensión total del muestreo a realizar, asociada con el número de unidades muestrales a relevar, suele definirse de manera arbitraria. En algunos casos se define mediante un límite porcentual. Por ejemplo, se puede establecer un límite de intensidad de muestreo del 5 o 10 % del área de la cubierta de vegetación. Es decir que, si la cobertura de vegetación es de 100 m², un muestreo del 5% tendrá una extensión de $0.05 * 100 \text{ m}^2 = 5 \text{ m}^2$. Esta área debe ser muestreada por ejemplo mediante 5 cuadrantes de 1 m x 1 m. En caso de que el cuerpo de agua sea extenso, se recomienda distribuir los sitios de muestreo en distintos puntos del cuerpo de agua. Sin embargo, es posible que se tengan limitaciones debido a la accesibilidad del sitio.

En general, los muestreos de vegetación se realizan en el área litoral del cuerpo de agua, debido a la presencia de especies arraigadas y a la posibilidad de acceso. Si la laguna es extensa y poco profunda, es posible realizar muestreos a distintas

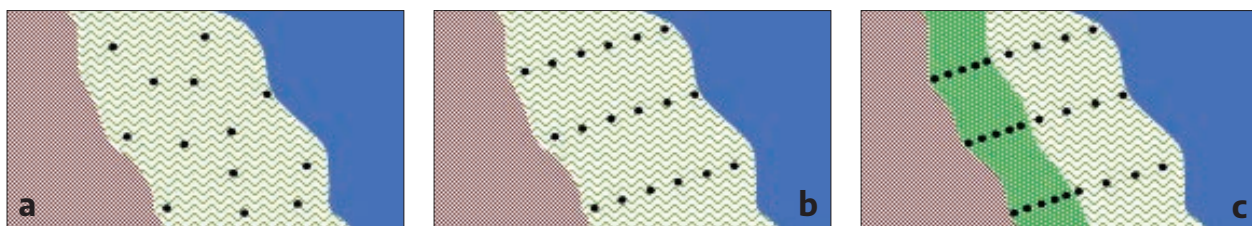


Fig. 7. Muestreo aleatorio (a), muestreo sistemático simple (b), muestreo sistemático estratificado (c). La zona marrón representa el área por fuera del cuerpo de agua que se desea muestrear, las zonas en verde las franjas de vegetación, la zona azul el agua libre y los puntos negros representan los puntos de muestreo. (Redibujado a partir de Dadón & Vicari, 1995).

distancias del límite del cuerpo de agua. En caso de que la laguna sea profunda y/o que se requiera muestrear en el centro (por ejemplo, para evaluar la presencia de especies sumergidas), se deberá usar un bote o estructura flotante.

Frecuencia temporal de los muestreos

La frecuencia de muestreos dependerá del objetivo para el cuál se realicen los muestreos y de los recursos disponibles. Los relevamientos pueden ser semanales, mensuales, anuales, estacionales, estar asociados al monitoreo de una variable particular (por ejemplo, muestreos en períodos de aguas bajas y de aguas altas para realizar comparaciones), etc. Para facilitar la identificación de las especies de plantas se suelen realizar los muestreos en primavera/verano, ya que están presentes las estructuras reproductivas.

Estimación de la abundancia-cobertura de las especies

Contar con una estimación de la abundancia o cobertura de las especies es útil para caracterizar al sitio y para realizar comparaciones entre lagunas y/o entre momentos. Asimismo, obtener esta información es requerido para realizar estimaciones de diversidad taxonómica.

El método de Braun-Blanquet permite estimar la abundancia-cobertura de las especies de plantas por unidad de muestreo. Es recomendable porque, en comparación con otros métodos (como interceptación puntual), requiere poco tiempo por cada unidad y puede ser utilizado para todas las comunidades de plantas vasculares. El nombre "abundancia-cobertura" se debe a que el método utiliza una escala que se relaciona con la cobertura (porcentaje del área del cuadrante ocupado por individuos de la especie) para las especies más abundantes, mientras que se relaciona con abundancia para especies con pocos individuos o con individuos pequeños con muy baja cobertura..

El primer paso es confeccionar un listado de todas las especies presentes en la unidad de muestreo. Luego, la persona a cargo del muestreo debe posicionarse de forma tal que pueda ver todo el ensamble de plantas y desde ese punto asignar para cada especie de la lista un puntaje correspondiente de acuerdo a la escala. Esto debe realizarlo de forma independiente para cada especie. Es recomendable tener los valores de la escala disponibles (por ejemplo, tener una copia en la planilla de campo), porque es importante tener en claro su significado cada vez que se utiliza. En caso de que más de una persona realice muestreos de vegetación, se sugiere que las primeras veces trabajen en conjunto para establecer los mismos criterios.

Los valores de la escala de Braun Blanquet de abundancia-cobertura (Mueller-Dombois y Ellenberg 1974) son los siguientes:

- **r** uno a tres individuos con cobertura menor a 5 %
- **+** pocos individuos con cobertura menor a 5 %
- **1** abundantes individuos con cobertura menor a 5 %,
- **2** cobertura del 5 al 25 %
- **3** cobertura del 25 al 50 %
- **4** cobertura del 50 al 75 %
- **5** cobertura del 75 al 100 %.

El procedimiento para determinar la abundancia-cobertura de cada especie de la lista se presenta en la Figura 8. Cuando la cobertura de una especie está en alguno de los límites de la escala puede haber errores en las estimaciones. Sin embargo, este método busca describir la variación florística espacial en la cubierta vegetal. Por ello el énfasis está puesto en registrar una mayor cantidad de unidades muestrales y no en relevar pocas con mediciones exactas de las cantidades de las especies.

Nótese que los valores de la escala de Braun-Blanquet son categóricos. Es posible que necesitemos convertir estos valores a números si queremos promediar las abundancias-coberturas registradas

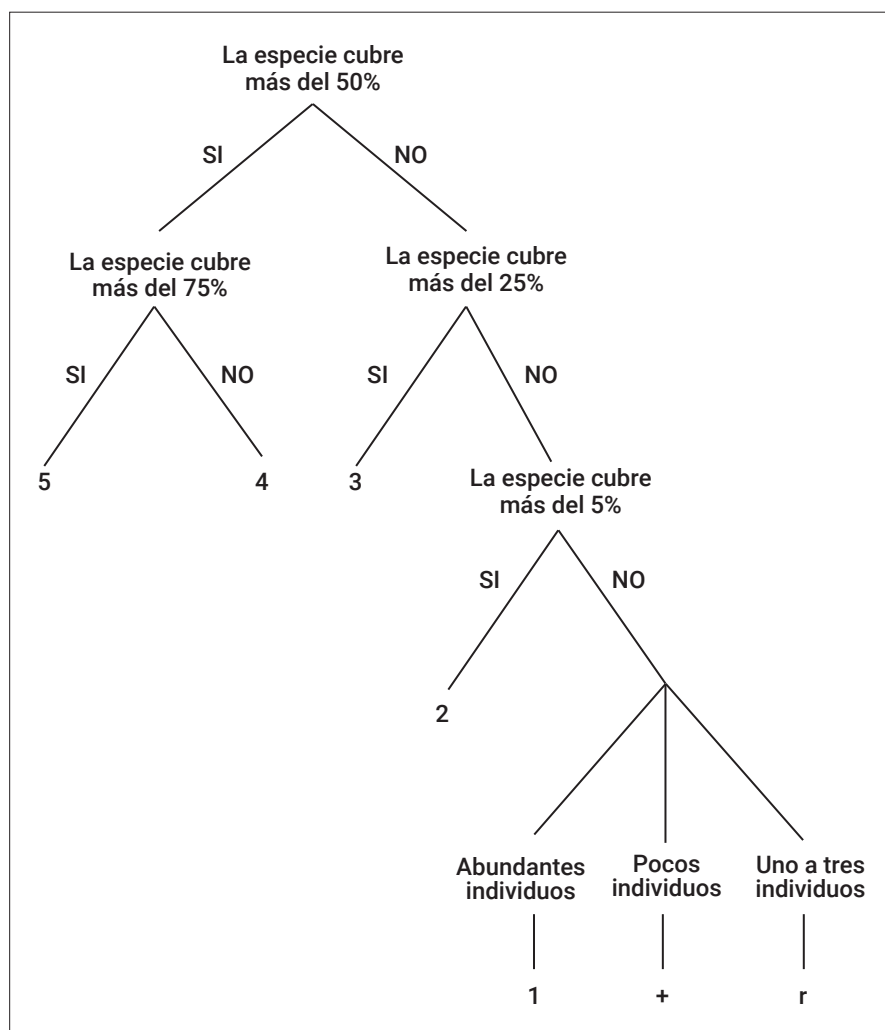


Fig. 8. Esquema del procedimiento para estimar la abundancia-cobertura de las especies de la unidad muestral de acuerdo con la escala de Braun-Blanquet (Mueller-Dombois y Ellenberg 1974). Esquema: elaboración propia.

en múltiples sitios de muestreo en la misma laguna y/o computar índices (por ejemplo, estimaciones de diversidad taxonómica por laguna, índices de similitud cuantitativos entre dos lagunas). Para ello, se puede utilizar este criterio: el centro de la clase de abundancia-cobertura de Braun-Blanquet (1 = 2,5 %, 2 = 15,0 %, 3 = 37,5 %, 4 = 62,5 %, 5 = 87,5 %) y 0,01 % y 0,10 % respectivamente para las clases r y + (Morandeira & Kandus, 2015).

Estimar coberturas es indicado para especies con reproducción asexual o vegetativa –como suele ocurrir en las macrófitas acuáticas– dado que es difícil identificar individuos aislados. Alternativamente, puede medirse la densidad de individuos o de tallos por unidad de área (Vicari *et al.*, 2002).

Si la vegetación está estructurada en múltiples estratos, es posible describir la cobertura de cada estrato por separado (por ejemplo, estratos herbáceo, arbustivo y arbóreo). En el caso de una laguna, es posible definir estratos de acuerdo a la altura de las plantas emergentes arraigadas, por ejemplo, discriminar un estrato de emergentes

arraigadas mayores a 1 o 2 m, otro de arraigadas emergentes menores a 1 m, otro de flotantes. También puede resultar útil para las macrófitas acuáticas, en lugar de hacer énfasis en los estratos por altura, describir la comunidad de acuerdo con las formas de vida presentes en ella. En este caso, se debe estimar la cobertura de cada forma de vida en cada unidad de muestreo.

Estimación de biomasa

La biomasa vegetal es una variable que otorga mucha información sobre el ensamble de vegetación, adicional a estimar la cobertura o la abundancia de las especies. Por ejemplo, puede ser muy importante contar con datos de biomasa para evaluar efectos de herbivoría, para estimar fijación de carbono o para relacionar las coberturas con datos satelitales. Sin embargo, se trata de una variable costosa por el tiempo que demanda tanto en el campo como a posteriori en el laboratorio. Además, como la variable se suele estimar con cosechas de vegetación se trata de un método destructivo y es posible que

no se pueda realizar en áreas protegidas o en las que no se cuente con autorización para la colecta y traslado de material vegetal.

La biomasa se define como el peso seco de vegetación por unidad de área. De acuerdo a nuestro objetivo, podemos estimar la biomasa aérea emergente o bien la biomasa total (incluyendo área sumergida y/o raíces y rizomas). Luego de realizar el censo de vegetación, es posible cosechar toda la vegetación del cuadrante utilizado como unidad muestral o bien, a fines de reducir el esfuerzo de muestreo, se delimita un sub-cuadrante (por ejemplo, de 25 cm x 25 cm) (Vicari *et al.*, 2002; Magnano, Vicari & Astrada, 2013; Morandeira *et al.*, 2021). Para evitar sesgos, se sugiere que este sub-cuadrante esté siempre en la misma esquina de la unidad de muestreo (por ejemplo, esquina sudoeste). Luego de delimitar el sub-cuadrante, se cosecha toda la vegetación emergente usando una tijera de podar o un cuchillo y se la guarda en una bolsa plástica debidamente rotulada. En caso de existir vegetación seca en pie, se debe separar de la vegetación verde, lo cual puede hacerse en laboratorio si no se deja pasar mucho tiempo. Si se desea cosechar la vegetación sumergida, es recomendable

guardar la muestra en otra bolsa.

En laboratorio, se separan las porciones de biomasa verde emergente, biomasa seca emergente y biomasa sumergida. De acuerdo al objetivo, podemos querer separar la biomasa de cada una de estas porciones por especie vegetal. En ocasiones también es de interés separar la biomasa de las estructuras reproductivas (flores y frutos) y vegetativas. Cada una de estas porciones se coloca en una bolsa de papel madera debidamente rotulada y se lleva a estufa a 60 grados hasta alcanzar un peso estable (al menos durante 72 horas). Si las muestras tienen mucho contenido de agua, se pueden secar en bandejas de aluminio en lugar de bolsas de papel. Una vez secas, las muestras se pesan. Luego se puede informar la biomasa de cada porción y la biomasa total por cada sitio, en unidades de g.m².

De manera adicional, si realizamos cosechas de biomasa verde aérea, y contamos con una balanza de campo, es posible obtener el peso húmedo de la muestra cosechada. Luego de secar la muestra, podemos obtener el porcentaje de humedad en los tejidos vegetales.

Recuadro 1. Elección de cuerpos de agua a relevar

La elección del o de los cuerpos de agua a relevar depende sustancialmente del objetivo de nuestro trabajo. Es posible que se nos asigne la tarea de relevar una determinada laguna (por ejemplo, por su interés de conservación, por su monitoreo en un seguimiento a largo plazo), en cuyo caso no estaremos a cargo de seleccionar el área de trabajo. Aún en ese caso es pertinente conocer en qué ecorregión se encuentra el sitio de estudio, qué condiciones climáticas lo afectan, cuál es el origen geomorfológico del cuerpo de agua, qué flora y fauna está presente en el área, qué usos hay en el entorno de la laguna y, finalmente, a qué tipo de lagunas podría representar ese cuerpo de agua –sin desconocer que el alcance de nuestros resultados se limita a esa única laguna.

Si estamos a cargo de seleccionar los cuerpos de agua a relevar dentro de un área de estudio, debemos tener muy en claro el propósito. Por ejemplo, es posible que necesitemos relevar una cierta cantidad de lagunas comparables, para poder describir el funcionamiento de ese tipo de cuerpo de agua. En ese caso, buscaremos lagunas con similares características. Otra posibilidad es que busquemos comparar la vegetación de lagunas de dos tipos distintos (por ejemplo: con distinto origen geomorfológico; con distinta proximidad a un cuerpo de agua lótico; con distintos usos de suelo en el entorno). En ese caso, debemos buscar lagunas que se diferencien en la variable de nuestro interés pero que sean similares en todas las demás características: dado que en la naturaleza hay mucha variabilidad, nuestro propósito es controlar la mayor cantidad de factores.

Un Sistema de Información Geográfica (SIG) resulta de mucha utilidad para la selección de los cuerpos de agua a relevar. En el SIG, se debe recopilar o generar información cartográfica de diverso tipo, por ejemplo: límites de cuencas; límites de ecorregiones y/o regiones de humedales; unidades geomorfológicas; cuerpos de agua lénticos y lóticos; usos de suelo; imágenes satelitales de distintas fechas (por ejemplo, en épocas húmedas y secas, en invierno y verano); principales rutas y carreteras. Cabe señalar que la selección de los cuerpos de agua puede estar restringida por nuestra posibilidad de acceso. Si en el área de estudio hay múltiples cuerpos de agua igualmente adecuados y accesibles para el relevamiento, es posible aleatorizar la selección final.

Recuadro 2. Nociones básicas de recolección y herborización de macrófitas acuáticas

Recolección de ejemplares

Si no conocemos la identidad de una determinada especie, será necesario recolectar ejemplares para identificarlos luego del muestreo. Se deben recolectar siempre ejemplares completos: con flores, frutos (si están disponibles), tallos con diferentes tipos de hojas (si los hay), y con una muestra de las estructuras subterráneas (en el caso de plantas enraizadas) (Sánchez-González & González, 2007). Si la planta es pequeña se recolecta completa. Para ello se debe contar con un elemento cortante (machete o tijera de poda) y una herramienta para cortar el sedimento (pala). Conforme se recolectan los ejemplares se debe asignarles un número de recolecta. Se recomienda realizar incisiones en los ejemplares recolectados con un elemento filoso (como una navaja) para facilitar la salida del exceso de agua. También es importante eliminar el exceso de lodo u otros materiales adheridos al sistema radicular o estructuras sumergidas.

Para la recolección de macrófitas pequeñas y delicadas se utiliza la técnica de flotación (Lot et al., 2015). Ésta consiste en la recolección a mano de las especies y su colocación en una bandeja con agua, que tiene el objetivo tanto de limpiarlas como de extenderlas por flotación en cartulina o papel periódico (se pasa el papel por debajo del ejemplar suspendido en el agua, levantándolo rápidamente) (Lot et al., 2015).

Herborización de ejemplares

Una vez recolectados los ejemplares deben prensarse tan rápido como sea posible. Para ello se colocan en hojas de papel absorbente, como la de los periódicos, de forma cuidadosa y con un mínimo de solapamiento. Los ejemplares se arreglan de manera que las hojas muestren el haz y el envés y las flores e inflorescencias con tantas superficies o vistas como sea posible. En los casos de individuos diminutos o partes florales delicadas, se recomienda colocar un papel encerado entre las hojas de periódico, para evitar que se peguen dichas estructuras al colocarse en la prensa. Se debe escribir el número de recolecta sobre la esquina inferior derecha de la hoja de periódico, por dentro y por fuera y, si se conoce, el nombre de la familia en la parte externa. Se recomienda registrar el color de las flores y frutos, ya que pueden cambiar al secarse.

Para la herborización de macrófitas de gran talla como las especies de los géneros *Schoenoplectus*, *Thalia*, *Pontederia*, entre otras, se debe fragmentar el ejemplar con muestras representativas de todas las estructuras de valor taxonómico presentes (Lot et al., 2015). En este caso se debe anotar la altura del individuo colectado e indicar en el papel periódico que se trata de un solo ejemplar. Algunas especies de macrófitas flotantes libres muy voluminosas (como *Pontederia crassipes* y *Pistia stratiotes*) requieren de la eliminación de algunos conjuntos de hojas verticiladas y además deben hacerse pequeñas disecciones para reducir a un plano el cuerpo de la planta (Lot et al., 2015).

Los ejemplares se colocan en una prensa de recolecta, que consiste en dos marcos de madera, cartón corrugado, papel periódico (contenedor de los ejemplares), papel secante entre las hojas de papel periódico con las plantas, y correas o lazos resistentes para ajustar la prensa (Sánchez-González & González, 2007). Cuando la prensa está llena, se deben poner dos cartones separadores y otro panel de respaldo sobre la parte superior. Las correas deben ajustarse tanto como sea posible y deben mantenerse ajustadas hasta finalizar el secado. Se debe asegurar que el cartón corrugado tenga espacios de aire y no se haya compactado con el uso.

Para evitar que un ejemplar pierda su color y se torne quebradizo se requiere de un tiempo adecuado de exposición al calor, del flujo de aire seco (en caso de disponer de secadora), del cambio continuo de los periódicos de la prensa para acelerar el proceso de secado, así como del ajuste diario de ésta para evitar que los ejemplares se arruguen (Sánchez-González & González, 2007). Es recomendable el uso de una secadora eléctrica que provee de un calor ambiental constante (35-45° C) en lugar de utilizar temperaturas muy altas. A medida que los ejemplares se sequen, se deben extraer de la prensa. Durante el proceso de secado, se deben cambiar periódicamente los papeles de diario y/o secante. Para evitar la proliferación de hongos, se sugiere pulverizar los ejemplares con un spray de alcohol.

El ejemplar final del herbario, una vez finalizado el proceso de secado, se guarda prensado entre papeles de color blanco, con una etiqueta que indique: identificador de la especie (puede ser el nombre de fantasía que le asignamos al colectarla), nombre de la persona que la colectó, fecha y lugar de colección, coordenadas del sitio. Una vez identificada, se agrega a esta etiqueta el nombre de la especie.

Para cada ejemplar es importante tener anotada información sobre el ambiente, sobre la población de la especie recolectada, la movilidad del agua, el tipo de sustrato donde se fijan las plantas, la profundidad del agua, el tipo de vegetación o paisaje dominante, observaciones sobre el color de las flores y la forma de vida (Lot *et al.*, 2015). Esto será de gran utilidad para realizar el estudio florístico y taxonómico correspondiente. Adicionalmente, es útil llevar un registro fotográfico del hábito de la especie recolectada y de algunos detalles de su inflorescencia, tipos de hojas y frutos, así como de sus partes disectadas. Al momento de tomar las fotografías resulta importante referenciar el objeto con algún utensilio, como una navaja o regla, que proporcione la escala del tamaño real de la planta y de sus partes.

Bibliografía

Benzaquén, L., D. Blanco, R. Bo, P. Kandus, G. Lingua, P.G. Minotti, *et al.* 2017. Regiones de humedales de la Argentina. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Fundación Humedales/Wetlands International, Universidad Nacional de San Martín y Universidad de Buenos Aires.

Bolfor, M., B. Fredericksen, S. Todd. 2000. Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. Editora El País, Santa Cruz, Bolivia.

Bornette, G., S. Puijalon. 2011. Response of aquatic plants to abiotic factors: a review. *Aquatic Sciences* 73, 1–14

Camefort, H. 1972. Morphologie des végétaux vasculaires (Cytologie. Anatomie. Adaptations). 2e édition, revue et complétée. Paris, Doin éditeurs [compte-rendu]

sem-linkFiasson Jean

Publications de la Société Linnéenne de Lyon Année 41-6 p. 84.

Chambers, P.A., P. Lacoul., K. J. Murphy, S. M. Thomaz. 2008. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 9–26

Cook, C.D.K., B. J. Gut, E. M. Rix, J. Schneller. 1974. Water Plants of the World. A Manual for the Identification of the Genera of Freshwater Macrophytes. Springer Netherlands.

Cowardin, L.M., F. C. Golet. 1995. US Fish and Wildlife Service 1979 wetland classification: a review. *Vegetatio* 118, 139–152

Dadón, J.R., R. L. Vicari. 1995. Biomasa de vegetación palustre (*Schoenoplectus californicus*). In: Ecosistemas de aguas continentales. (Eds E. Lopretto & G. Tell), Sur, La Plata, Argentina.

Denny, P. 1985. The Ecology and Management of African Wetland Vegetation. (Ed. P. Denny), Dr W. Junk.

Kandus, P., N. S. Morandeira, F. Schivo. (Eds). 2010. Bienes y Servicios Ecosistémicos de los Humedales del Delta del Paraná. Fundación Humedales / Wetlands International.

Lot, A., M. Olvera, C. Flores, A. Díaz. 2015. Guía Ilustrada de Campo. Plantas Indicadoras de Humedales. Universidad Nacional Autónoma de México.

Magnano, A.L., R. Vicari, E. Astrada. 2013. Ganadería en humedales: respuestas de la vegetación a la exclusión del pastoreo en tres tipos de ambientes en un paisaje del Delta del Paraná. *Revista de la Asociación Argentina de Ecología de Paisajes* 4, 137–148

Mateucci, S.D., A. Colma. 1982. Metodología para el estudio de la vegetación. Secretaría General de la OEA, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico.

Messetta, M. L., J. Anselmo, P. Gantes, B. Pérez, C. Feijoó. 2023. Plantas acuáticas de arroyos pampeanos. Una guía de campo. Revalorizando nuestro ambiente. Libros del INEDES. 73 pp.

Morandeira, N.S., M. E. Barber, F. M. Grings, F. Ahern, P. Kandus, B. Brisco. 2021. Response of multi-incidence angle polarimetric RADARSAT-2 data to herbaceous vegetation features in the Lower Paraná River floodplain, Argentina. *Remote Sensing* 13, 1–17

Morandeira, N.S., P. Kandus. 2015. Multi-scale analysis of environmental constraints on macrophyte distribution, floristic groups and plant diversity in the Lower Paraná River floodplain. *Aquatic Botany* 123, 13–25.

Mueller-Dombois, D. H. Ellenberg. 1974. Aims and methods of vegetation ecology. John Wiley, New York, United States.

Murphy, K., A. Efremov, T. A. Davidson, E. Molina-Navarro, K. Fidanza. T.C. Crivelari Betiol, *et al.* 2019. World distribution, diversity and endemism of aquatic macrophytes. *Aquatic Botany* 158, 103127.

Sánchez-González, A., L.M. González. 2007. Técnicas de recolecta y herborización de plantas. En: La Sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad. Ciencia al Día 5. (Eds R.A. Contreras, I. Goyenechea, C.C. Cuevas & U. Iturbe), pp. 177–193. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Schneider, B., E. R. Cunha, M. Marchese, S. M. Thomaz. 2018. Associations between macrophyte life forms and environmental and morphometric factors in a large sub-tropical floodplain. *Frontiers in Plant Science* 9, 1–10.

Schneider, B., E. R. Cunha, M. Marchese, S. M. Thomaz. 2015. Explanatory variables associated with diversity and composition of aquatic macrophytes in a large subtropical river floodplain. *Aquatic*

Botany 121, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.11.003>

Sculthorpe, C.D. 1967. The Biology of Aquatic Vascular Plants. Edward Arnold Ltd, London.

Sheldon, R.B., C. W. Boylen. 1978. An underwater survey method for estimating submerged macrophyte population density and biomass. Aquatic Botany 4, 65–72.

Tagliaferro, M. 2020. Uso de peces y macrófitas como indicadores. In: La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina. Bases para el análisis de la integridad ecológica. (Eds E. Domínguez, A. Giorgi & N. Gómez), Eudeba, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Thomaz, S.M., F.A. Esteves, K. J. Murphy, A. M. dos Santos, A. Caliman, R. D. Guariento R.D. 2008. Aquatic macrophytes in the tropics: ecology of populations and communities, impacts of invasions and use by man. In: Encyclopedia of lifecosystem support (eolss). pp. 1252–1280. UNESCO.

Tiner, R. W. 1991. The concept of a hydrophyte for wetland identification. BioScience 41, 236–247

Vicari, R.L., S. Fischer, N. Madanes, S.M. Bonaventura, V. Pancotto. 2002. Tiller population dynamics and production on *Spartina Densiflora* (Brong) on the floodplain of the Paraná River, Argentina. Wetlands 22, 347–354

Zhu, B., D. G. Fitzgerald, C.M. Mayer, L.G. Rudstam, E.L. Mills. 2006. Alteration of Ecosystem Function by Zebra Mussels in Oneida Lake: Impacts on Submerged Macrophytes. Ecosystems 9, 1017–1028.

CAPÍTULO 10

Los macroinvertebrados asociados a macrófitas acuáticas: su metodología de estudio

María Soledad Fontanarrosa y María Eugenia Lopez

En los ambientes lénticos someros habitan numerosos invertebrados (organismos que no poseen esqueleto interno) que conforman un grupo con gran riqueza y diversidad de organismos. Entre ellos podemos encontrar representantes de muchos grupos de animales, como artrópodos (insectos y crustáceos como por ejemplo cangrejos, camarones, pulgas de aguas, etc.), moluscos (que comprende dos grandes grupos, los caracoles y los mejillones y almejas), anélidos (gusanos segmentados como los oligoquetos y las sanguijuelas), platelmintos (conocidos como gusanos planos, por ejemplo los turbelarios), nematodos y nematomorfos (ambos son gusanos no segmentados). Por convención, en los estudios ecológicos basados en estos invertebrados se los suele dividir en dos grandes grupos, los microinvertebrados (< 1mm) y los macroinvertebrados (> 1mm). Esta métrica se estableció en gran medida por el tamaño de la malla de las redes más utilizadas para el muestreo de los organismos (malla gruesa para los macros y malla fina para los micros) (Batzner y Boix 2016). Aunque, posiblemente más importante que su distinción de tamaño es la utilización del hábitat. La mayoría de los macroinvertebrados, están asociados a diversos sustratos, incluidos los sedimentos del fondo (bentónicos), sobre o entre las plantas (fitófilos) o la superficie del agua (neustónicos) y solo unos pocos viven en aguas libres (planctónicos). Es decir que si bien se asocian a las macrófitas pueden alternar con otros ambientes como el planctónico o bentónico.

Entre los macroinvertebrados que habitan los ambientes de agua dulce podemos observar una gran diversidad de adaptaciones vinculadas, por ejemplo, a sus modos de locomoción, hábitos y modo de alimentación, ciclos de desarrollo, entre otros (Thorpe 2015). Esto permite clasificarlos en grupos funcionales según sus hábitos (forma y adaptaciones para moverse en el agua) pudiendo encontrar

organismos que son buenos nadadores, otros sujetadores (muestran adaptaciones para agarrarse o sujetarse al sustrato), buceadores (como algunos insectos que obtiene oxígeno de la superficie del agua, pero bucean y nadan para alimentarse y suelen pasar tiempo sujetos de objetos sumergidos), reptadores (se arrastran sobre un sustrato), trepadores (macroinvertebrados que viven en las partes sumergidas de las plantas acuáticas, aunque no necesariamente se alimentan de ella), excavadores (poseen adaptaciones para excavar y enterrarse en los sedimentos blandos), patinadores (adaptados a vivir sobre la superficie del agua) y planctónicos (organismos que viven en aguas libres flotando pero no son capaces de nadar activamente contra la corriente). Del mismo modo podemos distinguir varios grupos funcionales en relación al alimento que ingieren; los organismos herbívoros que se alimentan de plantas vasculares o de algas, carnívoros que ingieren otros animales, detritívoros que consumen materia orgánica muerta, y omnívoros que se alimentan de materia orgánica proveniente de vegetales y animales. En función al modo en que toman su alimento podemos identificar al grupo de los llamados fragmentadores / desmenuzadores que se alimentan tejido vegetal o materia en descomposición gruesa con un tamaño mayor a 1 mm. Otros son filtradores de partículas pequeñas en suspensión, ingiriendo algas microscópicas y zooplancton y seleccionando su alimento en función de su tamaño y disponibilidad; estos poseen adaptaciones como cepillos bucales, patas con brochas de setas, o construyen redes de seda, etc. que funcionan como filtros para retener partículas finas (<1mm) del agua. También encontramos organismos raspadores que se alimentan de algas y microorganismos que viven adheridos a sustratos como rocas y plantas (perifiton). Los organismos recolectores seleccionan partículas finas depositadas. Entre los organismos carnívoros, los macroinvertebrados depredadores

a menudo poseen adaptaciones morfológicas para capturar la presa (patas raptoras o labios prensiles), suelen masticarla pero algunos le inyectan enzimas y succionan su contenido. Siendo un grupo tan diverso se pueden observar tiempos de desarrollo altamente variables que dependiendo de la especie y de factores ambientales, como la temperatura del agua y la disponibilidad de alimento, pueden variar desde pocos días hasta varios años. Algunos de ellos pasan todo su ciclo de vida en el agua, mientras que otros lo hacen sólo durante sus estadios inmaduros siendo los adultos voladores o terrestres y dependiendo de las especies también pueden observarse uno o varios ciclos de desarrollo a lo largo del año.

Todas estas características hacen que estos organismos conformen un grupo funcional y taxonómicamente diverso en los ambientes lénticos someros, ocupando diferentes nichos y mostrando diversas modalidades y hábitos de alimentación que contribuyen a las funciones del ecosistema (Bazzanti *et al.* 2009). Los macroinvertebrados acuáticos modulan directa e indirectamente a la transferencia de nutrientes desde los sedimentos, el detritus y la columna de agua a los organismos de nivel superior, ayudando en la descomposición de la hojarasca, al ciclado de nutrientes, a la regulación de la comunidad vegetal (Anderson *et al.* 2013), y sirviendo de alimento a peces, anfibios y aves acuáticas (de Szalay y Resh 2000).

Las macrófitas como estructuradoras del hábitat

Las regiones someras de los cuerpos de agua lénticos, generalmente ubicadas en sus márgenes y donde la luz penetra hasta el fondo (zona litoral), suele estar colonizada por macrófitas (plantas acuática arraigadas, sumergidas o flotantes y algas macroscópicas). La zona litoral es ecológicamente importante, considerada como una zona de conexión con el medio terrestre circundante y el espejo de agua. En estrecha relación a esto, los macroinvertebrados acuáticos constituyen un grupo muy importante en estos ecosistemas debido a que tienen la capacidad de integrar los cambios producidos tanto en el sistema acuático como en el medio terrestre circundantes.

Las macrófitas acuáticas desempeñan un papel importante en la estructuración de las comunidades en los medios acuáticos. Se considera que la estructura del hábitat influye en la abundancia y diversidad de las especies locales (Warfe *et al.* 2008). En este sentido, la estructura física o arquitectura de las macrófitas es un componente importante como estructurador del hábitat, determinando la complejidad y heterogeneidad en los

ambientes acuáticos (Thomaz y Ribeiro da Cunha 2010). La presencia de macrófitas con diferentes arquitecturas y formas de crecimiento suele aumentar la riqueza, la biomasa y la densidad de los macroinvertebrados afectando también la estructura trófica de la comunidad que vive asociada a ella (Scheffer 1998; Thomaz y Ribeiro da Cunha 2010). Las plantas acuáticas sirven como lugares de oviposición, emergencia, pupación, fijación, respiración y como materiales de construcción y alimento (Batzner y Boix 2016). Esta vegetación representa un importante recurso alimenticio para los organismos acuáticos, proporcionando tanto materia orgánica viva (tramas de herbivoría) como muerta (tramas detritívoras) (Thomaz y Ribeiro da Cunha 2010). También sirve como recurso alimenticio indirecto al proporcionar apoyo a la biomasa epifítica (comunidad microscópica que vive adherida a las plantas). Pueden ofrecer protección a los individuos pequeños contra los depredadores visuales (Scheffer 1998). La colonización de las macrófitas por parte de los macroinvertebrados puede estar influenciada o limitada por la biología de los organismos, así como por la arquitectura de las estructuras de las plantas, como las hojas y los tallos (Laurindo da Silva *et al.* 2011). Los cambios en la composición de las especies de macrófitas podrían entonces modificar indirectamente la composición y la biomasa de la comunidad de macroinvertebrados alterando las relaciones bióticas entre las especies. En nuestro país existen algunos estudios en lagunas someras que dan muestra de esta relación y donde se observa una mayor riqueza, diversidad y abundancia de macroinvertebrados con el aumento de la complejidad del hábitat proporcionado por las macrófitas (Poi de Neiff y Neiff 2006, Fontanarrosa *et al.* 2013, Gallardo *et al.* 2017).

Los macroinvertebrados como bioindicadores en ambientes lénticos

Los macroinvertebrados son quizás el grupo más utilizado en el biomonitoreo del impacto humano en agua dulce, entendiendo el biomonitoreo como el uso de variables biológicas para estudiar el medio ambiente (Bonada *et al.* 2006) ya sea para implementar un control de calidad o un programa de vigilancia a través del tiempo. El primer paso del biomonitoreo es la búsqueda del indicador ideal (o bioindicador) cuya presencia, abundancia y/o comportamiento refleje los cambios en la integridad biológica de los ambientes en respuesta a las perturbaciones humanas (Prat *et al.* 2009, USA EPA 2002). En este sentido, los macroinvertebrados bentónicos se utilizan con excelentes resultados en ambientes lóticos (ríos y arroyos) y se desarrollaron una diversidad de métodos e índices. Recientemente Domínguez y colaboradores (2020) publicaron un

trabajo integrador para nuestro país: “La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina. Bases para el análisis de la integridad ecológica” donde se trata en profundidad este tema y se presentan una diversidad de índices adaptados a distintas regiones del país. Allí se pueden consultar una variedad de índices que utilizan los macroinvertebrados bentónicos como indicadores biológicos con excelentes resultados en ambientes lóticos. Complementariamente, sugerimos consultar el manual de muestreo para sistemas lóticos con detalles metodológicos y técnicos para su aplicación (Manual lóticos <https://remaqua.conicet.gov.ar/>).

Por el contrario, el uso de macroinvertebrados en el biomonitoreo de los sistemas lénticos está menos extendido. La aplicación directa de los índices desarrollados para ambientes lóticos en ecosistemas lénticos someros es complicada debido a la complejidad de hábitats que estos últimos poseen (Batzer y Boix 2016). Por otro lado, algunas métricas que suelen ser útiles en los Índices de Integridad Biótica (IIB) para sistemas lóticos (como ser valores de tolerancia y riqueza de Ephemeroptera, Trichoptera, y Plecoptera -ETP) no son aplicables a los ecosistemas lénticos debido a la biota única que se da en ellos (Lunde y Resh 2012), como por ejemplo los insectos plecópteros que no habitan en ambientes lénticos. Aunque existen algunas propuestas de índices multimétricos basados en invertebrados bentónicos en lagos profundos del hemisferio norte, no está claro cómo funcionan como indicadores en lagos y lagunas someras (García-Criado *et al.* 2005).

De cualquier modo, un punto indiscutible es que los invertebrados desempeñan un papel vital en el funcionamiento de los humedales, que las diferencias en los requisitos ambientales entre los taxones producen características comunitarias que reflejan sus condiciones ecológicas y por tanto, son fundamentales para analizar la salud de estos ecosistemas (Zili y Marchesse, 2011). Por este motivo, en la actualidad se busca avanzar en la utilización de macroinvertebrados en programas de evaluación de humedales (cabe aclarar que los ambientes lénticos someros se consideran parte de ellos). En este sentido se están aplicando con éxito protocolos de biomonitoreo basados en macroinvertebrados en distintas zonas del hemisferio norte, para determinar las condiciones ecológicas de ambientes lénticos someros (Lunde y Resh 2012). Entre las métricas utilizadas que arrojaron buenos resultados como indicadores de la calidad del hábitat de estos ambientes lénticos someros, se encuentra la riqueza y abundancia total de macroinvertebrados, la riqueza y abundancia relativa

de Ephemeroptera, Odonata y Trichoptera (EOT), las densidades relativas de Coleópteros, Heterópteros, Chironomidos y Oligoquetos, así como de la abundancia de algunos grupos funcionales (Ortega *et al.* 2004, Stewart y Downing 2008, Lunde y Resh 2012, Gallardo *et al.* 2019). En la Argentina, Rocha y colaboradores (2020) realizaron una revisión a nivel nacional sobre trabajos que utilizan diversos indicadores de la salud ecosistémica como herramienta de evaluación y monitoreo de ambientes de agua dulce en los últimos 24 años (1996-2019). Estos autores registraron 91 publicaciones, de las cuales solo cuatro de ellas corresponden a estudios realizados en ambientes lénticos, y solo en dos de estas se utilizaron los macroinvertebrados como indicadores. El trabajo realizado por Gallardo y colaboradores (2019), que luego de evaluar 22 métricas basadas en atributos estructurales de macroinvertebrados asociados a macrófitas sumergidas, pudieron identificar siete que reflejan significativamente las diferencias entre los ambientes estudiados con diferente grado de impacto producido por la urbanización (número total de taxones, número de EOT, abundancia y proporción de tricópteros y abundancia de quironómidos). El otro trabajo fue realizado por Momo y colaboradores (2006), donde reconocen al número total de taxones de macroinvertebrados como un buen indicador de la calidad de las aguas y destacan la necesidad de realizar muestreos multi-hábitats (que incluyen diversidad de tipos de macrófitas) para la obtención de un buen estimador de la integridad ecológica.

Hasta la fecha no existen adaptaciones de IIB para nuestro país, si bien algunos de ellos como el propuesto por Lunde y Resh (2012) arrojó resultados alentadores para la región de California, deben ser probados y validados para nuestra región. Este índice propone una metodología de muestreo estandarizada que integra distintos tipos de hábitat (vegetación emergente, sumergida, flotante y de aguas libres) presentes en las zonas litorales de los ambientes lénticos someros. Esto permite integrar las comunidades biológicas con distintas afinidades según el tipo de vegetación en función de la cobertura relativa de las mismas. Como fue mencionado al comienzo de este capítulo, las macrófitas juegan un rol fundamental en la estructuración del ensamble de macroinvertebrados y las relaciones tróficas entre las especies.

Por todo lo expresado, resulta claro que los macroinvertebrados acuáticos asociados a las macrófitas deben ser incluidos en los programas de monitoreo y evaluación de los ambientes acuáticos lénticos someros. Alentamos su estudio de manera sistemática y con técnicas de muestreo

estandarizadas, como se describen a continuación, que permitan un correcto análisis e interpretación de los resultados.

Muestreo de macroinvertebrados epifíticos

Antes de ir al campo

Previamente a comenzar a describir muestreadores y métodos de muestreos específicos, debemos hacer hincapié en la importancia de tener claros los objetivos de estudio de manera de asegurarse que los métodos puedan responder a las preguntas asociadas a ese objetivo principal. Además, la técnica de muestreo seleccionada estará estrechamente relacionada con la comunidad objetivo y las características ambientales de los sitios. Por lo tanto, es importante también tener una idea general de cómo es el lugar de estudio, por ejemplo: si presenta un solo tipo de macrófitas o si hay varias especies, si hay cambios estacionales en esa composición de vegetación, si la diversidad de microhábitats puede relacionarse con el objetivo de investigación o monitoreo, entre otros. Por este motivo es recomendable realizar una visita previa al lugar y, de ser posible, un muestreo preliminar. Con el objetivo de estudio claro, se debe establecer el diseño de muestreo, seleccionar los sitios dentro del cuerpo de agua, definir el/los métodos de muestreos a utilizar, el número de réplicas, la frecuencia del muestreo, etc.

En primera instancia se debe definir si se realizará un estudio cuantitativo, semi-cuantitativo o cualitativo. En un estudio cuantitativo el objetivo es determinar la abundancia e identidad de las diferentes especies, géneros o familias que conforman la comunidad objetivo; para esto es preciso tener una referencia de superficie o volumen a la cual extrapolar la abundancia de los organismos. En cambio, en un estudio cualitativo, sólo es relevante la identidad de las especies, géneros y/o familias. Este tipo de muestreo suele utilizarse para estudios de biodiversidad donde se desea obtener una lista de taxones pero no sirve para estudios comparativos entre sitios, localidades o entre fechas de muestreos. Por otro lado, un estudio semi-cuantitativo consta de establecer un esfuerzo de muestreo y repetirlo en todos los sitios, por ejemplo recorrer una distancia específica o un tiempo determinado. Este tipo de muestreo suele ser menos riguroso que los muestreos cuantitativos estrictos, pero suelen disminuir el esfuerzo de trabajo a campo.

Otro aspecto a planificar antes de ir al campo es la frecuencia y momento de muestreo. Este aspecto es relevante porque la comunidad de

macroinvertebrados epifíticos está compuesta por organismos con diferentes ciclos de vida, algunos lo atraviesan por completo en el agua y otros en los que presentan algún estadio terrestre; por lo tanto el momento del año en el que se realice el muestreo reflejará una composición de la comunidad diferente dependiendo de estas variables. Finalmente, se deberá establecer cuántas muestras tomar por cuerpo de agua. En general, se recomienda tomar al menos tres por tipo de ambiente (en nuestro caso por tipo de macrófitas), separadas suficientemente entre ellas para evitar la perturbación producida al momento de la extracción de la muestra. Es decir, si el objetivo es el estudio cuantitativo de la comunidad de macroinvertebrados asociados a las macrófitas emergentes, se tomarán tres muestras específicas de ese hábitat. En cambio, si el cuerpo de agua somero presenta una composición heterogénea de macrófitas y se desea estudiar la comunidad de macroinvertebrados epifíticos en general, debería tomarse al menos tres muestras de cada uno de los hábitats generados por las diferentes macrófitas, o definir el número de muestras que se tome en cada parche de macrófitas en función del porcentaje de cobertura de cada una de ellas sobre el total de la superficie cubierta. Todas estas cuestiones se definirán en función del objetivo de estudio. Establecer la frecuencia del muestreo y la cantidad de muestras nos permitirá hacer una correcta evaluación del material que necesitamos llevar y del tiempo que necesitamos para tomar y procesar las muestras.

Un aspecto relevante al momento de estudiar este tipo de comunidades es el tamaño de poro de la malla con que trabajamos, en la mayoría de los estudios se suele utilizar un tamaño de 500 μm o menos, y muchos estudios ecológicos prefieren mallas de 250 μm . Esta característica definirá la fracción de la comunidad que se estudiará, dado que quedarán retenidos en la red los organismos mayores a la apertura de malla de la red. La red o muestreador deberá poseer siempre las mismas características a lo largo del muestreo y/o de los diferentes cuerpos de agua, si es que estamos comparando entre ellos.

Una vez establecidas las características del tipo de estudio, temporalidad y frecuencia de muestreo, cantidad de réplicas y demás aspectos que respondan a la pregunta de investigación, podemos ir al campo. Debemos recordar que nuestro muestreo no será exclusivo sobre macroinvertebrados, siempre se tomarán registros de otras variables físicas, químicas y/o biológicas por lo que sugerimos repasar el [capítulo 3](#). Recomendamos realizar una lista de materiales y equipos necesarios

para realizar el muestreo, que se verificará antes de salir al campo. También se confeccionará una ficha de campo para el registro de datos en cada sitio de muestreo.

En el campo

Una vez que estemos en el campo es importante registrar en la ficha de campo las características del ambiente o sucesos de ese día, si llovió recientemente, tipo de macrófitas presentes y estimaciones del área de cobertura o porcentaje de cobertura, así como también las variables físicas y químicas medidas con sensores de campo. Es importante también registrar cómo se toma la muestra de macroinvertebrados, tipo de muestreador, número de repeticiones que componen una muestra y la cantidad de muestras que se toman, número de frascos/bolsas/contenedores que utilizamos, etc. Eso nos permitirá llevar un control de la cantidad de muestras que debemos tener al momento de llegar al laboratorio. Además, se recomienda sacar fotos para tener registro de cómo era el cuerpo de agua y las condiciones que presentaba el día de muestreo.

En todos los casos las muestras deben ser fijadas en el campo para evitar la depredación entre los organismos. En algunas ocasiones se pueden separar los organismos de las macrófitas colocando el material en bateas blancas y así realizar una primera separación del material a campo. Sin embargo, como no podemos garantizar que separamos todos organismos y, como en muchas situaciones deseamos conocer la biomasa del material vegetal muestreando, las plantas se llevarán en bolsas plásticas al laboratorio y allí se continuará el proceso de limpieza y secado. El

traslado debe hacerse en oscuridad y frío. Todo el material recolectado debe ser correctamente conservado, los macroinvertebrados recolectados pueden preservarse en el campo con etanol diluido al 70-90% o formol al 4%. Los recipientes contenedores (frascos, bolsas, etc.) deben tener un rótulo externo que contenga la fecha de muestreo, identificación del cuerpo de agua, referencia del sitio de muestreo, número de muestra, nombre del colector de la muestra y toda información acordada previamente. Se debe colocar otro rótulo interno que contenga la misma información, escrito en lápiz en papel vegetal para evitar que se borre con el material fijador y el agua. Este sistema de doble rotulado garantiza que no se pierda la información.

A continuación se describen diferentes metodologías para el estudio de los macroinvertebrados asociados a macrófitas acuáticas y al final de la sección se presenta una tabla resumen con las ventajas y desventajas de los métodos (Tabla 1).

Metodología de muestreo general

Como metodología general para cualquier tipo de macrófita podemos describir el uso de una red de mano con marco tipo D (ver Figura 1), este procedimiento es muy simple y, si tenemos ciertas consideraciones, podrá ser utilizado para comparar entre sitios y ambientes. Si bien esta metodología de muestreo no es la ideal para todo tipo de ambientes, permite capturar una gran diversidad de taxones. Hay que recalcar que el muestreo con red de mano tipo D no es el adecuado para realizar estimaciones cuantitativas. Si bien lo ideal es



Fig. 1. Red de mano con marco D.

conocer previamente el cuerpo de agua bajo estudio e incluso hacer un muestreo piloto, hay veces que es complejo acceder por cuestiones logísticas generales o climáticas, y por lo tanto contar con una red de mano de este tipo permitirá realizar un muestreo cualitativo y/o semi-cuantitativo. Para obtener una muestra cualitativa multi-hábitat, la indicación es realizar pasadas de la red por cada tipo de hábitat presente en el sitio de estudio, intentando abarcar toda la heterogeneidad ambiental y así poder captar la mayor cantidad de taxa posible para obtener una lista de identidad de taxa; familia, género o especie dependiendo del grupo taxonómico y de las claves locales disponibles.

Si se pretende obtener una muestra semi-cuantitativa con este tipo de red, se deberán fijar ciertos parámetros de esfuerzo de muestreo y así posteriormente poder comparar entre los diferentes sitios o tiempos. Las pasadas de red deben ser de una longitud fija y la muestra se compondrá de un número específico de pasadas. Se suelen definir pasadas de red de un metro de longitud y se sugiere realizar 10 pasadas por muestra; sin embargo, estos parámetros podrán variar dependiendo del ambiente y la comunidad estudiada. Este procedimiento debe ser realizado en lo posible por la misma persona en todas las oportunidades de muestreo para evitar diferencias derivadas del modo de trabajo del operador. Otro aspecto relevante para este tipo de metodologías semi-cuantitativas es conservar las mismas características de tamaño de la red (dimensión del marco); y repetir el mismo número de pasadas. De ese modo, la muestra corresponderá a un volumen de agua filtrado específico. Por ejemplo, con una red de marco cuadrado de 0,3 x 0,3 m cada pasada de red de 1 m corresponderá a 0,09 m³ de volumen de agua filtrada. Con este tipo de muestreo se obtendrá una lista taxonómica y las densidades de cada taxa serán expresadas como número de individuos por litro. El esfuerzo de muestreo también puede establecerse manteniendo constante el tiempo de movimiento de la red, por ejemplo 3 minutos por hábitat. En este caso las densidades de organismos se expresarán en función del esfuerzo de captura (tiempo).

Macrófitas sumergidas:

Para un estudio cuantitativo en este tipo de macrófitas se puede utilizar trampas o jaulas cuadradas o circulares (1 m²) que están abiertas por arriba y por abajo, con una malla que encierra los lados (ver tamaño de malla sugerido en descripción general) (Turner y Trexler 1997). Este dispositivo puede adaptarse utilizando un cilindro plástico de 25 cm de diámetro (puede ser un balde al cual se le corta el fondo) que establecerá áreas fijas y restringirá el movimiento de los organismos (ver

figura 2a) (DiFranco 2014). La altura de la trampa varía en función del diseño del estudio, asegurándonos que siempre vaya a superar la columna de agua. Una vez que se fija el dispositivo se remueve el área encerrada en la trampa/cilindro para disociar los macroinvertebrados de la vegetación. Los organismos que se encuentran dentro del dispositivo pueden ser extraídos con una red de marco D, redes manuales más pequeñas o redes de cerco. La red de cerco consiste en un marco de 1 x 0,5 metros con una red extendida a través de él. Se utiliza la red de cerco hasta que en dos lances consecutivos no se atrape ningún organismo, y luego se muestrea con redes de mano, hasta que en 10 pasadas consecutivas no se capture ningún macroinvertebrado. Todas las redes deben tener el mismo tamaño de poro. Los organismos recolectados con ambas técnicas se conservan todos juntos para su identificación y enumeración. La densidad de organismos se expresa como el número de individuos por m² relativizada al área de la trampa. Finalizado el muestreo de macroinvertebrados, se puede retirar la vegetación sumergida cortando los tallos a nivel del sustrato y llevarla al laboratorio para una revisión final, identificación y estimar la biomasa vegetal.

Con el mismo objetivo de muestrear un área conocida recolectando la vegetación y los macroinvertebrados asociados, se puede utilizar un muestreador en forma de caja de 50 x 50 cm de base y unos 75 cm de altura, cuyas paredes son reemplazadas por red de abertura de malla adecuada (ver arriba) y en su base se desliza una placa de metal con un borde cortante o se corta la vegetación con tijeras y se cierra el muestreador (Gerking 1957) (ver figura 2b). El muestreador entero se levanta y se recolecta el material retenido. Este tipo de muestreador es conocido como muestreador de Gerking. El material recolectado se limpia y procesa en el laboratorio siguiendo las metodologías descriptas más adelante. Con esta metodología se puede expresar el número de organismos en función del peso seco de las plantas recolectadas.

Otra alternativa es utilizar un dispositivo diseñado por Kornijów (1998) que permite coleccionar la comunidad de macroinvertebrados asociados sin perturbar significativamente el ambiente, al evitar la resuspensión de sedimento y la remoción de grandes cantidades de vegetación. Este muestreador consiste en un cilindro de acrílico cortado longitudinalmente a la mitad (0,5 cm de grosor de la pared, 32 cm de largo y 13 cm de diámetro) (ver figura 2c). Los extremos del tubo también se encuentran sellados por acrílico de 0,5 cm de grosor. Las mitades presentan dos aberturas (10 x 15 cm cada una) cubierta con red de abertura de



Fig. 2. Ejemplos de dispositivos para muestrear macroinvertebrados asociados a macrófitas sumergidas. a: dispositivo cilíndrico. b: Esquema muestreador de Gerking. c: Dispositivo diseñado por Kornijów (Extraído de Kornijów 1998).

mallla definida (ver comentarios generales). Las mitades se unen a través de bisagras que permiten abrir y cerrar el muestreador; un burlete colocado en todo el perímetro de las mitades permite que al cerrarlo la muestra permanezca dentro. El muestreador debe sumergirse abierto hasta el punto de interés. Una vez que se encuentra al nivel de las macrófitas se debe de cerrar muy lentamente para evitar el disturbio del entorno. El dispositivo debe elevarse de forma horizontal hasta la superficie, donde se cortan los tallos que exceden los límites del cilindro. El exceso de agua saldrá por las aperturas con red. Finalmente, el material colectado se deposita en bolsas o frascos. Se recomienda pasar agua de afuera hacia adentro para desprender los organismos que hayan podido quedar pegados a las paredes del cilindro. Este muestreador puede utilizarse en ambientes someros de hasta 0,5 m de profundidad. Sin embargo, las dimensiones del mismo pueden modificarse para adaptarse a la estructura de las plantas o los tamaños de los organismos que se desean estudiar. Las muestras se llevan al laboratorio donde serán procesadas.

Si se desea obtener una muestra cualitativa o semi-cuantitativa se puede utilizar una red de marco D y proceder de la manera descrita en metodología general.

Macrófitas flotantes libres:

Dependiendo del ambiente y del tamaño de las macrófitas flotantes libres, la comunidad asociada puede muestrearse de diferentes maneras.

Si deseamos realizar un estudio cuantitativo, al igual que para las macrófitas sumergidas, se puede utilizar trampas o jaulas cuadradas o circulares.

Otra metodología de muestreo sugerida consiste en sumergir verticalmente una red, una vez debajo de las raíces de las macrófitas se coloca horizontal a la superficie y se levanta atrapando las macrófitas y la comunidad de macroinvertebrados asociados; esta maniobra debe de hacerse con sumo cuidado para evitar la pérdida de los organismos más activos. La red puede ser de forma variable, cuadrada con un marco lateral (ver Figura 3) o una red tipo D (ver Figura 1); lo importante es conocer el área de arrastre de la misma puesto que la densidad de los organismos se expresa como número de organismos por m^2 (Kouamé *et al.* 2011; Poi de Neiff *et al.* 1997, Poi *et al.* 2020). Esta acción se debe repetir al menos tres veces, obteniendo 3 submuestras que combinadas, constituyen una muestra.

Si se desea obtener una muestra cualitativa o semi-cuantitativa se puede utilizar una red de marco D y se procederá de la manera descrita en metodología general.

Macrófitas flotantes arraigadas:

Este tipo de macrófitas presentan una zona basal, asociada al fondo del cuerpo de agua, y una zona apical flotante. Para estudiar la comunidad asociada a este tipo de macrófitas, se puede seguir la metodología propuesta por Melo y colaboradores

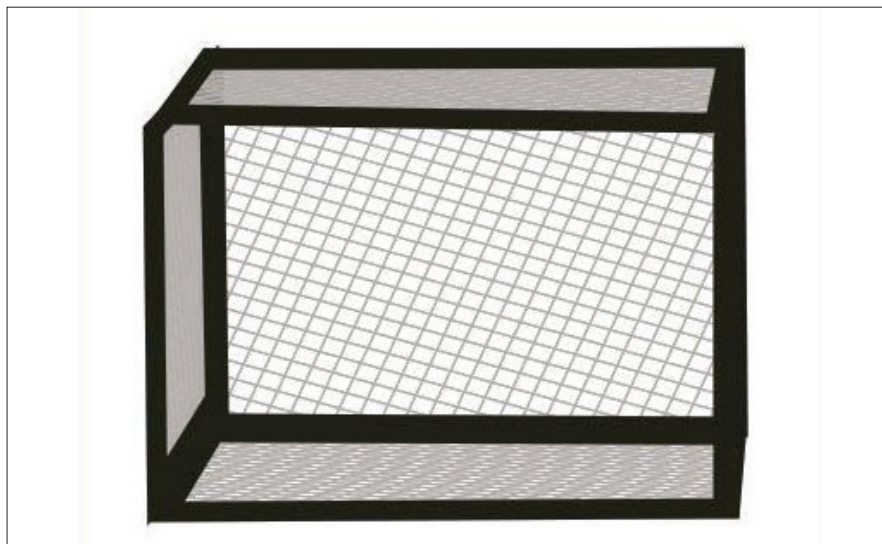


Fig. 3. Esquema de marco muestreador para macrófitas flotantes libres.

(2004) que sugieren cortar un tallo en la parte basal, y colocando cuidadosamente la red por debajo elevar hacia la superficie (ver figura 4) del mismo modo que la se describe en el ítem b de macrófitas flotantes libres. De esta manera se minimiza la pérdida de material, que se almacena en bolsas plásticas y se preserva con el líquido fijador seleccionado. Posteriormente las muestras serán procesadas en el laboratorio.

Plantas emergentes:

Estas macrófitas constan de una parte asociada al sedimento (rizoma/raíces) y una parte emergente que puede o no superar la superficie del agua. Para estudiar la comunidad de macroinvertebrados asociados se puede seguir el procedimiento descrito por Kornijów y Keiresalo (1994). En esta metodología, se utiliza un tubo acrílico de 100 cm de largo y 4 cm de diámetro en cuyo extremo inferior se acopla un tamiz. El tamiz consta de dos secciones de 2,5 cm de alto entre las cuales se sostiene una red (ver figura 5). En primer lugar, se selecciona un tallo al azar

y se corta la sección que supera la superficie del agua (parte “aérea”). Luego se desliza el tubo sobre el tallo elegido hasta llegar al nivel del sedimento y allí con un elemento afilado se corta el otro extremo del tallo. Se coloca un tapón en la parte superior del tubo y en la parte inferior se asocia el tamiz. Al estar el dispositivo completamente acoplado, se eleva verticalmente, filtrándose de esta manera el agua contenida en el tubo. Al desconectarse el tamiz hay que revisar que ningún organismo haya quedado asociado al tallo; de ser así, raspar y colocarlos junto a los organismos retenidos en el tamiz. Finalmente, los organismos se preservan en un frasco con el fijador adecuado. Este procedimiento se repite en 10 tallos aproximadamente, conformando así una muestra (Kornijów *et al.* 2021). Se aconseja tomar al menos tres muestras por ambiente o sección de la laguna en estudio. Los tallos se conservan en recipientes plásticos (sin agua) y en frío hasta llegar al laboratorio, para su posterior procesamiento (ver sección “En el laboratorio”).

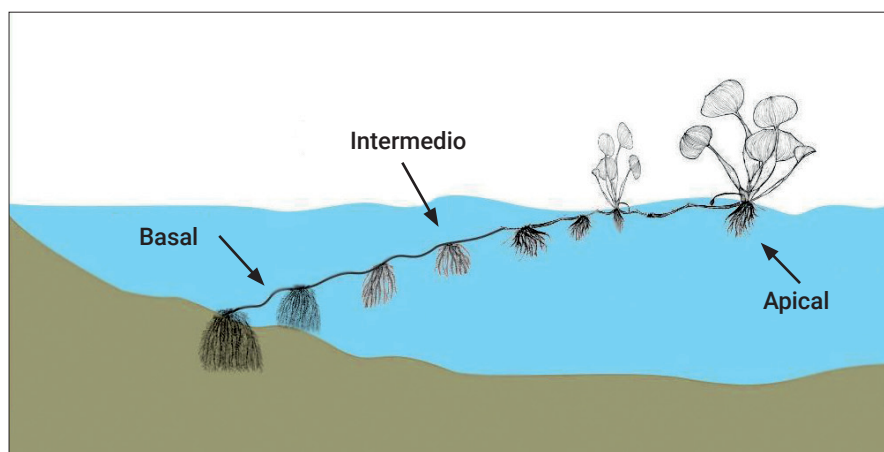


Fig. 4. Esquema de una planta flotante arraigada mostrando la masa radicular en secuencia desde la parte basal a la apical.

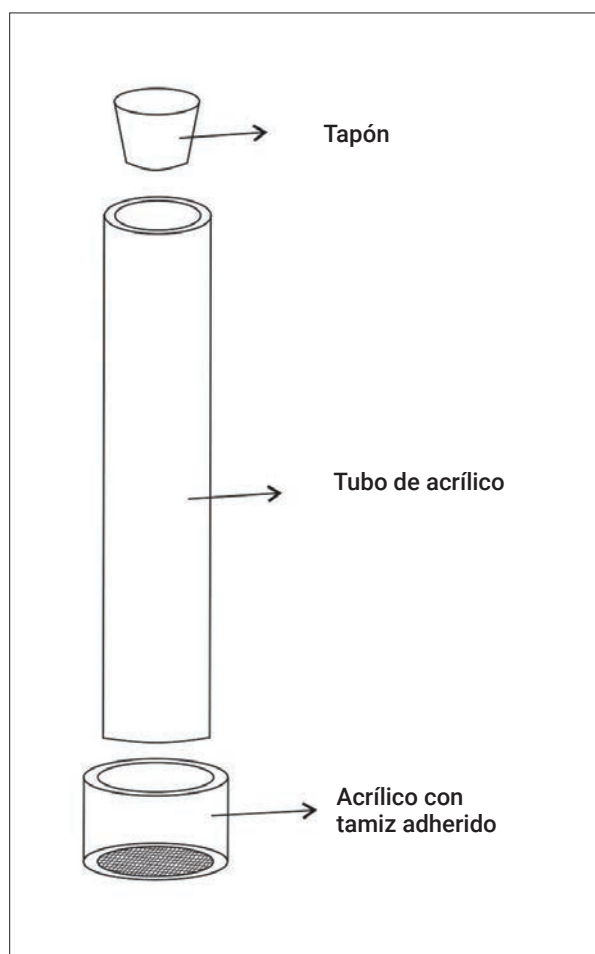


Fig. 5. Esquema del dispositivo muestreador para plantas emergentes diseñado por Kornijów y Keiresalo (1994)

En el laboratorio

Una vez en el laboratorio, el primer paso es cotejar con las planillas de campo el número total de muestras que debemos tener para procesar y ordenar. Se sugiere llevar una planilla de control para ir registrando las muestras procesadas y listas para su posterior identificación.

Si se trajo material vegetal se procederá a separar los macroinvertebrados de las macrófitas. Esto puede hacerse lavando minuciosamente la vegetación sobre un tamiz de tamaño acorde, o en una batea blanca, de ser necesario se trabajará bajo lupa. Todo este proceso de separación, lavado y /o concentración de las muestras debe realizarse con elementos que minimicen la pérdida de organismos, por lo tanto se recomienda utilizar tamices con apertura de poro igual o menor a la que presentaba el muestreador utilizado. Finalmente, los organismos se conservarán en frascos con cierre hermético (de vidrio o plástico tipo PET) con etanol al 70-95 %, manteniendo los rótulos de origen. Si se fijo a campo con formol 4%, en el laboratorio se debe cambiar el fijador por etanol al

70-95%. Las etiquetas internas y externas son muy importantes para distinguir las muestras, deberán estar especificadas la fecha de muestreo, identificación del cuerpo de agua, referencia del sitio de muestreo, número de muestra, el colector de la muestra y toda información acordada previamente. Es recomendable revisar estos frascos cada cierta cantidad de tiempo para verificar que el nivel de alcohol o fijador seleccionado sea el correcto para preservar la muestra y evitar la desecación y pérdida del material.

Según el objetivo de estudio establecido, las macrófitas deben ser identificadas (se recomienda hacer un registro fotográfico y una descripción de su estructura y condición) para luego ser secadas en estufa a 60°C hasta lograr peso constante. La densidad de organismos en este caso, se puede expresar como número de individuos cada 100 gramos de peso seco de planta o unidad de referencia apropiada. En el caso de haber muestreado tallos de macrófitas emergentes, se mide el diámetro y altura de cada tallo para estimar la superficie colonizable (diámetro x altura x 3,14). La densidad de los diferentes organismos identificados se expresa entonces como número de individuos por 0,1 m² de superficie vegetal.

Los macroinvertebrados serán identificados y contados bajo lupa estereoscópica utilizando claves locales hasta el nivel taxonómico elegido para responder a la pregunta de investigación (grandes grupos, familia, género y/o especie según corresponda) dependiendo también de la experiencia del observador (técnico) y la bibliografía disponible para cada grupo taxonómico. Las principales guías que pueden utilizarse en estos ambientes son: Domínguez y Fernández (2009); Lopretto y Tell (1995); Merritt *et al.* (2008) y Damborenea *et al.* (2020). En ellas aparecen claves para determinar grandes grupos y también presentan guías particulares para identificar familias, género, incluso especies en algunos casos. Además, estas guías presentan la información para poder asignar grupos funcionales a cada taxa.

Se deben registrar cuidadosamente en planillas, los organismos identificados y contados en cada muestra y sitio, así como también se debe registrar el volumen de agua y/o área muestreada, y/o la cantidad (peso seco) e identidad de las macrófitas colectadas para poder realizar los cálculos de densidades relativas en el caso que corresponda.

Muestreador	Tipo de vegetación	Tipo de estudio	Ventajas	Desventajas	Construcción de la muestra	Cantidad de muestras por hábitat	Densidad/lista	Cita
Red D	S/F/E/FAR	Semi-Cuantitativo	Fácil construcción y transporte, versátil, puede captar más biodiversidad que otros métodos	Pérdida de material lateralmente; dependiendo el tamaño del poro y la cantidad de vegetación la malla puede obturarse y generar un efecto "balde" filtrando menos de lo que estamos estimando.	Al menos 10 pasadas o 3 minutos de recorrido constante	Al menos 3 por cada tipo de macrófitas	Número de individuos por volumen o tiempo	Di Franco 2014; Lunde y Resh 2012
Red D	S/F/E/FAR	Cualitativo	Fácil construcción y transporte, versátil, puede captar más biodiversidad que otros métodos	Pérdida de material lateralmente; dependiendo el tamaño del poro y la cantidad de vegetación la malla puede obturarse y generar un efecto "balde" filtrando menos de lo que estamos estimando.	Pasadas de red por todos los hábitats de interés	No se define	Lista de especies	Di Franco 2014
Trampas o jaulas	S/F/E	Cuantitativo	Delimita el área de muestreo, fácil de construir y transportar	Pérdida de material, limitado a orillas poco profundas (menores al alto del tubo)	Remoción del área definida por la trampa durante un tiempo definido y constante	Al menos 3 por hábitat	Número de individuos por área (m ²)	Turner y Trexler 1997; Di Franco 2014
Muestreador tipo Gerking	S/E	Cuantitativo	Delimita el área de muestreo, permite un muestreo cuantitativo en vegetación rígida	Compleja manipulación, demanda más tiempo, pérdida de organismos activos si no se opera con rapidez	Volumen colectado por el dispositivo	Al menos 3 por hábitat	Número de individuos por gramos de peso seco de vegetación	Gerking 1957; Anderson et al. 2013
Tubo articulado	S	Cuantitativo	Fácil construcción y transporte, versátil, delimita el área de muestreo, poco disturbio ambiental al tomar la muestra	Compleja manipulación, demanda más tiempo, pérdida de organismos activos si no se opera con rapidez	Volumen colectado por el dispositivo	Al menos 3 por hábitat	Número de individuos por gramos de peso seco de vegetación	Kornijow 1998
Red con marco	F/FAR	Cuantitativo	Fácil construcción y transporte, versátil, delimita el área de muestreo	Pérdida de organismos activos o captura de individuos de otra comunidad en el arrastre de la red o en la parte aérea de la vegetación, debe operarse con rapidez	- Muestra combinada de 3 pasadas de red para F - 10 tallos conforman una muestra para FAR	Al menos 3 por hábitat	Número de individuos por área	- Kouamé et al. 2011; Poi et al. 1997, 2020 - Melo et al. 2004
Cilindro muestreador	E	Cuantitativo	Fácil construcción y transporte, versátil, se pueden cambiar los tamices del capuchón según el objetivo	Pérdida de organismos activos o captura de individuos de otra comunidad dentro del tubo	10 brotes conforman una muestra	Al menos 3 por sitio	Número de individuos por superficie vegetal	Kornijow 1994

Tabla 1. Muestreadores para macroinvertebrados asociados a diferentes tipos de macrófitas acuáticas sus ventajas y desventajas. Tipos de vegetación: S: sumergidas, F: flotantes libres, E: emergentes y FAR: flotantes arraigadas.

Bibliografía

Anderson, J.T., F. L. Zilli, L. Montalto, M.R. Marchese, M. McKinney, Y. L. Park. 2013 Sampling and Processing Aquatic and Terrestrial Invertebrates in Wetlands. En: Anderson, J., C. Davis. (Eds) Wetland Techniques: Volume 2 Organisms. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6931-1_5

Batzer, D., D. Boix, 2016. Chapter 1. An introduction to freshwater wetlands and their invertebrates. En: Invertebrates in freshwater wetlands. An international perspective on their ecology. Batzer D., Boix, D. Editores, Springer 1- 24 pp

Bazzanti, M., B. V. Della, F. Grezzi. 2009. Functional characteristics of macroinvertebrates communities in Mediterranean ponds (Central Italy): influence of water permanence and mesohabitat type. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 45: 29-39. <https://doi.org/10.1051/limn/09005>

Bonada, N., N. Prat, V.H. Resh, B. Statzner. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Annual Review of Entomology* 51: 495-523. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151124>

Damborenea, C., D. C. Rogers, J. H. Thorp. (Eds) (2020) Keys to Neotropical and Antarctic Fauna. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates -Volume V. Fourth edition. Elsevier. Academic. Press, San Diego, California.

de Szalay, F.A., V. H. Resh. 2000. Factors influencing macroinvertebrate colonization of seasonal wetlands: responses to emergent plant cover. *Freshwater Biology* 45: 295-308. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2000.00623.x>

DiFranco, J. L. 2014. Standard Operating Procedures. Protocols for Sampling Aquatic Macroinvertebrates in Freshwater Wetlands. Bureau of Land and Water Quality. DEPLW0640A-2014. Disponible en: https://www.maine.gov/dep/water/monitoring/biomonitoring/sop_wetland_invertebrates2019_20.pdf

Domínguez, E., H. R. Fernández H.R. (Eds). 2009. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: sistemática y biología. Tucumán: Fundación Miguel Lillo.

Domínguez, E., A. Giorgi, N. Gómez. (Eds) 2020. La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: bases para el

análisis de la integridad ecológica. 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Eudeba. Libro digital. <https://remaqua.conicet.gov.ar/1er-libro-de-la-red/>

Fontanarrosa, M.S., G. Chaparro, I O'Farrell. 2013. Temporal and spatial patterns of macroinvertebrates associated with small and medium-size free-floating plants. *Wetlands* 33: 47-63. <https://doi.org/10.1007/s13157-012-0351-3>

Gallardo, L.I., R. P. Carnevali, E. A. Porcel, A. S. G. Poi. 2017. Does the effect of aquatic plant types on invertebrate assemblages change across seasons in a subtropical wetland? *Limnetica* 36: 87-98. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/56217>

Gallardo, L.I., J. M. Coronel, A.S.G. Poi. 2019. Urban rain-fed lakes: macro-invertebrate assemblages associated with *Egeria najas* as indicators of biological integrity in wetlands of Corrientes Province (Argentina). *Biodiversity and Conservation* 28: 1549-1568. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01742-7>

García-Criado, F., E. Bécares, C. Fernández-Aláez, M. Fernández-Aláez. 2005. Plant-associated invertebrates and ecological quality in some Mediterranean shallow lakes: implications for the application of the EC Water Framework Directive. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15: 31-50. <https://doi.org/10.1002/aqc.641>

Gerking, S.D. 1957 A method of sampling the littoral macrofauna and its application. *Ecology* 38: 219-226. <http://www.jstor.org/stable/1931680>

Kornijów, R. 1998 Quantitative sampler for collecting invertebrates associated with submersed and floating-leaved macrophytes. *Aquatic Ecology* 32: 241-244. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1009972525967>

Kornijów, R., T. Keiresalo. 1994. A simple apparatus for sampling epiphytic communities associated with emergent macrophytes. *Hydrobiologia* 294:141-143. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00016854>

Kornijow, R., M. Dukowska, J. Leszczyńska, C. Smith. E. Jeppesen, L. A. Hansson, M. Ketola, K. Irvine, T. Noges, M. Sahuquillo, M.R. Miracle, E. Gross, T. Kairesalo, E. van Donk, E. de Eyto, F. Garcia-Criado, M. Grzybkowska, B. Moss. 2021. Distribution patterns of epiphytic reed-associated macroinvertebrate communities across European shallow lakes. *Science of the Total Environment* 760: 144117.

- Kouamé, M.K., M. Y. Dietoa E.O. Edia, S. K. Da Costa, A. Ouattara, G. Gourène, 2011. Macroinvertebrate communities associated with macrophyte habitats in a tropical man-made lake (Lake Taabo, Côte d'Ivoire). *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 400, 03. DOI:10.1051/kmae/2010035
- Laurindo da Silva, F., H. R. Neves Oliveira, S. Cunha Escarpinati, A. A. Fonseca-Gessner, M. C. de Paula. 2011. Colonization of leaf litter of two aquatic macrophytes, *Mayaca fluvialis* Aublet and *Salvinia auriculata* Aublet by aquatic macroinvertebrates in a tropical reservoir. *Ambiente & Água—An Interdisciplinary Journal of Applied Science* 6: 30-39. Doi: 10.4136/1980-993X. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92817183003>
- Lopretto, E.C., G. Tell (Eds). 1995. Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio. First Edition. Ediciones Sur, La Plata, Argentina.
- Lunde, K.B., V. H. Resh. 2012. Development and validation of a macroinvertebrate index of biotic integrity (IBI) for assessing urban impacts to Northern California freshwater wetlands. *Environmental Monitoring and Assessment* 184: 3653-3674. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2214-4>
- Melo, S.M.D.E., A. M. Takeda, M. Grzybkowska, A. Monkolski. 2004. Distribution of ephemeropteran nymphs associated with different stolon sections of *Eichhornia azurea* (Schwartz) in two floodplain lakes of the upper Paraná River (Brazil). *Polish Journal of Ecology* 52: 369-376. <https://www.in-fona.pl/resource/bwmeta1.element.baztech-article-BGPK-0833-3286>
- Merritt, R. W., K. W. Cummins, M. B. Berg, (Eds). 2008. An Introduction to the Aquatic Insects of North America. 4th (Edition). Kendall/Hunt Publishing, Dubuque, Iowa, USA.
- Momo, F.R., M. A. Casset, P. Gantes, A.M. Torremorell, R. M. Perelli. 2006. Relationship between micro-invertebrates and macrophytes in a wetland: Laguna Iberá (Corrientes, Argentina). Implications for Water Quality Monitoring. *Environmental Monitoring and Assessment* 112: 271-281. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-1078-5>
- Ortega, M., J. Velasco, A. Millán, C. Guerrero. 2004. An ecological integrity index for littoral wetlands in agricultural catchments of semiarid mediterranean regions. *Environmental Management* 33: 412-430. DOI: 10.1007/s00267-003-3059-6
- Poi de Neiff, A., R. Carignan. 1997. Macroinvertebrates on *Eichhornia crassipes* roots in two lakes of the Paraná River floodplain. *Hydrobiologia*, 345: 185-196. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1002949528887>
- Poi de Neiff, A., J. J. Neiff. 2006. Riqueza de especies y similaridad de los invertebrados que viven en plantas flotantes de la planicie de inundación del río Paraná. *Interciencia* 31: 220-225. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000300013&lng=es&nrm=iso
- Poi, A.S.G., J. J. Neiff, S. L. Casco, L.I. Gallardo. 2020. Macroinvertebrates of *Eichhornia crassipes* (Pontederiaceae) roots in the alluvial floodplain of large tropical rivers (Argentina). *Revista de Biología Tropical* 68: 104-115. <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v68is2.44342>
- Prat, N., B. Ríos, R. Acosta, M. Rieradevall. 2009. Capítulo 20: Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas. En: *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos*. Domínguez E. y Fernández H. (Eds). Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina. 631-654 pp
- Rocha, L., C. Hegoburu, A. Torremorell, C. Feijoó, E. Navarro, H. R. Fernández. 2020 Use of ecosystem health indicators for assessing anthropogenic impacts on freshwaters in Argentina: a review. *Environmental Monitoring and Assessment* 192, 611. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08559-w>
- Scheffer, M. 1998. Ecology of shallow lakes. Chapman & Hall, London
- Stewart T.W., J. A. Downing. 2008. Macroinvertebrate communities and environmental conditions in recently constructed wetlands. *Wetlands* 28: 141-150. <https://doi.org/10.1672/06-130.1>
- Thomaz, S.M., E. Ribeiro da Cunha. 2010. The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages composition and biodiversity. *Acta Limnologica Brasiliensia* 22: 218-236. <http://dx.doi.org/10.4322/actalb.02202011>
- Thorp, J.H. 2015. Chapter 4. Functional Relationships of Freshwater Invertebrates. En: *Ecology and General Biology. Freshwater invertebrates*. Thorp J.H., Covich, A.P. (Editores) Fourth edition. Academic Press, San Diego, California. 65-82 pp.
- Turner, A.M., J. C. Trexler. 1997. Sampling Aquatic Invertebrates from Marshes: Evaluating the Options. *Journal of the North American Benthological Society* 16: 694-709. <http://www.jstor.org/stable/1468154>

U.S. EPA. 2002. Methods for Evaluating Wetland Condition: Developing an Invertebrate Index of Biological Integrity for Wetlands. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA-822-R-02-019.

Warfe, D.M, L.A. Barmuta, S. Wotherspoon. 2008. Quantifying habitat structure: surface convolution and living space for species in complex environments. *Oikos* 117: 1764–1773. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.16836.x>

Zilli, F.L., M. R. Marchese. 2011. Patterns in macroinvertebrate assemblages at different spatial scales. Implications of hydrological connectivity in a large floodplain river. *Hydrobiologia* 663: 245-257. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-010-0576-1>

CAPÍTULO 11

Comunidad perifítica de ambientes lénticos someros

Haydée N. Pizarro y María Solange Vera

Introducción

Wetzel (1983) define al perifiton como la “comunidad microscópica compleja formada por bacterias, hongos, algas, protozoos y animales, junto a detritus orgánico e inorgánico, todo inmerso en una matriz mucilaginosa, que vive adherida a un sustrato sumergido, orgánico o inorgánico, vivo o muerto”. La matriz mucilaginosa en donde están incluidos todos los organismos y otras partículas orgánicas e inorgánicas está compuesta por sustancias poliméricas extracelulares (SPE). Las SPE aparecen en las primeras etapas de la colonización del sustrato, principalmente generadas por bacterias, y permiten el almacenamiento de nutrientes y enzimas extracelulares que hidrolizan macro-moléculas de compuestos orgánicos haciéndolas disponibles para ser tomadas por las bacterias, algas, hongos y

otros heterótrofos incluidos invertebrados multicelulares pero también microscópicos (ej. Rotíferos) que conforman la comunidad. En la Figura 1 se esquematizan las principales comunidades biológicas en una laguna en donde se observa al perifiton asociado a plantas macrófitas.

La comunidad adquiere nombres específicos según el tipo de sustrato en el que se desarrolla, a saber (nombre/tipo de sustrato):

epilíton: piedras, rocas, sustratos duros principalmente inorgánicos.
epixílon: madera
epipsammon: arena
epizoon: animales
epifíton: macrófitas sumergidas o algas grandes
epipelón: limo o sedimentos finos orgánicos

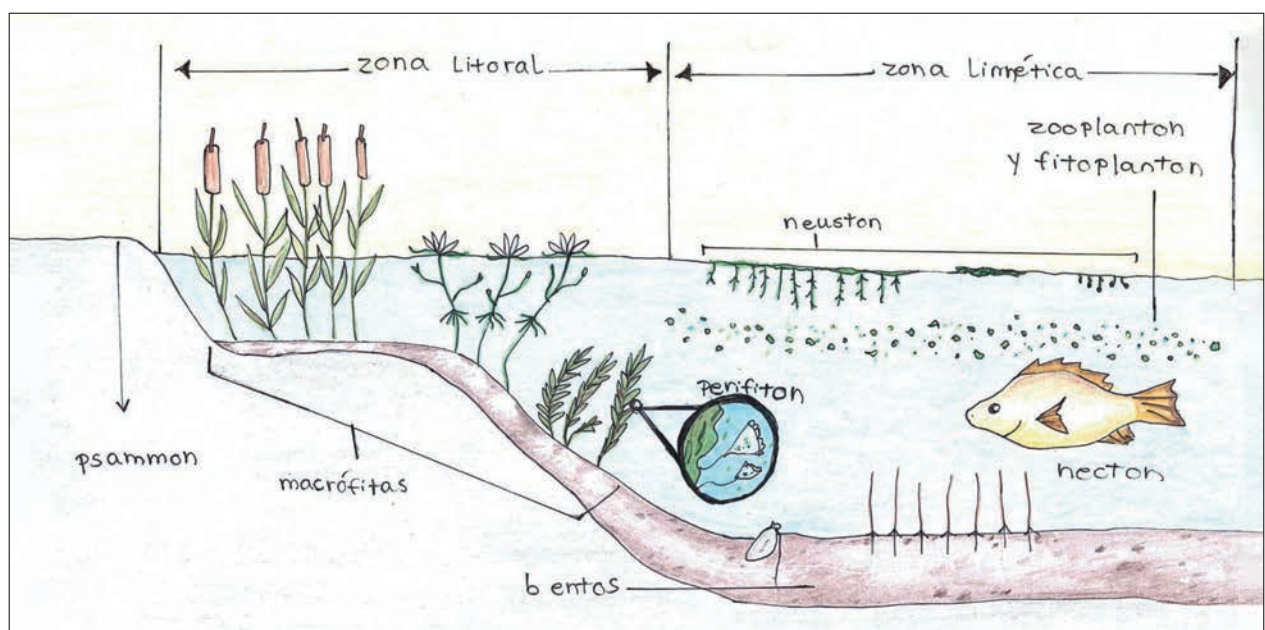


Fig. 1. Esquema de las principales comunidades en un cuerpo de agua dulce. (Adaptado a partir de Encyclopaedia Britannica).

El término **biofilm** se utiliza muchas veces como sinónimo. Según Wimpenny (2000), se define al biofilm como la “comunidad formada en la interfase que separa un medio líquido de un medio sólido, temporal y espacialmente heterogénea, formada por una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) y bacterias”. Generalmente, son comunidades ricas en bacterias, hongos y protozoos, pero no algas, ya que también se incluyen a las que tapizan cavidades bucales y epitelios digestivos en mamíferos. Se prefiere utilizar este término en temas relacionados con tratamiento de aguas residuales, tecnología de potabilización de agua, procesos en alimentos y odontología.

Una comunidad muy presente en sistemas someros es la denominada **metafiton**. Está conformada por algas filamentosas microscópicas adheridas al sustrato sumergido, que crecen en masa formando matas macroscópicas, generalmente asociadas a la zona litoral de los cuerpos de agua. También suele llamarse **plocon** (cuando la masa macroscópica está aún adherida al sustrato) y **heteroplocon** (cuando la masa se desprende del sustrato y deriva en la superficie del cuerpo de agua).

La estructura y funcionamiento del perifiton tiene dependencia tanto del **sustrato** en el que se desarrolla como de la **columna de agua** en la que se encuentra. En la Figura 2 se esquematiza epifiton, sus componentes e interacciones tanto entre éstos como con el sustrato y la columna de agua.

El perifiton en sistemas someros juega un papel muy importante en la dinámica general de estos cuerpos de agua. Al tener gran proporción de zona litoral en relación a la limnética, la disponibilidad de sustratos bien iluminados es muy alta por lo que el perifiton puede representar una alta proporción en la producción primaria general del sistema (Vadeboncoeur y Steinman, 2002).

Metodología de estudio

Sustratos naturales y artificiales

Una de las principales dificultades que presenta el estudio del perifiton es su cuantificación, tanto en relación a variables de estructura (i.e. abundancia de organismos, composición taxonómica) como de funcionamiento (i.e. producción primaria), ya que se deben referir a unidades de superficie del sustrato. Para algunos tipos de sustratos naturales, el cálculo de la superficie se observa como relativamente sencillo. Tal es el caso del epifiton en macrófitas como *Schoenoplectus californicus* (totora), ya que se lleva la superficie colonizada a un cuerpo geométrico (cilindro) calculando sencillamente la superficie a partir de la que se toma la muestra. Para el caso de otras macrófitas y otro tipo de sustratos como piedras, se puede también realizar el cálculo de la superficie colonizada a través de diferentes métodos tanto manuales como mediante analizadores de imágenes.

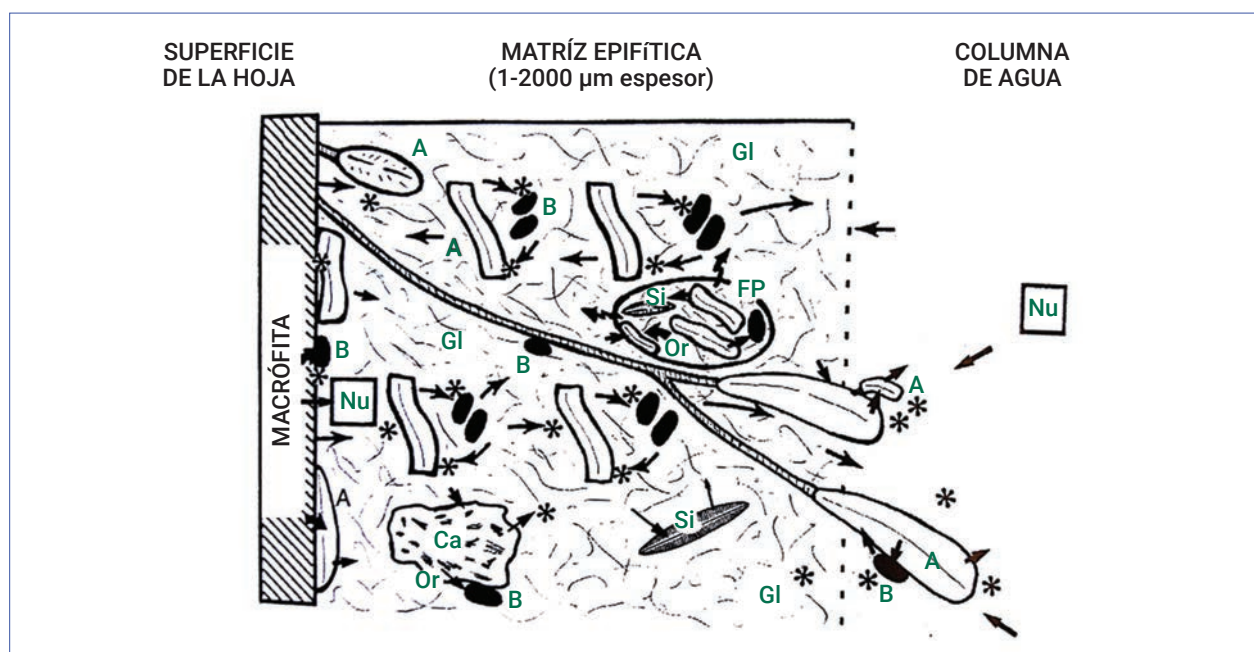


Fig. 2. Esquema de epifiton con sus componentes e interacciones (flechas). A: algas; B: bacterias; Gl: glicoproteínas producidas por microorganismos; Ca: carbonato de calcio; Si: frústulos de sílice de diatomeas muertas; Or: detritus orgánico; *: enzimas excretadas; FP: pellets fecales; Nu: formas orgánicas e inorgánicas de C, fósforo y nitrógeno. Tomado de Burkholder (1996).

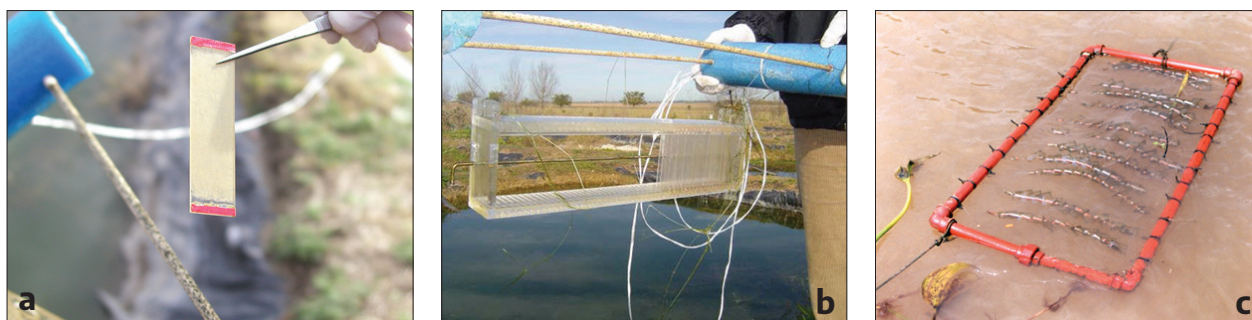


Fig. 3. Algunos sustratos artificiales y perifitómetros. a. vidrio portaobjetos esmerilado; b. perifitómetro de acrílico con vidrios portaobjetos (sustrato artificial); c. perifitómetro con líneas que sujetan rectángulos de acetato (sustrato artificial). Fotografías Haydée Pizarro.

Una alternativa metodológica muy utilizada para estudiar al perifiton es el uso de **sustratos artificiales**. Los más utilizados son vidrio, acrílico, policarbonato y cerámica. La forma de los sustratos y los dispositivos para sujetarlos, llamados perifitómetros, pueden ser muy variados y dependerá del objetivo de estudio y de las características del sitio en el que se instalarán (Figura 3). La principal ventaja del uso de sustratos artificiales es la posibilidad de medir la superficie colonizada de forma sencilla. Otras ventajas son la capacidad de estudiar ritmos de colonización y sucesión, interacciones entre organismos y poblaciones, analizar diferencias espaciales y temporales de la comunidad con independencia del sustrato, entre otras.

Variables de estructura del perifiton

Composición taxonómica de los microorganismos: dependiendo del tipo de sustrato, se podrán seguir diferentes metodologías. En el caso de sustratos de pequeño tamaño, como escamas de *Ricciocarpus* sp. se realiza observación directa bajo microscopio óptico. Para sustratos de mayor tamaño, se puede desprender el material a observar por ultrasonido (caso raíces de *Azolla* sp.). Para sustratos de mayor tamaño, se toma una muestra de superficie extrayendo el material perifítico mediante cepillo o bisturí llevando el material a un frasco. La observación del material vivo, sin fijar, permite una mejor identificación de ciertas algas, protozoos e invertebrados que pueden deteriorarse al ser fijados. Para conservar la muestra se la fija con solución de formaldehído al 4%. En el laboratorio se procederá a la observación de las muestras utilizando un microscopio óptico compuesto binocular, como fue indicado para la comunidad fitoplanctónica.

Abundancia de microorganismos: la cuantificación de los organismos requiere de la extracción de una muestra de perifiton a partir de una superficie conocida. Dependiendo del sustrato, se aplicarán diferentes metodologías para el cálculo de la superficie de la que se obtiene la muestra de perifiton. Para el recuento de la fracción algal, la muestra es fijada con

solución acidificada de lugol al 1 %. Estas muestras deben conservarse en frío (4°C) y oscuridad. Los recuentos se realizan mediante un microscopio invertido siguiendo el método de Utermöhl (1958), tal como se procede con el fitoplancton. Con los datos de abundancia por especie se puede calcular el biovolumen siguiendo a Hillebrand et al. (1999); Vadrucci et al. (2007) y Konoplya y Soares (2011).

Variables de masa: una forma de caracterizar la estructura del perifiton y que nos permite inferir funcionalidad es a través de sus variables de masa (Figura 4). Si obtenemos una porción de la comunidad, la deshidratamos a estufa, obtenemos el peso seco (PS) que contiene una fracción inorgánica, las cenizas (C), y una fracción orgánica, el peso seco libre de cenizas (PSLC). A partir de la fracción orgánica, se puede estimar la fracción autotrófica, a través de la concentración de clorofila *a* (Cl *a*), siendo el resto masa heterótrofa (conformada por organismos heterótrofos y restos orgánicos de organismos y detritus). Para estimar las distintas fracciones de masa del perifiton: peso seco (PS), cenizas (C) y peso seco libre de cenizas (PSLC), se procede de la siguiente manera: se calcinan previamente en la mufla (550°C) filtros tipo Whatman® GF/C durante 2 horas para luego pesarlos (peso del filtro). Se filtran las muestras de perifiton a través de estos filtros calcinados, los que luego se secan en estufa (60-70°C) hasta peso constante. Por diferencia entre este peso y el peso del filtro se obtiene el PS. Estos filtros secados se calcinan en mufla (550°C, 2 horas), y luego se pesan. Las cenizas (C) se obtienen por diferencia entre este peso y el peso del filtro. El PSLC se obtiene a partir de la diferencia entre el PS y las C (APHA, 2005).

Cálculo de la concentración de clorofila *a*: se puede determinar por fluorometría, que requiere de un fluorómetro, o a través del método espectrofotométrico. Para el caso de este último método, una muestra de perifiton sin fijar se filtra a través de filtros del tipo Whatman® GF/F en oscuridad y se lleva a freezer hasta comenzar con el protocolo

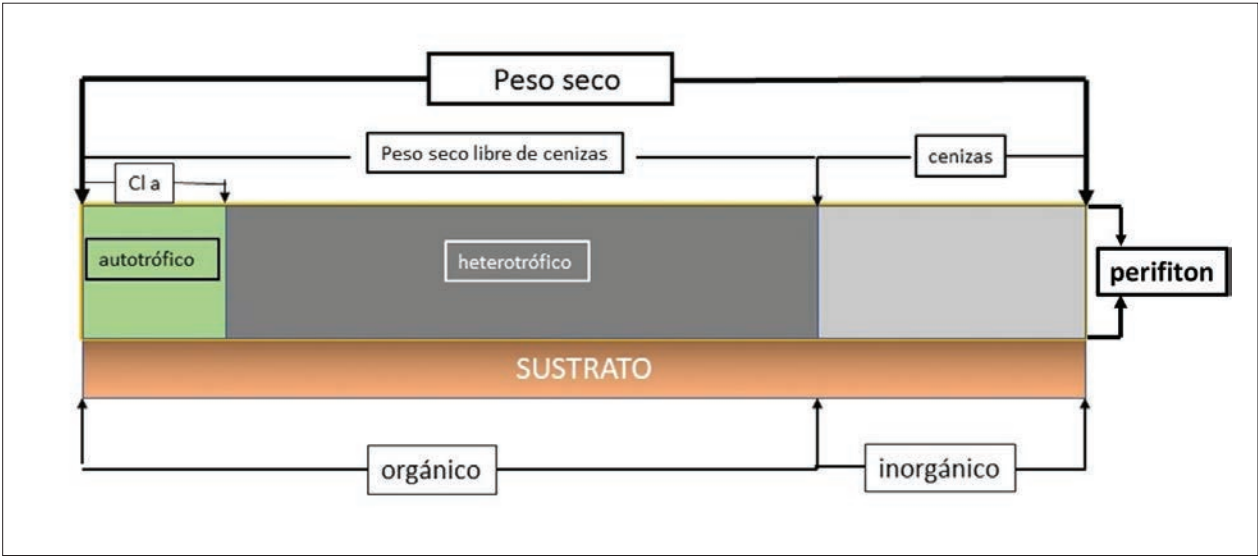


Fig. 4. Esquema de las variables de masa del perifiton.

de extracción. Para esto, se toman los filtros con la muestra, se los corta en trozos y se los coloca en tubos oscuros con tapa hermética y que puedan ser centrifugados. El solvente de extracción puede ser acetona o etanol. Se le coloca a cada tubo 8 ml de etanol caliente (65°C) o de acetona, dejando actuar el solvente toda la noche en oscuridad a 4°C. Finalmente, cada tubo se centrifuga durante 10 minutos a 3.000 rpm, midiendo la absorbancia a 665 y 750 nm antes y luego de acidificar con HCl 1 N, la concentración de clorofila *a* se estima siguiendo las ecuaciones desarrolladas en Marker et al. (1980).

A partir de las variables de masa se puede calcular el índice autotrófico (IA) el que se calcula como el cociente entre el PSLC y la concentración de clorofila *a* perifítica (APHA, 2005; Lowe y Pan, 1996). Esta relación informa sobre si la composición de la comunidad es más autotrófica o heterotrófica: valores superiores a 200 indican una alta proporción de organismos heterotróficos, no clorofílicos y detritus orgánico, por ende, la comunidad es heterotrófica. Otra forma de caracterizar al perifiton es a partir del sistema propuesto por Lakatos (1989) (Tabla 1). Tanto el IA como el sistema de Lakatos, además de la estructura, permiten realizar aproximaciones funcionales de la comunidad.

Variables de funcionamiento

Las metodologías para la medición de la producción primaria se basan en la utilización de botellas o tubos con cierres herméticos, claros y oscuros. La oscuridad en estos dispositivos se obtiene opacando con pintura, cintas u otro elemento que tolere el agua y que garantice la no penetración de luz en su interior. Las botellas o tubos se sujetan con dispositivos *ad hoc* y se los

ubica a una profundidad determinada. La medición de la producción primaria varía según la entidad química a seguir. Dada la ecuación general de la fotosíntesis, $6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$, es posible medir la tasa fotosintética, ya sea por producción de oxígeno, consumo de dióxido de carbono, o por cambios en la concentración de materia orgánica (Wetzel y Likens, 2000). En el caso del CO_2 , la más frecuentemente utilizada es el método del ^{14}C , donde se utiliza una marca radiactiva para medir la cantidad de carbono inorgánico asimilado. Este método tiene la ventaja de ser muy sensible y permite medir valores de fijación de carbono a cantidades muy reducidas, sin embargo, presenta ciertas limitaciones,

TIPO	PESO SECO (PS)	(mg cm ⁻²)
I	perifiton de alta biomasa	>4
II	perifiton de biomasa media	2-4
III	perifiton de baja biomasa	<2
	CENIZAS (C)	(%)
I	perifiton inorgánico	> 75
II	perifiton inorgánico-orgánico	50-75
III	perifiton orgánico-inorgánico	25-50
IV	perifiton orgánico	< 25
	CLOROFILA <i>a</i>	(%)
I	perifiton autotrófico	> 0,6
II	perifiton auto-heterotrófico	0,25-0,6
III	perifiton hetero-autotrófico	0,1-0,25
IV	perifiton heterotrófico	< 0,10

Tabla 1. Clasificación de la comunidad perifítica según los valores de Lakatos (1989).

principalmente que no permite medir la producción primaria neta y respiración (Dokulil, 1984). Además, se dificulta realizar mediciones a campo que requieren de permisos de entes gubernamentales responsables del control de la utilización de elementos radiactivos fuera de laboratorios adaptados y habilitados para tales manipulaciones.

Otra forma de medición es el método del oxígeno disuelto. En este caso se cuantifica mediante un oxímetro la cantidad de oxígeno disuelto previo y posterior a una incubación en el mismo cuerpo de agua con botellas claras y oscuras. También se pueden realizar mediciones por el método químico de Winkler. La ventaja que presenta esta forma de medición es principalmente que permite medir tanto la producción primaria bruta (PPB) como la neta (PPN) y la respiración (Howarth y Michaels, 2000), además de que son prácticas inocuas para el ambiente. Según el método de las botellas claras y oscuras, en las botellas claras se producirá oxígeno por fotosíntesis y será consumido por respiración, mientras que en las botellas oscuras sólo hay consumo de oxígeno por respiración. Al realizar la

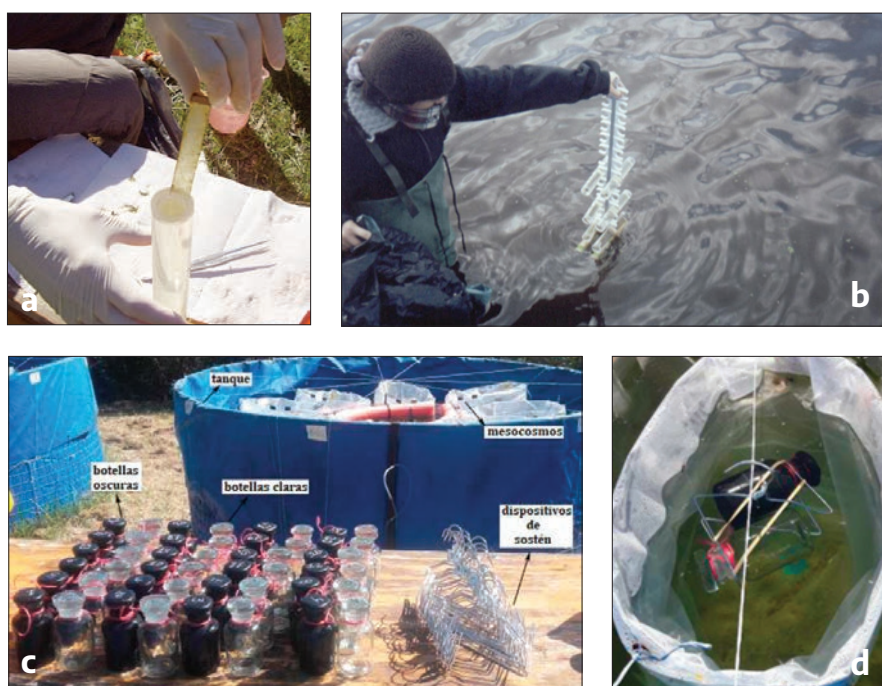
diferencia entre el valor de oxígeno disuelto en la botella clara y la oscura se obtiene una estimación del generado por fotosíntesis (PPB), mientras que por medio de la sustracción entre la botella clara y el oxígeno inicial es posible calcular la producción neta, i.e. fotosíntesis menos respiración.

Producción Primaria Bruta = Botella Clara – Botella Oscura

Producción Primaria Neta = Botella Clara – Botella Inicial

Respiración = Botella Inicial – Botella Oscura

Además de botellas claras y oscuras, se pueden utilizar cámaras de incubación, principalmente de acrílico como las utilizadas en Vilches y Giorgi (2010), que pueden opacarse para evitar el paso de la luz, y que tienen la ventaja de incubar la comunidad perifítica en el sustrato natural (Figura 5). Tanto los sustratos naturales como los artificiales pueden introducirse en las botellas, tubos o en las cámaras, las que serán claras y oscuras, para su posterior incubación en el cuerpo de agua (Figura 6). A posteriori,



se calcula la superficie de cada uno de los sustratos aplicando metodología apropiada para cada uno de ellos.

Tanto a partir de sustratos naturales como artificiales se pueden realizar estimaciones de producción primaria y de respiración. Para el caso de sustratos naturales vivos, en donde el aporte a los valores funcionales por parte del sustrato puede ser significativo (e.g. epifiton) se deberán diseñar las mediciones de forma que se pueda evaluar este aporte. Por ejemplo, analizando porciones de sustrato a las que previamente se le removi6 el perifiton. Ésto se puede realizar para sustratos como junco, totora o plantas arraigadas al fondo con hojas flotantes del tipo ninfeáceas (Nymphaeaceae).

Agradecimientos

Agradecemos a Martina Ramirez Vera por realizar el esquema de las principales comunidades acuáticas.

Bibliografía

APHA, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st edition. Centennial Edition. APHA, American Water Works Association, Water Environmental Federation, Washington DC, USA.

Burkholder, J.M. 1996. Interactions of Benthic Algae with Their Substrata. En: Stevenson, R.J., M. L. Bothwell, R. Lowe. (Eds.). *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*.

Dokulil, M. 1984. Assessment of components controlling phytoplankton photosynthesis and bacterioplankton production in a shallow, alkaline, turbid lake (Neusiedlersee, Austria). *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 69:679-727.

Encyclopaedia Britannica. 2023. Encyclopaedia Britannica. Disponible en: <http://www.britannica.com>

Hillebrand, H., C. D. D. Dürselen, U. Kirschtel, T. Pollinger, T. Zohary. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35:403-424. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x>

Howarth, R.W., A. F. Michaels. 2000. The measurement of primary production in aquatic ecosystems. En *Methods in ecosystem science* (pp. 72-85). Springer, New York, NY.

Konoplya, B.I., F.S. Soares. 2011. New geometric models for calculation of microalgal biovolume. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54:527-534.

Lakatos, G. 1989. Composition of reed periphyton (biotecton) in the Hungarian part of lake Fertő. *BFB-Bericht* 71:125-134.

Lowe, R.L., Y Pan. 1996. Benthic algal communities as biological monitors. En:

Stevenson, R.J., M. L. Bothwell, R.L. Lowe. (Eds), *Algal Ecology. Freshwater Benthic*

Ecosystems. Academic Press, San Diego, California, USA, pp. 705-740.

Marker, A.F.H., A. Nusch, H. Rai, B. Riemann. 1980.

The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Archiv für Hydrobiologie Beiheftung Ergebnisse der Limnologie* 14:91-106.

Utermöhl, M. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung Limnologie* 9:1-38.

Vadeboncoeur, Y., A. D. Steinman. 2002. Periphyton function in lake ecosystems. *TheScientificWorld-JOURNAL* 2:1449-1468.

Vadrucci, M.R., M. Cabrini, A. Basset, 2007. Biovolume determination of phytoplankton guilds in transitional water ecosystems of Mediterranean Ecoregion. *Transitional waters bulletin* 1:83-102.

Vilches, C., A. Giorgi. 2010. Metabolism in a macrophyte-rich stream exposed to flooding. *Hydrobiologia* 654: 57-65.

Wetzel, R.G., 1983. Opening remarks. En: Wetzel, R.G. (Ed.) *Periphyton of freshwater ecosystems*. Dr. W. Junk Publishers, The Hage, Netherlands, 3-4 pp.

Wetzel, R.G., G. E. Likens. 2000. *Limnological analyses*. Third edition. Springer Science+Business Media, Inc., USA, 429 pp.

Wimpenny, J. 2000. An overview of biofilms as functional communities. En: *Symposia-Society for general microbiology* (pp. 1-24). Cambridge; Cambridge University Press.



Vega de altura en el valle del río de las Taguas, San Juan, Argentina. Pablo Macchi

SEGUNDA SECCIÓN

BIOMONITOREO DE HUMEDALES PATAGÓNICOS Y ANDINOS

Editor temático: **Pablo Antonio Macchi**

Capítulo 12: Humedales: los mallines y las vegas de altura. **Pablo Antonio Macchi**

Capítulo 13. Evaluación geomorfológica de degradación en mallines. **Elizabeth Mazzoni**

Capítulo 14: Metodologías de estudio del fitoplancton en humedales de sistemas áridos y semi-áridos. **Diego Frau**

Capítulo 15: Valoración de la condición ecológica de los humedales patagónicos mediante la utilización de plantas acuáticas. **Luz María Manzo y Adriana Mabel Kutschker**

Capítulo 16: Evaluación de la integridad ecológica de humedales patagónicos y andinos mediante macroinvertebrados. **Pablo Antonio Macchi y Luis Beltrán Epele**

CAPÍTULO 12

Humedales: los mallines y las vegas de altura

Pablo A. Macchi

En el marco del Inventario Nacional de Humedales, un humedal se define como un ambiente en el cual la presencia temporaria o permanente de agua superficial o subsuperficial causa flujos biogeoquímicos propios y diferentes a los ambientes terrestres y acuáticos. Rasgos distintivos son la presencia de biota adaptada a estas condiciones, comúnmente plantas hidrófitas, y/o suelos hídricos o sustratos con rasgos de hidromorfismo.

Los humedales constituyen una interfase o posición de ecotono entre los ecosistemas terrestres y los ecosistemas acuáticos, haciéndolos diferentes de cada uno, aunque altamente dependientes de ambos. Están conectados hidrológicamente al agua subterránea y biológicamente, a través del movimiento y desplazamiento de muchos organismos (Mitsch y Gosselink 2015).

El clima y la geomorfología definen la formación de un humedal, sin embargo, su estructura y funcionamiento está regulado principalmente por la hidrología, que a su vez interviene en los procesos fisicoquímicos (suelo – agua), factores que en conjunto controlan a la flora y fauna residente (Mitsch y Gosselink 2015, Batzer y Boix 2016) (Figura 1).

Los mallines patagónicos (malliñ en lengua mapudungun que significa humedal o suelo inundado) y las vegas de altura de la cordillera de los Andes, son típicos ecosistemas de humedales con vegetación azonal que forman praderas higrófilas de ciperáceas, juncáceas y gramíneas, cuya génesis se encuentra asociada a la presencia de agua cerca de la superficie del suelo, constituyendo formaciones netamente diferenciadas de las áreas circundantes (Mazzoni y Rabassa 2013). Constituyen pequeños ecosistemas en áreas muy localizadas del paisaje y relativamente

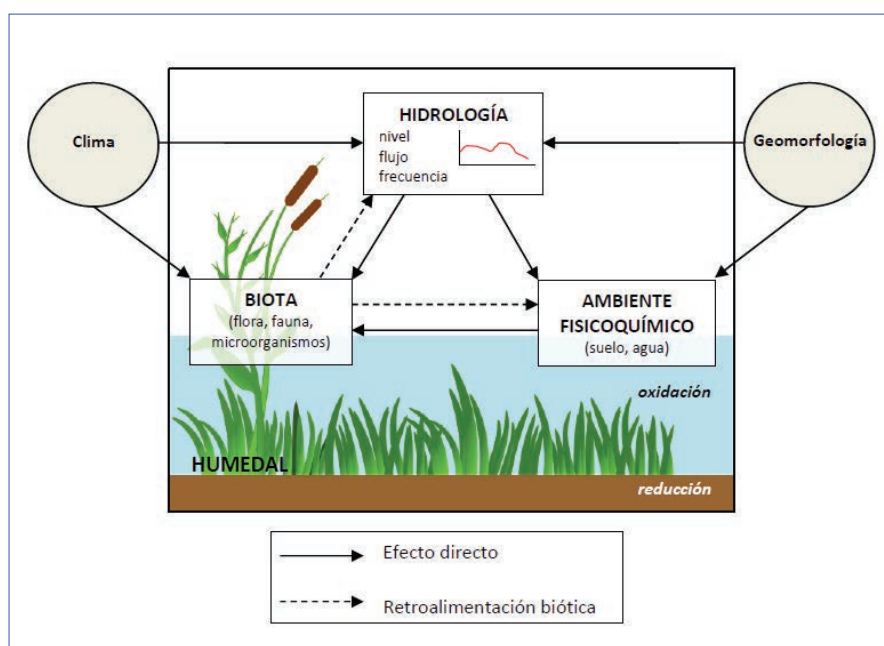


Fig. 1. Modelo conceptual de la interacción de los tres componentes básicos que regulan en funcionamiento de los humedales: la hidrología, el ambiente fisicoquímico y la biota. Tomado de Macchi (2017) modificado de Mitsch y Gosselink (2015).

aisladas, que conforman un sistema de humedales más o menos continuos o encadenados.

La hidrología de las vegas y mallines está asociada a zonas de concentración de humedad en el suelo, con un nivel freático alimentado por la precipitación directa más el escurrimiento superficial, subsuperficial y subterráneo proveniente de vastas áreas colindantes, pertenecientes o no a la misma cuenca. En algunos casos existen mallines que, además, presentan una conectividad superficial estacional con ríos o lagos (en periodos de crecidas) (Macchi 2017).

En su formación estratigráfica los mallines o vegas presentan, a profundidad variable, un estrato de baja conductividad hidráulica relativa que actúa funcionalmente como hidroapoyo, sobre el cual se asientan materiales finos y gruesos de diverso origen que conforman un acuífero o medio saturado, con características freáticas o semiconfinadas (Horne et al. 2004) (Figura 2).

El aporte hídrico, cualquiera sea su origen, se almacena en ese acuífero libre cuyo nivel freático fluctúa estacionalmente en función del balance

entre entradas y salidas de agua al mallín, donde su cauce central funciona como condición de borde del acuífero, fijando el nivel freático a lo largo de su recorrido (Dufilho et al. 1999). Cuando el humedal es recargado lateralmente por los bordes externos o por precipitación directa, el cauce central se transforma en el drenaje del mallín, mientras que, durante los periodos de bajante del nivel freático, el cauce puede al menos en algunos tramos, operar como fuente de recarga del acuífero (Horne et al. 2004).

La interacción entre las entradas/salidas de agua subterránea, superficial y atmosférica en los humedales, produce fluctuaciones estacionales en el nivel de agua, que posibilitan la ocurrencia de fases sequía-inundación o permanencia (Figura 2).

En función de su posición en el paisaje y sus principales características fisiográficas, la variedad de humedales presentes en región ha sido clasificada en cinco tipos básicos (Movia 1984) (Figura 1): de llano aluvial y cauces fluviales (A); de cubetas o grandes depresiones someras de origen glacial, fluvio-glacial o lacustre (B); en rosario o de valles pequeños (C); de ladera, mallines colgados, ojos de agua y vertientes (D) y, de vegas de altura (E).

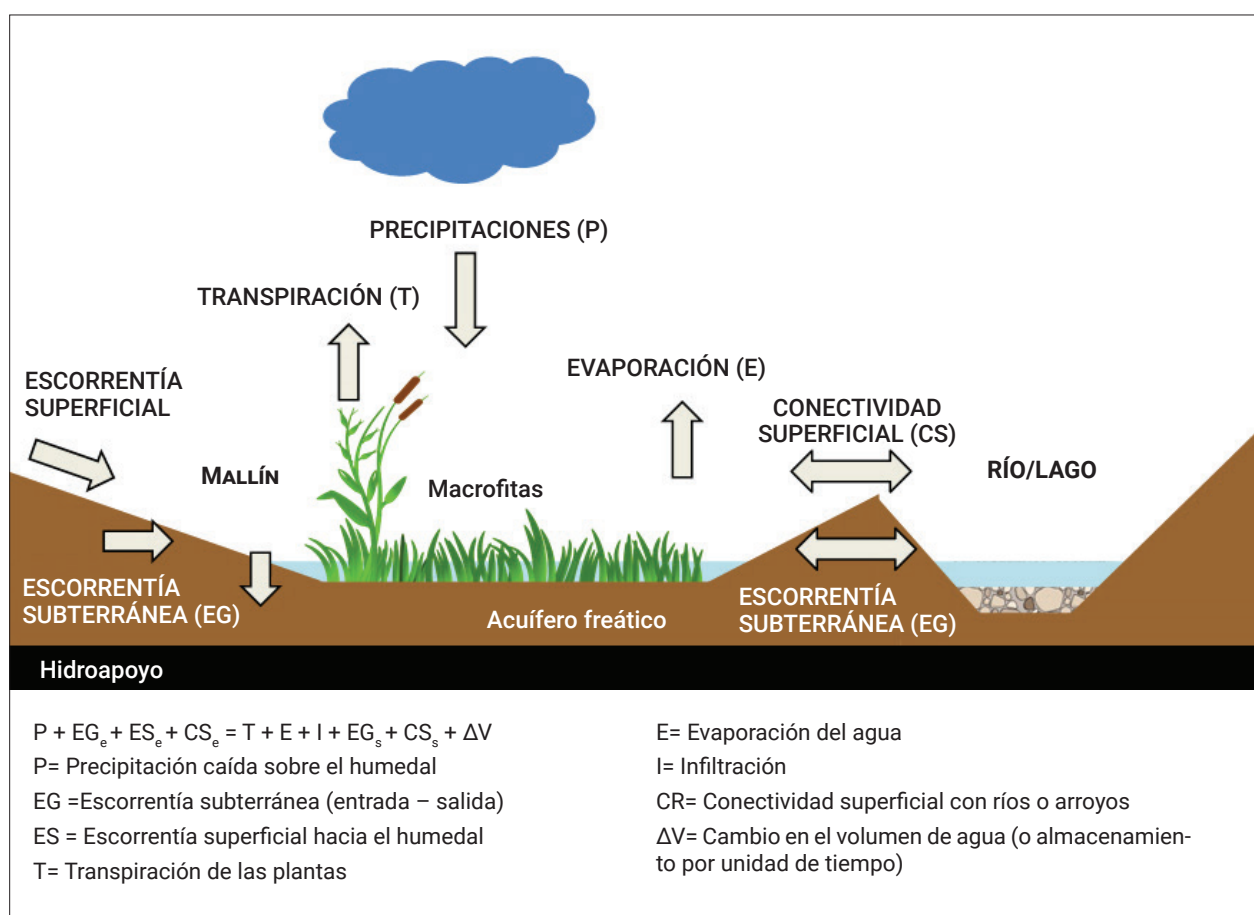
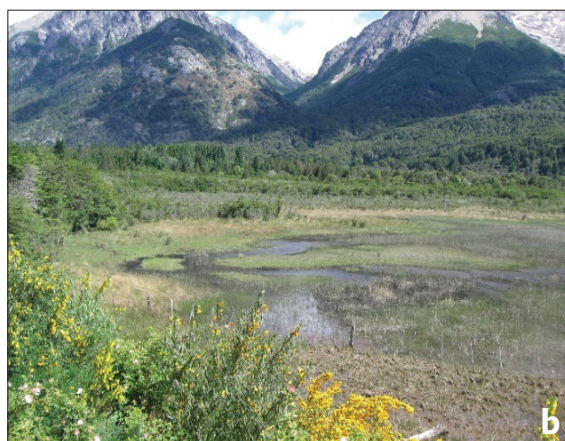


Fig. 2. Modelo y balance hidrológico general de mallines y vegas (Macchi 2017).



a



b



c



d



e

Fig. 3. Tipos de humedales en la región: A: de llano aluvial y cauces fluviales; B: de cubetas o grandes depresiones someras de origen glacial, fluvioglacial o lacustre; C: en rosario o de valles pequeños; D: de ladera, mallines colgados, ojos de agua y vertientes y E: de vegas de altura. Fotos P. Macchi.

Bibliografía

Batzer, D. P., D. Boix. 2016. An Introduction to Freshwater Wetlands and Their Invertebrates. In *Invertebrates in Freshwater Wetlands* (pp. 1-23). Springer International Publishing.

Dufilho, C., F. Horne, G. Polla. 1999. Dinámica del agua en mallines de Patagonia. Comportamiento espacial del escurrimiento subterráneo. *Revista extraordinaria de resúmenes*. Chillán. Agrociencia III Congreso Chileno de Ingeniería Agrícola. I Congreso Americano de Educación en Ingeniería Agrícola.

Horne, F.E., C. Dufilho, G. Polla, P. Schmid, A. Bruce. 2004. El agua. Metodologías para el estudio y manejo sustentable de mallines. Parte I. *Actas del Primer Taller sobre Mallines Patagónicos*, Esquel, Chubut, Argentina. 12 pp.

Macchi, P.A. 2017. Macroinvertebrados acuáticos como indicadores ecológicos de cambios en el uso del suelo en mallines del sudoeste de la Provincia de Río Negro (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de la Plata. <https://www.researchgate.net/publication/321757753>

Mazzoni, E., J. Rabassa. 2013. Types and internal hydro-geomorphologic variability of mallines (wet-meadows) of Patagonia: Emphasis on volcanic plateaus. *Journal of South American Earth Sciences*, 46, 170-182.

Mitsch, W. J., J. G. Gosselink. 2015. *Wetlands*. Hoboken. Ed: John Wiley & Sons, Inc.

CAPÍTULO 13

Evaluación geomorfológica de degradación en mallines

Mazzoni, E

Objetivo

Determinar la condición ambiental de ecosistemas de mallines a partir del reconocimiento de rasgos físicos superficiales de degradación, particularmente geomorfológicos, e identificar los procesos que los originan.

Campo de aplicación

Estos indicadores son apropiados para evaluar disturbios y grado de afectación en la condición ambiental de los ecosistemas de mallines, atendiendo a rasgos geomorfológicos fáciles de percibir en superficie, como suelo desnudo, evidencias de compactación del suelo, rasgos de erosión hídrica y de remoción en masa, entre otros. Asimismo, conocer los procesos que les dan origen es una herramienta necesaria para proponer e implementar medidas de mitigación o remediación.

Fundamentación

Por su condición de ecosistemas azonales, los pastizales húmedos o “mallines” son biomas caracterizados por su alta fragilidad, que pueden perderse parcial o totalmente una vez que ciertos procesos erosivos se han desencadenado. Los mismos alteran el escurrimiento superficial y subsuperficial afectando la permanencia del agua en el sistema y provocando la desecación de su superficie, así como la pérdida de vegetación y suelo. En función de ello, resulta de importancia reconocer las evidencias de erosión y los procesos que los originan cuando estos se encuentran en una etapa incipiente, a fin de implementar medidas correctivas adecuadas.

Características generales de los ecosistemas de mallines e indicadores de degradación física y erosión

Según el origen de la/s fuente/s de agua de los mallines, los mismos pueden presentar una variada distribución de sus unidades espaciales. Habitualmente, suelen reconocerse:

- Afloramientos de agua (vertientes o manantiales) y líneas de escurrimiento
- Sectores anegados con escurrimiento superficial no encauzado permanente (laminar o en manto)
- Sectores húmedos con escurrimiento superficial no encauzado estacional
- Sectores semihúmedos sin agua en superficie, pero en los que el nivel freático asciende próximo a la superficie del suelo durante, al menos, una parte del año, posibilitando la irrigación del suelo por capilaridad y el acceso de las raíces al recurso hídrico.
- Sectores de ecotono, predominantemente secos, hacia el ecosistema zonal

En mallines en buenas condiciones, los sectores anegados y húmedos poseen alta cobertura vegetal, próxima al 100 % (Figura 1). La composición botánica suele variar de acuerdo a esa disponibilidad hídrica. Los juncos (*Juncus bálticus*, *Juncus lesueurii*; Junco californiano *Schoenoplectus californicus*) son especies dominantes en los sectores anegados y húmedos, disminuyendo su frecuencia hacia los sectores con menor disponibilidad hídrica.

Los cambios en la cubierta vegetal (disminución del porcentaje de cobertura y reemplazo de especies hidromórficas por mesofíticas), constituyen un indicador de alteraciones en el estado de conservación del mallín y suelen estar asociados al



Fig. 1. Vista general de un mallín y detalle de los juncos que colonizan las zonas anegadas. Foto: E. Mazzoni

inicio de procesos erosivos hídricos y/o eólicos, tales como profundización de líneas de escurrimiento o voladura de suelos, respectivamente. Las condiciones de desecación se evidencian también en la aparición de concentraciones salinas en el suelo.

A continuación se exponen los rasgos erosivos más comunes en los ecosistemas de mallines. La frecuencia de algunos de estos rasgos depende de la geoforma en la que se emplazan los humedales, por ejemplo: en los mallines de ladera resulta más habitual la presencia de cárcavas que en los mallines que se desarrollan en terrenos planos o depresiones, donde los hundimientos ocurren más comúnmente.

Manchones de suelo desnudo

Habitualmente se generan manchones de suelo desnudo a partir de pastoreo excesivo y/o

procesos de desecación de la superficie del mallín. Esto último suele estar vinculado al descenso del nivel freático por profundización de cauces. El suelo descubierto queda expuesto al efecto del viento y del escurrimiento superficial (Figura 2).

Los caminos, generados por el tránsito del ganado o vehículos también contribuyen a la generación de superficies de suelo desnudo, los cuales suelen profundizarse paulatinamente provocando cárcavas (Figura 3).

Salinización

Si bien no se trata específicamente de un proceso erosivo, las concentraciones salinas en la superficie del suelo constituyen una evidencia del proceso de desecación del mallín. Estas sales ascienden por capilaridad ante la evaporación de la humedad edáfica, precipitando en la superficie



Fig. 2. Mallín degradado con importante superficie de suelo desnudo y salinizado. Foto: E. Mazzoni



Fig. 3. Caminos que constituyen focos erosivos. Foto: E. Mazzoni

del suelo, y suelen provocar modificaciones en la cobertura vegetal, la que es reemplazada por especies halófitas, como las pertenecientes al género *Distichlis*. Ejemplo de este fenómeno pueden observarse en las figuras 2 y 5.

Compactación de suelo

El proceso de compactación del suelo suele iniciarse por el hundimiento de las patas de los animales de mayor porte en condiciones de suelo saturado, lo que suele provocar, adicionalmente, la ruptura de la cubierta vegetal (Figura 4).

Cubetas

En condiciones de baja pendiente, el hundimiento de la superficie del mallín, por compactación de suelo genera depresiones. Estas cubetas son ocupadas por lagunas temporarias o permanentes cuando se desarrollan en los sectores con escurrimiento superficial o en proximidad del nivel freático (Figura 5). Habitualmente la cubeta amplía su área por remoción en masa de las laderas. El pisoteo frecuente de la fauna para acceder al agua contribuye a este proceso.

Mojones

Los “mojones” son elevaciones producidas por la compactación del suelo en el entorno. Se diferencian de la anterior situación debido a que las raíces otorgan aún resistencia al sustrato. Su presencia es frecuente en los sectores húmedos y semihúmedos, bajo condiciones de suelo no anegado (Figura 6).



Terracetas de solifluxión

Los procesos de remoción en masa en laderas también pueden afectar a los ecosistemas de mallines, particularmente “solifluxión”, que refiere al deslizamiento de la capa superficial del suelo formando terracetas, tal como se ilustra en la Figura 7.

Escarpas

En mallines cuya superficie exhibe una pendiente moderada, la compactación y colapso del suelo en un grado más avanzado que los anteriores, origina escarpas (resaltos o escalones) que producen una ruptura del perfil topográfico del mallín. Esta situación causa alteraciones en el drenaje y deja expuesta la superficie sin vegetación a procesos erosivos (Figura 8).

Entre las modificaciones al régimen hídrico, las escarpas pueden interceptar la napa freática induciendo a un cambio de flujo subsuperficial a superficial (esquematizado en la Figura 9) así como provocar modificaciones en el tipo de escurrimiento sobre la superficie del mallín. Por erosión, la escarpa retrocede paulatinamente, afectando progresivamente un área mayor. Los procesos intervinientes se han esquematizado en las figuras 9 y 10. Esta última muestra la erosión que se produce por escurrimiento superficial ante la presencia de la escarpa y el aumento de la energía otorgado por este desnivel.

Profundización de cárcavas

La condición óptima de irrigación en un mallín se produce por proximidad a la superficie del nivel freático y/o escurrimiento no encauzado (laminar



Fig. 4. Pisoteo de la fauna en suelos saturados. A la derecha puede observarse el efecto una vez que la superficie se seca. Fotografías: E. Mazzoni



Fig. 5. Depresiones generadas por hundimientos en la superficie del mallín. En estas cubetas suele aflorar el nivel freático. En la figura inferior izquierda puede observarse el desmoronamiento de los bordes por procesos de remoción en masa. Fotografías: E. Mazzoni



Fig. 6. Detalle de superficies con “mojones” bajo distinta condición de humedad y degradación de la cubierta vegetal. Estas geoformas suelen presentar un desnivel de unas pocas decenas de centímetros. Fotografías: E. Mazzoni



Fig. 7. Terracetos de soliflucción en mallines desarrollados en laderas. Fotografías: E. Mazzoni



Fig. 8. Arriba: vistas de escarpas con distinto grado de evolución. La ocasional acumulación temporal de agua en la depresión que se genera, favorece el pisoteo de la fauna y la pérdida de la cobertura vegetal. El suelo desnudo puede ser fácilmente removido por la acción del viento. Abajo: secuencia de escarpas de 20 m de longitud y desnivel próximo a 1 m. Nótese como la vegetación cambia notoriamente aguas debajo de la misma, debido a una interrupción del escurrimiento mantiforme predominante aguas arriba. Fotos: E. Mazzoni

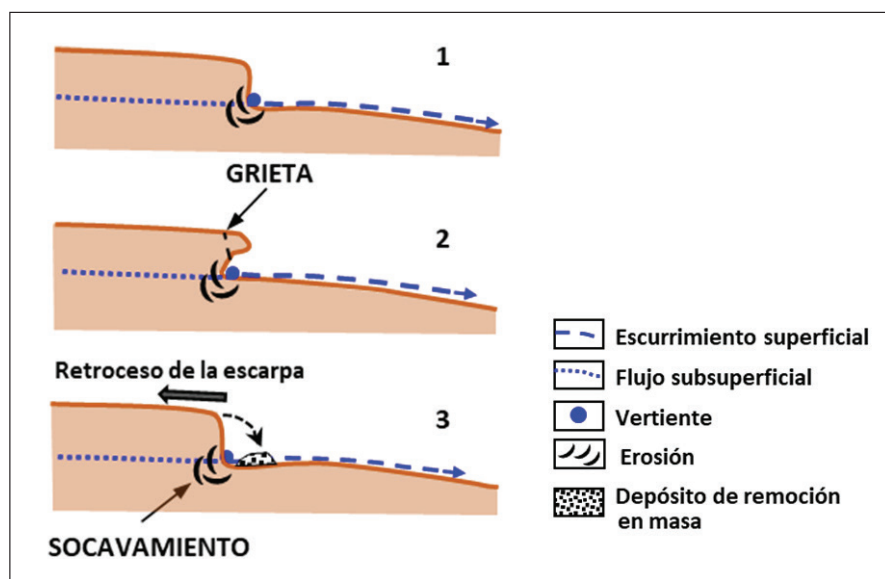


Fig. 9. Esquemas que muestran la secuencia que se produce en la evolución de las escarpas. La liberación de la presión de confinamiento del flujo subsuperficial provoca erosión en la base de la escarpa e induce al colapso del material superficial. Modificado de Mazzoni y Rabassa, 2018.

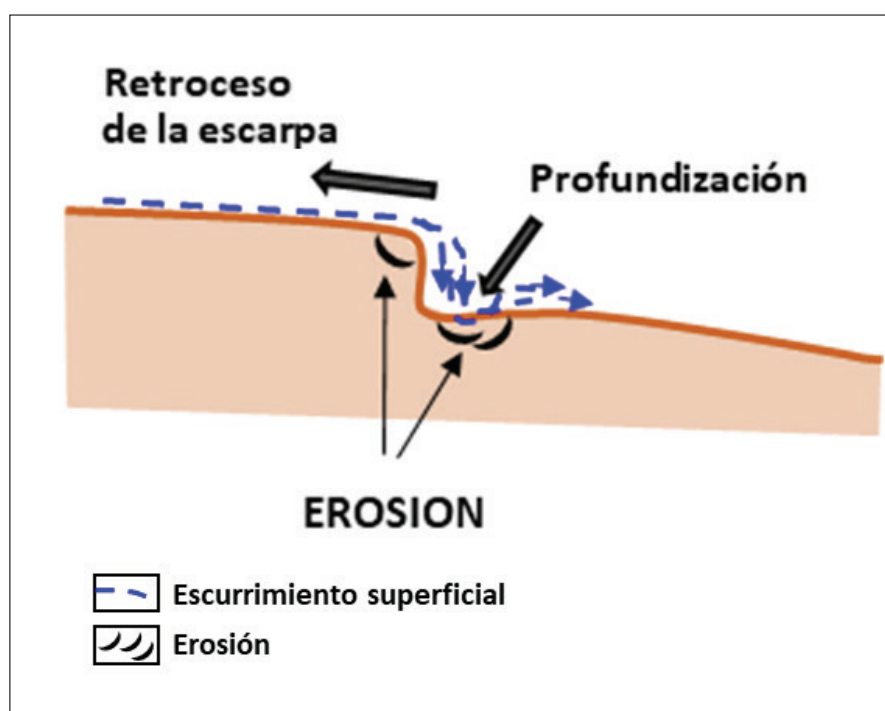


Fig. 10. Erosión en las escarpas por flujo superficial. Modificado de Mazzoni y Rabassa, 2018.

o mantiforme). En estas situaciones, el agua fluye lentamente, sin provocar erosión. Por el contrario, el escurrimiento encauzado es de mayor energía y ante un eventual aumento de caudal o disminución de la protección que otorga la vegetación al suelo, puede desencadenar procesos erosivos que deriven en el ensanchamiento y profundización de los cauces. El paso del escurrimiento laminar al flujo encauzado restringe el área irrigada, lo que conlleva a un deterioro de la superficie del mallín por desecación. Asimismo, la profundización de los cauces provoca la disminución del nivel freático con el mismo efecto que el anterior, conduciendo a la paulatina pérdida del humedal. En la Figura

11 puede observarse esta situación en diferentes estados de evolución.

Metodología de análisis

Dada la escala de análisis, la evaluación se realiza en el terreno, o eventualmente mediante el uso de fotografías aéreas de baja altura, obtenidas con drones.

En el terreno, deberán identificarse, geolocalizarse y cuantificarse los rasgos detectados y en visitas posteriores, puede analizarse su evolución.

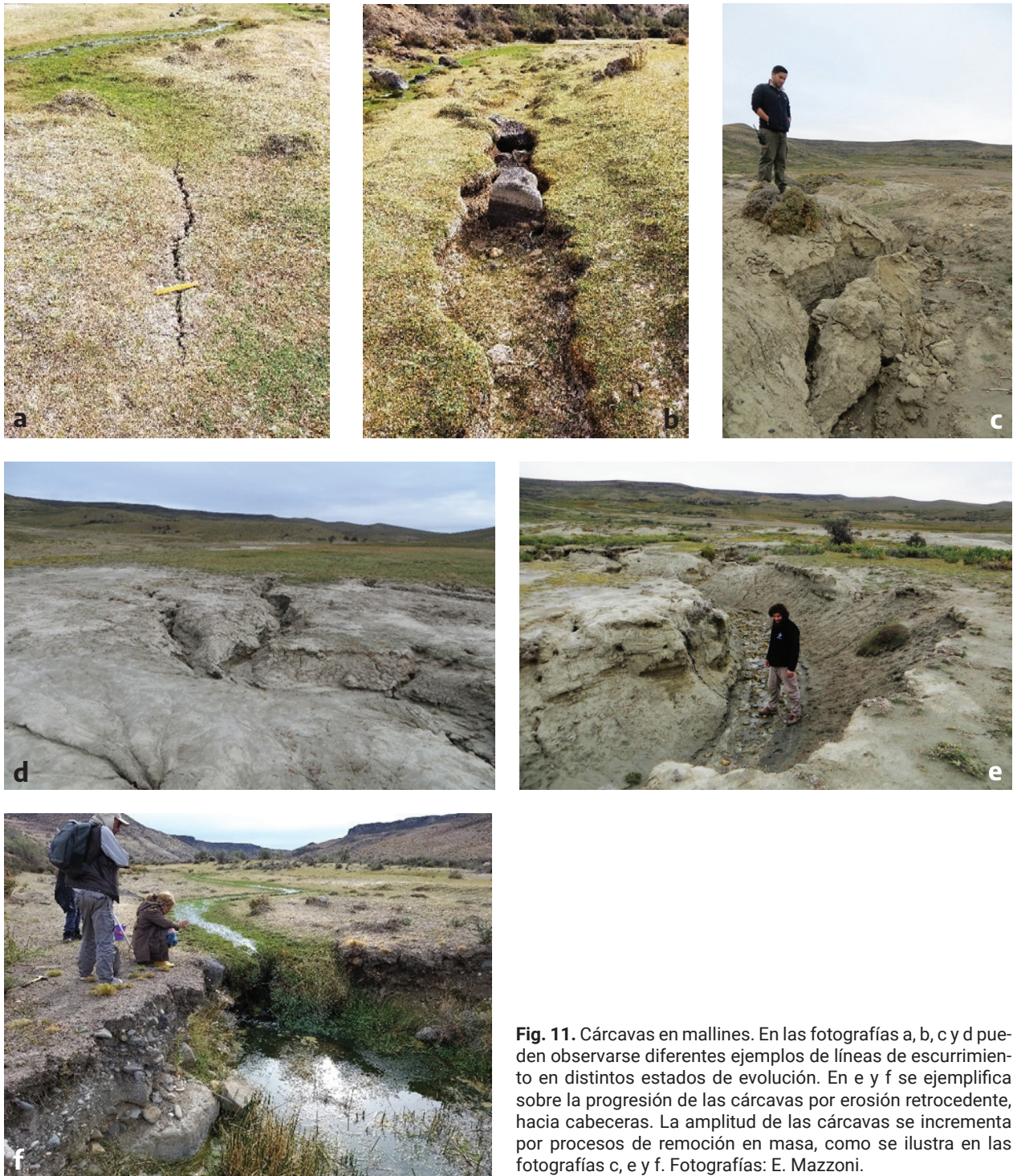


Fig. 11. Cárcavas en mallines. En las fotografías a, b, c y d pueden observarse diferentes ejemplos de líneas de escurrimiento en distintos estados de evolución. En e y f se ejemplifica sobre la progresión de las cárcavas por erosión retrocedente, hacia cabeceras. La amplitud de las cárcavas se incrementa por procesos de remoción en masa, como se ilustra en las fotografías c, e y f. Fotografías: E. Mazzoni.

En este último caso, es recomendable una visita anual para evaluar esta dinámica y, en función de ello, proponer medidas correctivas si fuera necesario. Deberán tomarse fotografías que ilustren la situación ambiental del mallín y los rasgos identificados. Téngase presente que el área inundada varía estacionalmente, sin que ello implique un cambio en la superficie total del humedal. Estos cambios en la superficie anegada están relacionados con la dinámica del nivel freático y de

caudales superficiales (períodos de deshielo/estiaje). Es importante tener este aspecto presente si las observaciones se realizan en diferentes estaciones del año.

Deberá confeccionarse una planilla de campo (o varias de ser necesario) que contenga información referida al mallín y a cada uno de los rasgos observados. En el anexo I se propone un modelo.

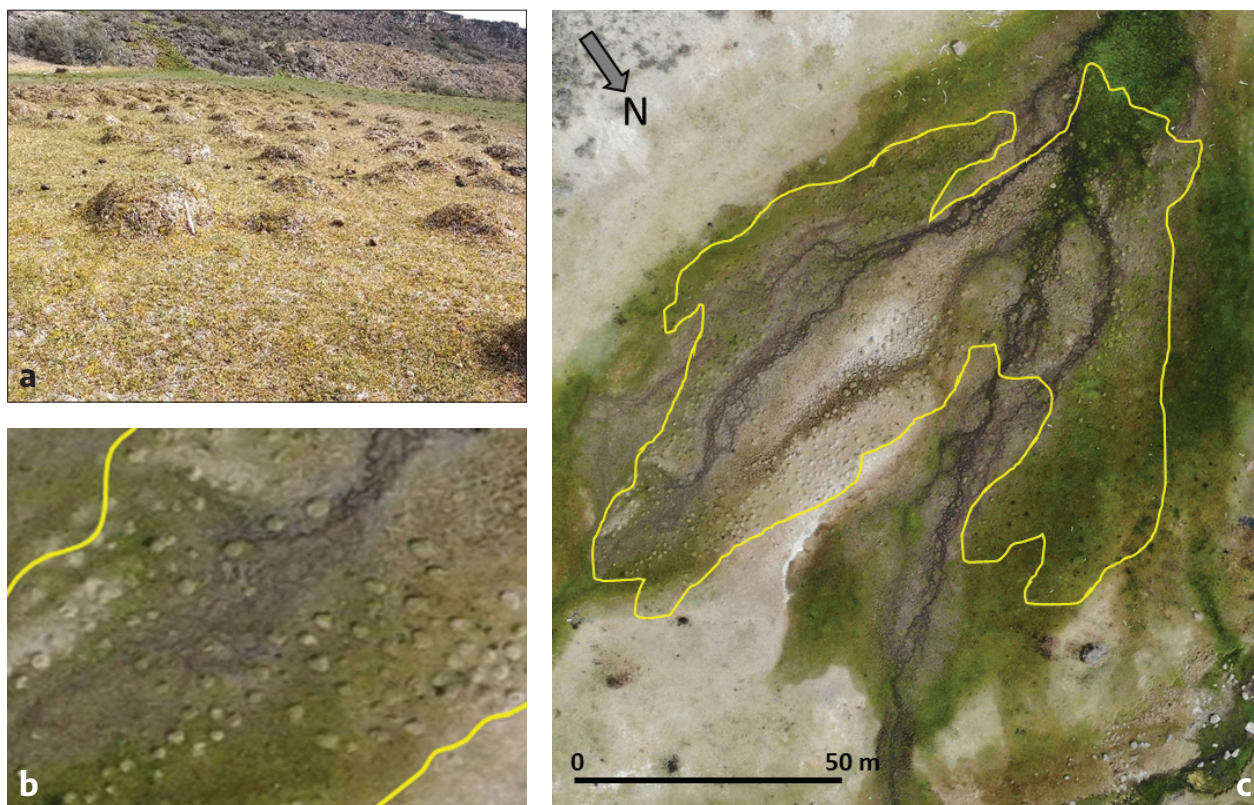


Fig. 12. a: se ha indicado, sobre una fotografía aérea obtenida con dron, el área con abundancia de “mojones”. b: se presenta un detalle, en el que puede apreciarse la textura fotográfica que estas geoformas exhiben. c: esta fotografía muestra estos mismos rasgos en el terreno. Fotografías: J. Fenoglio (aérea), E. Mazzoni (terreno).

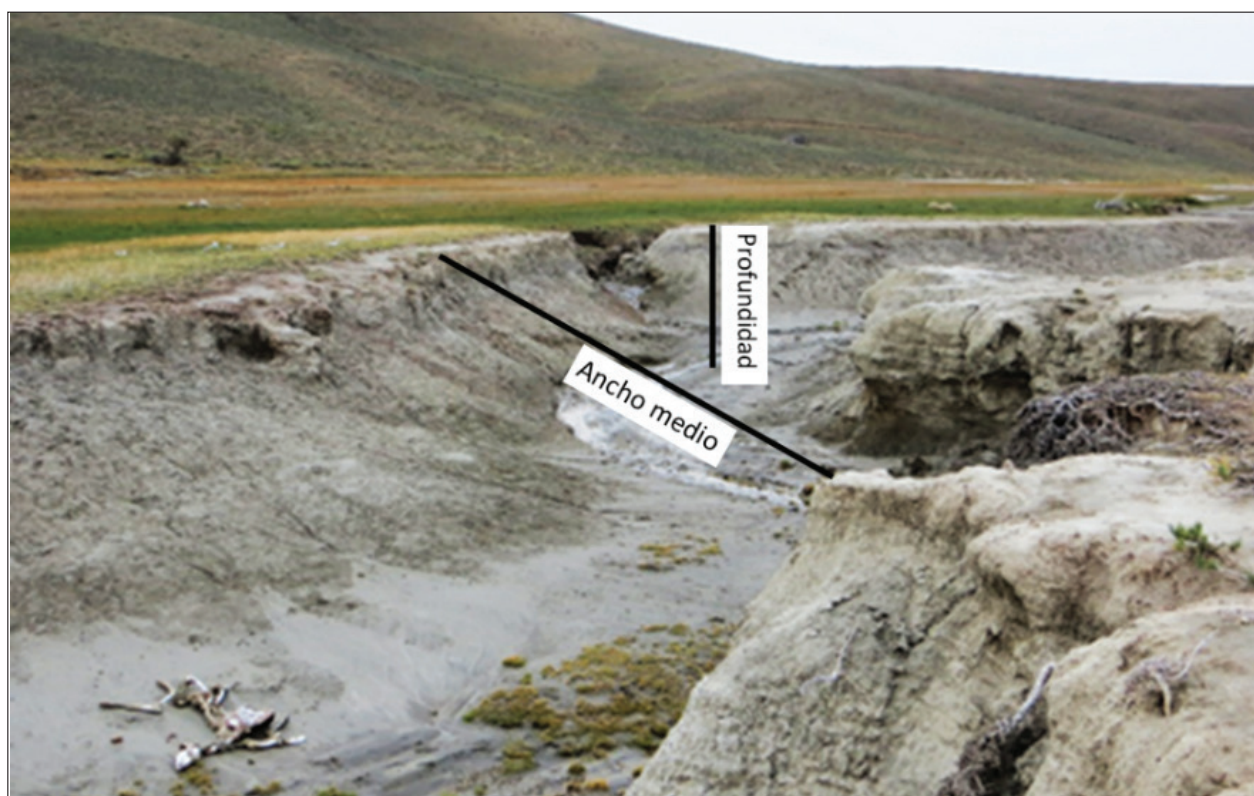


Fig. 13. Ejemplo de la medición de las dimensiones de una cárcava. Además, deberá medirse su longitud y variaciones de ancho y profundidad en sus diferentes tramos.

Bibliografía

Horne, F. 2009. Manejo hidrológico de mallines: manejo sustentable del Mallín Genoa. 1a ed. Neuquén: EDUCO Universidad Nacional del Comahue. Pp. 62

Mazzoni, E. 2008. Características fisiografías de humedales patagónicos de ambientes áridos. *Revista Geografia, ensino & pesquisa*. Brasil. 12(1)2008:2149-2164.

Mazzoni, E., J. Rabassa. 2013. Types and internal hydro-geomorphologic variability of mallines (wet-meadows) of Patagonia: Emphasis on volcanic plateaus. *Journal of South American Earth Sciences* 46: 170-182. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jsames.2011.08.004>

Mazzoni, E., J. Rabassa. 2018. The environmental value of volcanic landscapes and wetlands of lowland Patagonia and their state of conservation. En: Mazzoni, E. y Rabassa, J., editors, *Volcanic Landscapes and Associated Wetlands of Lowland Patagonia*, Springer, p. 271-299.

Anexo 1. Ficha de campo sugerida

Denominación		Fecha
Latitud	Longitud	Accesibilidad Detallar rutas y condiciones de accesibilidad. Requerimientos especiales (vehículo 4x4, moto, a pie, etc.). Distancias. Realizar esquema o indicar en imagen satelital o mapa (Google maps)
Superficie (Ha)		
Uso		
Evidencias de erosión/degradación (tildar presencia)		
Suelo descubierto		
Salinización		
Compactación por pisoteo		
Cubetas/depresiones por compactación de suelo		
Mojones		Para cada rasgo (pueden utilizarse fichas complementarias si fuera necesario) indicar: Ubicación geográfica Localización relativa: Unidad de paisaje/ambiental en la que se ubica cada rasgos (anegado/húmedo/semihúmedo), relación con las fuentes de agua. Superficie afectada Dimensiones que correspondieren (ancho, largo, profundidad, desnivel). Otros datos de interés Fotografías (colocar referencia de tamaño, escala)
Escarpas		
Cárcavas		
Terracetas		
Esquematizar o cartografiar la localización relativa de los rasgos encontrados		
Nombre del observador		
		Institución

CAPÍTULO 14

Metodologías de estudio del fitoplancton en humedales de sistemas áridos y semi-áridos.

Frau, D.

Introducción

A grandes rasgos, un humedal corresponde a una superficie terrestre que está temporal o permanentemente inundada, que puede ser dulce, salada o salobre y que se constituye como un ecosistema de transición entre lo puramente terrestre y lo acuático. Un humedal se caracteriza además por ser de baja profundidad y encontrarse frecuentemente asociado a vegetación adaptada a condiciones de anoxia y estrés hídrico, conocida como vegetación *hidrófila*. Los humedales a pesar de que representan un 9% de la superficie terrestre mundial, se constituyen como ecosistemas de elevada diversidad biológica y aportan una infinidad de servicios ecosistémicos en los que destacan el ciclado de nutrientes, el atrapamiento de carbono, la amortiguación de inundaciones, la provisión de recursos pesqueros, agua para consumo animal y humano o incluso ser zonas de pastoreo para el ganado.

Entre los humedales continentales, los de zonas áridas y sub-áridas constituyen un tipo especial. Estos ecosistemas se desarrollan generalmente en cuencas *endorreicas*, donde el agua no fluye hacia el océano, sino que queda atrapada en el continente, siendo característico además que el clima sea seco y la tasa de evaporación supere a la tasa de precipitaciones. Otra característica relevante de este tipo de ecosistemas acuáticos es que se desarrollan, en general, en zonas elevadas por encima de los 800 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m). En Argentina se encuentran principalmente distribuidos en el noroeste argentino (NOA) a más de 3.000 m.s.n.m en la región altoandina, la subregión extraandina de Patagonia (> 2.000 m.s.n.m) y en las sierras pampeanas (~ 800 m.s.n.m).

Los humedales de zonas áridas y semi-áridas presentan una amplia variedad de rasgos que los caracterizan. Son ecosistemas *azonales*, es decir

que se desarrollan dentro de una matriz desértica o semi-desértica, y por efecto de un gradiente de agua diferencial con el resto del terreno permiten el desarrollo de una vegetación que les es propia. A grandes rasgos este tipo de humedales pueden ser clasificados en tipo evaporítico como son los salares, de afloramiento subterráneo como son vegas, bofedales y mallines, y de escorrentía superficial como son lagunas someras o charcas (**Figura 1**). Todos estos ambientes comparten la característica de ser ambientes muy someros con presencia de agua dulce, salada (> 3 g/L) o salobres (con densidades de sal similares o superiores al agua de mar ≥ 35 g/L). Los humedales de zonas áridas y semi-áridas pueden o no estar vinculados a vegetación hidrófila y estar el agua estancada o moverse por diferencias en la pendiente del terreno. Frecuentemente una combinación de agua estancada y agua corriente caracteriza este tipo de ecosistema. Estos humedales destacan además por ser frecuentemente ecosistemas temporales que dependen fuertemente del aporte de agua para su subsistencia. Este aporte de agua puede ser superficial, a partir de precipitaciones, que a su vez pueden ser estacional, o más frecuentemente, estar alimentados por agua que proviene de acuíferos subterráneos. En el caso de mallines, vegas y bofedales es característica la presencia de gramíneas, juncáceas y ciperáceas especialmente adaptadas a sobrevivir en suelos anegados y anóxicos con elevados aportes de materia orgánica.

La diferenciación de estos ecosistemas en diferentes subtipos puede resultar compleja. Las vegas y bofedales son especialmente frecuentes en la región altoandina y se vuelven frecuentes, como ya se indicó, por encima de los 3000 m.s.n.m. Se diferencian principalmente por el tipo de vegetación y variaciones en el microrelieve. Las vegas tienen



Fig. 1. Ejemplos de diferentes tipos de humedales en zonas áridas y semi-áridas de Argentina. Vega tipo (a), Salar (b), Laguna o Charca (c), Bofedal (d), Mallines Patagónicos (e, f), ambas fotos propiedad de INTA.

un microrelieve continuo con fuerte presencia de gramíneas como vegetación dominante. Existen a su vez diferentes subtipos de vega en relación con la distancia de la napa freática de la superficie del suelo (al menos tres tipologías diferentes) y el tipo de gramínea asociada. En los bofedales es característico un microrelieve fuertemente ondulado y la presencia de diferentes especies de juncáceas como vegetación dominante. Los mallines por su parte, aparecen en regiones de menor altitud en la sierra pampeana y en la región árida de Patagonia. La presencia de gramíneas, ciperáceas y juncáceas es también característica de este tipo de humedal e incluso pueden reconocerse diferentes subtipos según el tipo de suelo, el hidromorfismo (si el agua está contenida o no) y los ensambles vegetales asociados. A su vez, en los mallines es posible diferenciar un gradiente topográfico con un incremento de la humedad hacia el centro del

mallín. Por su parte las charcas y pozas, que pueden tener una extensión variable, son en general el resultado de agua superficial que proviene de mallines, vegas y bofedales circundantes que drenan hacia un epicentro ubicado generalmente hacia el fondo de la cuenca endorreica. Resulta característico en las charcas el bajo nivel hidrométrico y la amplia extensión en superficie. Por último, los salares constituyen un tipo muy especial de humedal que solo ocurre en zonas áridas. Los salares pueden estar formados por diferentes *facies* (capas) de diferentes tipos de sales mezcladas o no con elementos de suelo (lo que se conoce como facies químicas y facies terrígenas). El agua en los salares es generalmente subterránea y se encuentra formando salmueras, pero en ocasiones pueden formarse lagunas saladas superficiales de amplia extensión, que son capaces de albergar una elevada diversidad microbiana.

Entre la diversidad microbiana que puede encontrarse en los humedales de zonas áridas y semi-áridas, el *fitoplancton*, se constituye como un elemento de significancia. El término fitoplancton es utilizado para describir un ensamble de organismos microscópicos que viven suspendidos en la columna de agua y que tiene capacidad de realizar fotosíntesis. Algunos de estos organismos también son capaces de alternar con un metabolismo heterotrófico y son conocidos como *mixótrofos*. Sin embargo, es condición para que un organismo sea considerado dentro del fitoplancton su capacidad de realizar fotosíntesis oxigénica en alguna etapa de su ciclo vital y vivir suspendido en la columna de agua a través del uso de diferentes estrategias morfológicas y fisiológicas. La importancia del fitoplancton como ensamble de organismos radica en el hecho de que son los principales productores primarios en los sistemas acuáticos junto con la vegetación acuática y el fitoperifiton (microalgas que se encuentran adaptadas para sobrevivir en relación con un sustrato), fijando carbono y produciendo oxígeno en el proceso. Interviene en los procesos biogeoquímicos del carbono, el fósforo y el nitrógeno. Son, junto con las bacterias, los responsables de la captación y transferencia de energía y materia a niveles tróficos superiores y se encuentra además en la base de las redes tróficas de los sistemas acuáticos continentales.

El conjunto de organismos incluidos dentro del fitoplancton presenta una amplia variabilidad morfológica con formas unicelulares o multicelulares que pueden formar colonias, cenobios o filamentos, pudiendo ser además flagelados o poseer diferentes adaptaciones morfo-fisiológicas para mantenerse suspendidos en la columna de agua (**Figura 2**). Esto demuestra la elevada diversidad de formas que estos organismos pueden tener

como respuesta a diferentes procesos evolutivos y de adaptación al medio ambiente. Por su parte, entre los rasgos funcionales del fitoplancton puede citarse su capacidad de adaptarse a diferentes intensidades lumínicas, poseer diferentes estrategias de reproducción y su capacidad de utilizar diferentes fuentes de nutrientes y carbono -entre otras características-, que aumentan su fitness adaptativo al medio donde se desarrollan.

Dentro del fitoplancton incluimos una gran variedad de organismos con diferentes orígenes filogenéticos; tanto eucariota (células con núcleo y organelas definidas) como procariota (sin núcleo celular ni organelas). Entre los organismos procariotas, un grupo de bacterias denominadas como Cyanobacteria constituyen un elemento fundamental de los ensambles fitoplanctónicos. Este grupo de organismos comparte algunas características tanto morfológicas (forma, tamaño y hábitos de vida) como fisiológicas (capacidad de realizar fotosíntesis) con el resto de los organismos agrupados dentro del fitoplancton (todos ellos organismos eucariotas con orígenes filogenéticos distantes y conocidos frecuentemente como protistas). Las cianobacterias tienen la particularidad de que pueden producir floraciones también conocidas como *blooms* (crecimiento masivo de organismos en cortos períodos de tiempo) cuando las condiciones ambientales son propicias. Cuando ocurren estas floraciones pueden desencadenar una serie de alteraciones en el cuerpo de agua donde se producen. Estas modificaciones incluyen alteraciones en la penetración lumínica, concentración de materia orgánica, concentración de oxígeno, entre otras. Las floraciones de cianobacterias pueden a su vez estar formadas por especies que producen toxinas (conocidas como *cianotoxinas*). Todos estos cambios, cuando se originan, llevan a un deterioro en la calidad del agua.

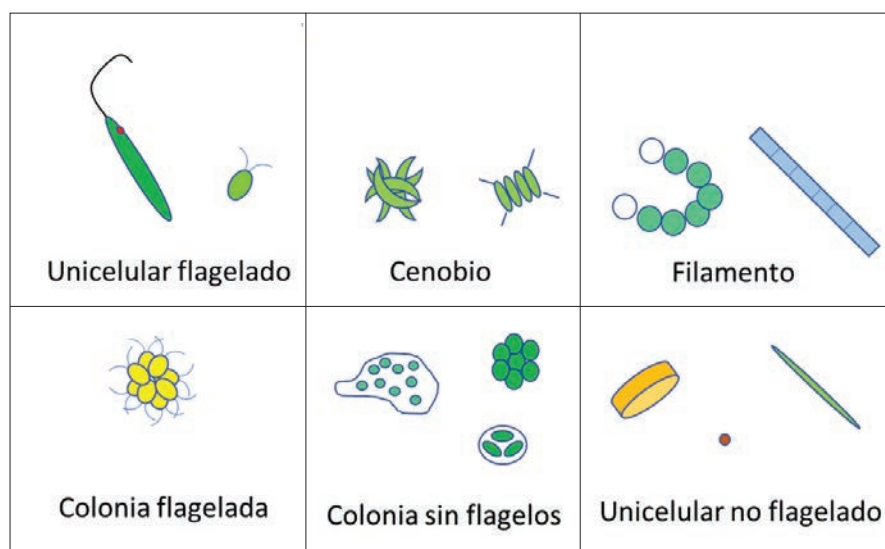


Fig. 2. Esquema de diferentes tipos morfológicos frecuentes de encontrar entre los representantes del fitoplancton.

El fitoplancton es además uno de los diversos indicadores biológicos que se utilizan en la actualidad para describir la calidad del agua. Este ensamble de organismos tiene la capacidad de responder rápidamente y de manera previsible a una amplia gama de contaminantes y situaciones ambientales. Su estudio prolongado en el tiempo permite además interpretar las condiciones históricas en la calidad del agua, permitiendo comparaciones entre sitios de muestreo, zonas impactadas y no impactadas o diferentes momentos del año. Todas estas características antes mencionadas, sumado a su facilidad de muestreo, hacen del fitoplancton una herramienta rentable de monitoreo.

En este apartado se abordarán diferentes aspectos metodológicos vinculados al muestreo, conteo, preservación e identificación de organismos fitoplanctónicos en humedales de zonas áridas y semi-áridas. Al respecto, muchas de las metodologías que se describen a continuación pueden resultar similares a las empleadas para otros tipos de sistemas acuáticos, pero en ocasiones las mismas se encuentran adaptadas para el muestreo en este tipo de ambientes, que como hemos visto anteriormente presentan algunas características ambientales que los hacen diferentes a otros tipos de humedales o sistemas acuáticos continentales.

Este artículo pretende proveer información práctica al lector referente a la identificación de sitios y frecuencia de muestreo, así como también proveer información acerca de las técnicas más apropiadas para cada tipo de situación. Se abordarán además diferentes metodologías para el conteo de organismos que dependerán de la capacidad técnica del agente y ciertas características de la muestra y se describirán además diferentes alternativas para el uso del fitoplancton como indicador de la calidad del agua.

Colecta de muestras

Decidir el diseño (frecuencia de muestreo e identificación de sitios) constituye el primer paso al

momento de realizar un muestreo de fitoplancton. Los ensambles fitoplanctónicos presentan una amplia variabilidad tanto en el tiempo como en el espacio debido a la rápida capacidad de respuesta que tienen estos organismos a cambios en las condiciones ambientales imperantes. Esto es especialmente cierto en humedales de zonas áridas donde principalmente cambios abruptos en la temperatura del agua, la concentración de nutrientes, la disponibilidad lumínica y la profundidad suelen ser muy marcadas a lo largo del año. Esta variabilidad también puede ser muy amplia dentro de un mismo humedal y condiciona la extracción de muestras que pretenda realizarse.

Frecuencia de muestreo

La frecuencia de muestreo mensual es considerada generalmente como apropiada, aunque si se contempla las rápidas tasas de reproducción de estos organismos, en ocasiones frecuencias quincenales o incluso semanales pueden resultar necesarias. Frecuencias de muestreo de tipo estacionales también pueden resultar apropiadas dependiendo del tipo de estudio que se esté realizando. En cualquier escenario posible, la frecuencia de muestreo deberá estar adaptada a los requerimientos específicos del estudio, el alcance de este, así como también a la capacidad técnica con la que se cuente para realizar los muestreos (**Tabla 1**).

Selección de los sitios de muestreo

Un segundo aspecto para contemplar es la selección de los sitios. La localización de los sitios de muestreo debe ser coherente con las características del ambiente que se está muestreando. Como ya se anticipó, el fitoplancton puede responder rápidamente a los cambios ambientales, y particularmente en humedales de zonas áridas y semi-áridas, la heterogeneidad ambiental puede ser muy acusada.

Como regla general para la selección de sitios de muestreo deberá de contemplarse cubrir la máxima heterogeneidad ambiental posible. Esto es identificar zonas de aguas estancadas, zonas de

Objetivo	Frecuencia de muestreo recomendada
Caracterización ambiental general	Estacional o mensual
Monitoreo de condiciones ecológicas	Estacional o mensual
Evaluación de impactos puntuales	Ajustada a la ocurrencia del impacto
Evaluación de impactos estacionales o con frecuencia establecida	Ajustada a la frecuencia del impacto

Tabla 1. Frecuencia de muestreo sugerida para diferentes situaciones que requieren del monitoreo de fitoplancton.

agua corriente, zonas vegetadas y no vegetadas, zonas someras y regiones más profundas o sitios donde una presión ambiental específica puede ser identificada (**Figura 3**), por ejemplo, una zona de alimentación de ganado o un punto de vertido de sustancias. Así mismo, si el agente que realiza el muestreo considera que el ambiente es altamente homogéneo, como puede ocurrir en una charca de relieve homogéneo, es recomendable tomar siempre más de 1 muestra por sitio en cada muestreo. Esto permitirá tener validez estadística al momento de analizar los datos obtenidos. En este punto resulta relevante destacar que los puntos de muestreo seleccionados deben de conservarse lo más posible a lo largo del periodo de muestreo, si lo que se está haciendo es un monitoreo a largo plazo. Particularmente en este tipo de humedales pueden ocurrir cambios importantes a lo largo del año siendo que dependen fuertemente de las condiciones climáticas (principalmente disponibilidad de agua y temperatura), que determinan que puedan variar la extensión de su superficie, congelarse o incluso secarse en determinados momentos del año (principalmente durante el invierno).

Otro aspecto para contemplar es la factibilidad de muestreo. En general estos ecosistemas se

caracterizan por ser sitios con una elevada carga de materia orgánica y lechos limo-arcillosos que determinan que estos sitios actúen como trampas de sedimento. Al respecto, ingresar en estos sitios para extraer las muestras puede resultar complejo por lo cual en la mayoría de los casos el muestreo debe de realizarse a pie. En este sentido, siempre se debe de priorizar la seguridad de la persona que realiza la colecta de la muestra y realizar un balance adecuado entre identificar los sitios de muestreo más apropiados y aquellos donde es posible tomar la muestra sin comprometer la integridad física de quien toma la muestra.

Colecta de muestras

Para la toma de muestras de fitoplancton existe una variedad de métodos que pueden emplearse entre los que destacan la colecta de muestras de forma directa, el uso de redes o el uso de algún dispositivo de muestreo. Sin embargo, no todos estos métodos pueden resultar apropiados para el muestreo de fitoplancton en humedales de zonas áridas y semi-áridas.

El método de muestreo más frecuentemente utilizado es el de toma directa. En este caso, el frasco que será utilizado para tomar la muestra se sumerge

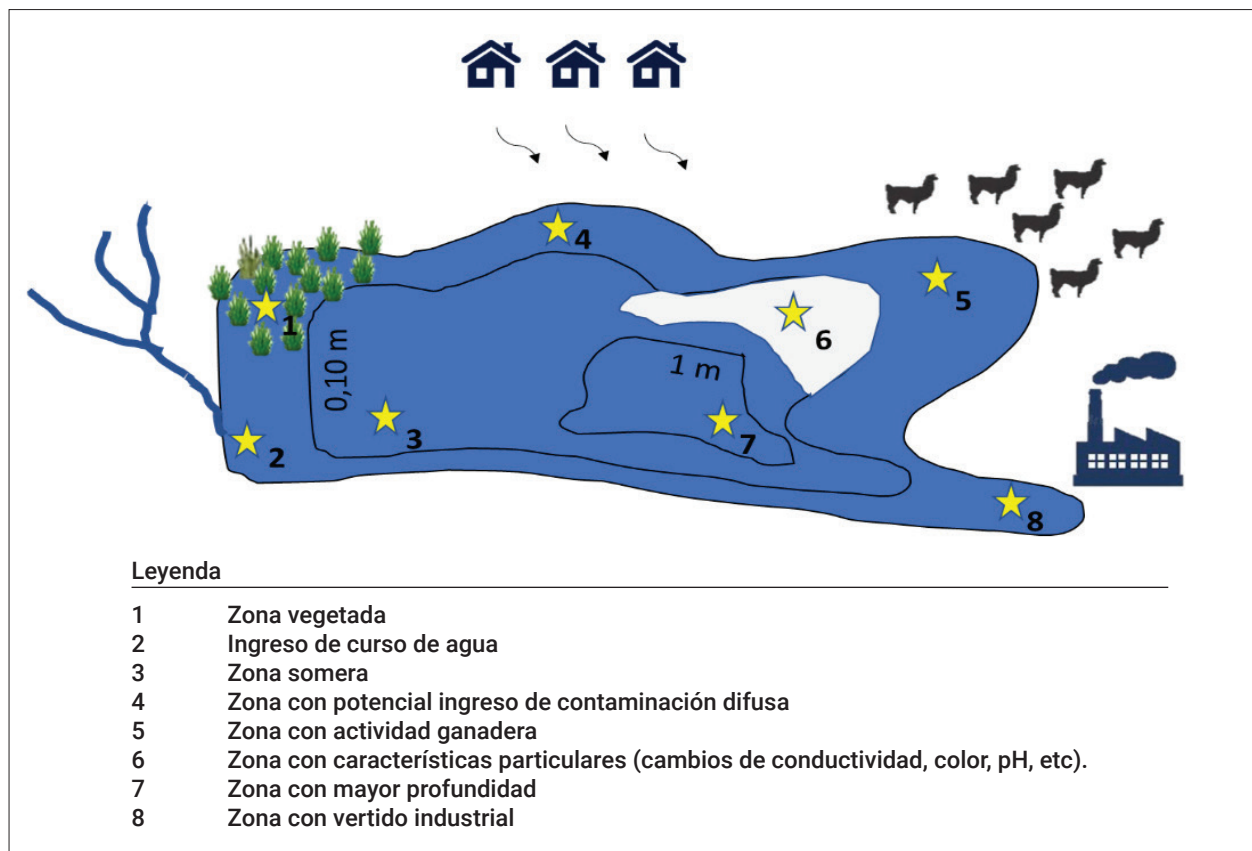


Fig. 3. Selección de sitios de muestreo contemplando la máxima heterogeneidad ambiental posible. Las estrellas indican sitios potenciales de muestreo a ser contemplados en un diseño.

sub-superficialmente en un ángulo de 45° hasta obtener una muestra de aproximadamente 100 ml. Es importante que el frasco nunca se llene por completo. En este sentido, siempre se debe dejar una capa de aire que permite luego la homogeneización de la muestra antes de su conteo.

En ocasiones, en este tipo de ambientes la columna de agua puede ser muy reducida. En estos casos, el uso de jeringas plásticas de 10 ml puede resultar adecuado para tomar la muestra. Otra alternativa puede ser el obtener una muestra concentrada. Esto es a partir de filtrar un volumen de agua conocido utilizando una red de plancton apropiada (de 10 o 25 μm) u obteniendo un volumen de agua mayor (500 o 1000 ml) que será luego concentrado en laboratorio a partir del uso de diferentes metodologías. El uso de botellas hidrográficas tipo Van Dorn o similares no son aconsejable en este tipo de ambiente. En cualquiera de los casos, se debe tener siempre presente que la muestra obtenida no arrastre material del fondo (sedimentos) que pueden comprometer luego el análisis de la muestra en el microscopio.

Como situación particular, que puede ser frecuente en este tipo de ambientes, es la aparición de matas de microalgas filamentosas, conocidas como *metafiton*. El metafiton se forma generalmente adherido a un sustrato o en fondo del cuerpo de agua en ambientes con una elevada transparencia y baja profundidad. Su aparición en la columna de agua se produce cuando por efecto de la producción elevada de oxígeno, la mata se desprende y flota. Tomar una muestra de tipo cualitativa y fijada con alcohol o formaldehído al 4-5% puede resultar útil para la caracterización del ecosistema. Para la estimación de densidad de la mata deberá contemplarse una metodología específica (ver **Recuadro 1**).

En este punto, conocer el ambiente que se está muestreando o realizar un muestreo exploratorio resulta de suma importancia para poder tomar decisiones que permitan obtener una muestra de calidad.

Uso de redes

El muestreo de fitoplancton puede requerir en función del tipo de muestra que se está empleando, y la técnica de muestreo a emplear, el uso de redes de plancton. Para el caso del fitoplancton y considerando su pequeño tamaño, estas redes deben ser de una apertura de poro reducida. Tamaños de poro entre 10 μm y 25 μm resulta lo más apropiado. Para este tipo de humedales, las redes no pueden ser arrastradas debido a la baja profundidad de la columna de agua y la presencia de vegetación. Es por esto que resulta necesario emplear una cubeta en la que se colecte el agua para así luego realizar el filtrado.

El volumen de agua filtrado dependerá de las características del ambiente. Como regla general se puede considerar que para aguas que aparecen muy transparentes, el volumen de agua a filtrar debe de ser mayor; en tanto que, para aguas con mayor turbidez, el volumen de filtrado estará condicionado por el material en suspensión que determinará la saturación de la red hasta el punto de que interrumpe el filtrado por completo o se dificulte demasiado la obtención de la muestra. En cualquier caso, se recomienda filtrar volúmenes de agua que van entre 6 y 10L. Estos volúmenes podrán ser ajustados según la experiencia que obtenga el agente de muestreo durante sucesivos muestreos, o por experiencia previa en el ambiente que se está trabajando. Frecuentemente la elevada concentración de sales en suspensión en este tipo de ambientes puede condicionar fuertemente

Recuadro 1. Muestreo y estimación de la densidad de metafiton.

Si se identifica durante el muestreo una zona dominada por metafiton resulta conveniente tomar una muestra para la posterior identificación en laboratorio que será luego útil para la caracterización del ecosistema. Al respecto, la estimación de la densidad se puede hacer contemplando en el muestreo una superficie conocida. En este sentido lo que se hace es utilizar un anillo de superficie conocida, se colecta todo el material que entra en el anillo y luego se reserva en alcohol al 70% o en formaldehído al 4-5% hasta su procesamiento en laboratorio. En el laboratorio se colecta una porción de material para ser inspeccionado en microscopio óptico, y haciendo uso de claves adecuadas se aproxima la especie, el género, o más frecuentemente el orden. En la mayoría de los casos aproximar la especie requiere que los organismos estén en estado reproductivo para poder visualizarse diferentes estructuras y morfologías específicas en los filamentos, aspecto que no siempre se consigue. Para estimar la densidad se toma el material fijado y se lo coloca en un recipiente de superficie cribada junto con un papel secante para así eliminar el exceso de líquido. Luego se lo deja secar en estufa a 60°C por 48h. Finalmente se pesa la muestra y el resultado se expresa como g/superficie medida estandarizada.

el uso de redes. No obstante, dada la elevada variabilidad de estos ecosistemas, cada situación deberá de ser analizada de forma particular por el agente que realiza el muestreo.

El uso de redes de fitoplancton puede tener dos finalidades distintas en este tipo de humedales. En primer lugar será para la determinación de la riqueza de especies presente en el humedal. De este modo, la muestra se denomina de tipo “cualitativa” y puede hacerse en cada uno de los sitios de muestreo identificados. Si se considera la heterogeneidad ambiental del humedal que se está muestreando, este método puede resultar suficiente para determinar cambios sustanciales en la composición de especies entre los diferentes sitios de muestreo seleccionados. La muestra cualitativa también puede ser de tipo integrada. Esto es combinar agua de todos los sitios de muestreo seleccionados dentro de un humedal en términos de tener una idea general de la composición de especies del ambiente bajo estudio. En ocasiones un muestreo de tipo exploratorio puede ser útil para la toma de decisiones. Un segundo uso para las redes de plancton puede ser su empleo como método de muestreo cuantitativo. Es decir, la muestra extraída con red puede ser utilizada para la cuantificación de organismos. Este puede ser útil en aquellas ocasiones que no se cuenta con un microscopio invertido para el procesamiento posterior de las muestras (ver más adelante), o en aquellos casos donde las características del ambiente determinan que la densidad de organismos sea muy baja, y sea necesario por lo tanto concentrar la muestra antes de su procesamiento en el laboratorio. Una alternativa a esto puede ser la utilización de métodos de concentración, que serán abordados de forma posterior en este capítulo. En este segundo caso, conocer el poro de la red empleada y el volumen filtrado resulta fundamental para lograr una estimación de la densidad de organismos que sea fiable.

El uso de bombas de succión de bajo voltaje y el posterior filtrado de la muestra o su almacenamiento en recipientes de mayor tamaño (500 o 1000 ml) también puede ser útil para ambientes donde haya una baja concentración de organismos. Esto puede saberse realizando un muestreo exploratorio para tomar las decisiones que sean más adecuadas.

Contenedores, preservación, etiquetado y transporte

Para el caso del fitoplancton el volumen de muestra estándar es de entre 100 y 120 ml. Pueden

emplearse frascos de tipo plástico o de vidrio y siempre es recomendable, en caso de ser posible que sean frascos de boca ancha. Como ya se mencionó anteriormente, la apertura del frasco puede condicionar la entrada de organismos, especialmente los de mayor tamaño. Los frascos a utilizar deben ser transparentes o semitransparentes para poder ver la cantidad de sedimento que tiene la muestra y si su fijación ha sido correcta. Particularmente importante, si se están tomando muestras a elevada altitud, es que a medida que se baja de altura las diferencias de presión pueden hacer que el frasco se abra y la muestra, o parte de ella, se pierda. Por esto, comprobar que todos los frascos se encuentren bien cerrados al bajar en altura resulta fundamental para evitar la pérdida de la muestra. Otra alternativa es sellar la tapa con una cinta plástica o papel film. Tener presente que los cambios de presión abruptos pueden romper el frasco en caso de que éste sea de vidrio, por lo que el uso de frascos plásticos semi-transparentes o transparentes pueden ser la mejor opción al momento de almacenar la muestra.

Preservación de la muestra

Constituye un aspecto fundamental a ser considerado debido que se está trabajando con muestras biológicas susceptibles a la descomposición por bacterias y hongos. Dependiendo de la composición de la muestra, esta también puede sufrir alteraciones por procesos relacionados a la depredación del fitoplancton por individuos del zooplancton o eventos de reproducción que determinen que la muestra pueda alterarse si no es correctamente fijada.

Cualquier fijador que se utilice debería de reunir las siguientes características: no ser volátil, no ser irritante para mucosas o piel, ser químicamente estable en solución y durar por largos períodos de tiempo, ser de bajo costo, ser tóxicos a muy bajas concentraciones para bacterias y hongos que puedan tener actividad descomponedora, tener una buena preservación de la clorofila-a y otros pigmentos celulares, no modificar o tener un bajo impacto sobre la morfología de los organismos y tener una baja interacción con grandes cantidades de compuestos orgánicos e inorgánicos que pueden estar presentes en una muestra ambiental. Cualquiera sea el caso, la muestra debe ser preservada de forma inmediata luego ser colectada en campo. Como regla general, independientemente del método de fijación que se utilice, la muestra una vez fijada con el agente preservante debe ser almacenada en oscuridad y en un lugar fresco hasta que llegue a su destino final.

Los tipos de conservantes pueden ser:

1. Soluciones a base de formaldehído.
2. Solución de Lugol y sus adaptaciones.
3. Glutaraldehído y sus adaptaciones.
4. Solución de alcohol al 70%.

Si solo se está interesado en conservar las diatomeas, un grupo dentro del fitoplancton que puede llegar a ser muy abundante en este tipo de ambientes, su almacenamiento por largos periodos de tiempo usando formaldehído o Lugol acidificado no es recomendable. Esto es principalmente porque ambos fijadores reducen el pH de la muestra, que a concentraciones menores a 7 puede producir la degradación del óxido de sílice presente en el frústulo de las diatomeas (principal elemento morfológico utilizado para la identificación de este grupo de organismos). Esto puede posteriormente llevar a identificaciones taxonómicas erróneas. Entre los métodos sugeridos, si solo se busca conservar las diatomeas y no al ensamble de organismos fitoplanctónicos en su totalidad, algunos autores sugieren el uso de otros preparados como ser la solución de Transeau que consiste en mezclar 6 partes de agua destilada con 3 partes de alcohol etílico de 96° y una parte de formaldehído (6:3:1). Otra solución reportada con un bajo nivel de alteración en cortos periodos de tiempo (3 semanas) es una solución al 2.0% de formaldehído, 2.5% de solución de Lugol acidificada mezclado con 2.0% (v/v) formaldehído + 2.5% de solución de Lugol acidificada. El uso de formaldehído neutralizado con hexamina también constituye una alternativa útil al momento de fijar la muestra para el análisis de diatomeas. De igual modo con el tiempo debe comprobarse el pH de la muestra y si se vuelve ácido debe adicionarse hexamina. (<https://remaqua.conicet.gov.ar/>)

Etiquetado

Cada muestra que se colecte debe ser además correctamente etiquetada. Para esto pueden usarse etiquetas comerciales o cinta de papel. El rotulado debe hacerse en lápiz o con fibra indeleble. No usar bolígrafo siendo la etiqueta puede borrarse con la humedad ambiente o durante su almacenamiento. En caso de ser necesario la etiqueta puede cubrirse con cinta transparente de forma asegurar su integridad durante largos periodos de tiempo. No se recomienda el uso de una etiqueta interna con papel vegetal siendo puede adherirse al material en suspensión presente en la muestra colectada que luego comprometa la homogeneización de la muestra.

Toda etiqueta debe de contar con la siguiente información:

- Fecha en que fue colectada la muestra.
- Código de muestra. Este código debe representar el sitio donde fue tomada y el número de réplica.
- Tipo de muestra. Fitoplancton: cuali o cuantitativa.

En caso de que se haya filtrado un volumen de agua conocido es recomendable incluir el volumen filtrado en la etiqueta. A fines prácticos de localización de la muestra, el código utilizado para la identificación se puede repetir en la tapa del frasco colector. Esto facilitará posteriormente la localización de la muestra en el lote almacenado.

Como ya se indicó anteriormente, este tipo de humedales presentan amplias fluctuaciones temporales en el nivel hidrométrico, llegando incluso a secarse o congelarse en determinados momentos del año. Por esto es recomendable incorporar un punto de GPS para cada muestra que se colecte de forma poder llevar un control de los sitios donde se colectan las muestras. Esto es particularmente importante si se está haciendo un monitoreo a largo plazo. En caso de que en sucesivos muestreos se produzca una retracción del cuerpo de agua y no pueda mantenerse el punto de muestreo, deberá seleccionarse un punto de muestreo con características similares. Por esto se recomienda que para cada muestra se lleve una planilla control de código donde se especifique:

- Sitio de muestreo.
- Características del sitio de muestreo (presencia de vegetación y tipo, tipo de sustrato, nivel hidrométrico del agua donde fue tomada la muestra) y cualquier otra información que el agente considere relevante.
- Punto de GPS.

Transporte

Una vez que la muestra fue colectada y fijada es recomendable que siempre sea transportada en una conservadora que asegure que la muestra se encuentre en oscuridad y fresca. No se requiere refrigeración. En el laboratorio la muestra debe ser conservada preferentemente en heladera a 4-5°C y en oscuridad. Importante que la muestra nunca se congele. El congelamiento de la muestra implica que se produzca la lisis celular por acumulación de cristales de agua en el citoplasma celular. En caso de que esto suceda, la muestra no puede ser utilizada para el conteo.

Metodologías de conteo de organismos

Una vez que la muestra ha sido tomada, el siguiente paso en la cuantificación e identificación de los organismos fitoplanctónicos presentes en la muestra. Para esto existe una gran cantidad de métodos de conteo cuyo empleo dependerá de las características de la muestra colectada y las facilidades técnicas del profesional que realizará el procesamiento de la muestra.

El análisis cuantitativo del fitoplancton consiste en realizar un inventario de los taxones y un conteo de los individuos registrados de cada taxón pudiendo variar el nivel de especificidad que se utiliza según los objetivos del trabajo, y la experiencia de quien realiza el conteo. En general se recomienda que los individuos del fitoplancton que se está cuantificando sean considerados como aparecen en la naturaleza (células individuales, colonias, filamentos o cenobios. Ver **Figura 2**); siendo en ocasiones, también posible realizar el conteo como células. Independientemente del método de conteo que se utilice, es recomendable realizar una visualización previa de la muestra en orden de tener una idea de la densidad y de los taxones que pueden aparecer durante el conteo.

A continuación, se citan algunos de los métodos más empleados:

1) *Citometría de flujo*

2) *Método con cámara de Sedgwick-Rafter*

3) *Método de Utermöhl*

4) *Método por concentración*: Se utiliza para situaciones en que la densidad de microalgas es muy baja, y, por lo tanto, las muestras deben ser primero concentradas con el fin de cuantificar con precisión estas especies. Un método alternativo al antes explicado es el de concentrar las células de fitoplancton con filtros de membrana semitransparentes. En este método las muestras de agua de 500 o 1000 mL obtenidas en campo, se filtran directamente sobre un filtro de membrana a una potencia de bombeo baja para evitar el daño de las células. El material filtrado puede mezclarse con unas gotas de Lugol o eritrosina para favorecer la visualización de las células retenidas en el filtro. Luego se coloca el filtro bajo el microscopio óptico para realizar la identificación y enumeración de células de fitoplancton.

Para calcular la concentración (ind/mL) de las diferentes especies en su preparación debe de conocerse:

V = Volumen de la muestra de concentrado en el filtro (ml).

Ba = Área del filtro (mm²).

Bc = área de la parte del filtro que se cuenta (mm²).

N = Número de células contadas por las especies de interés.

El factor de conversión CF se calcula como

$$CF = Ba / Bc$$

El número de individuos por mililitro se calcula entonces como

$$C \text{ (ind/mL)} = N \cdot (CF/V)$$

Los factores de conversión deberán calcularse para cada unidad de filtrado, así como para cada combinación de sub-área de muestreo y aumento utilizado.

Cuando se está contando un campo, deben de registrarse todos los individuos que se encuentran incluidos en el mismo. Como ya se indicó anteriormente, lo más recomendable es considerar a los organismos como se presentan en la naturaleza (células individuales, colonias, filamentos o cenobios). En caso de colonias y filamentos donde el número de células y el tamaño es variable pueden emplearse diferentes criterios:

- Contarlos como individuos. Si solo se va a trabajar con densidad de organismos.
- Crear categorías de tamaño o categorías de número de individuos en caso de colonias. Por ejemplo: colonias de < 50 células, >50 o considerando un filamento cuando tienen 50 µm sino no se considera como organismo. Estas categorías son útiles cuando se trabaja con biovolumen y se quiere tener una estimación más certera.
- En organismos cenobiales se considera al cenobio como una unidad funcional indistinguible (1 individuo).
- En ocasiones puede ocurrir que organismos coloniales o cenobiales se rompan producto de la exposición al agente fijador o durante la homogeneización de la muestra. Esto determinará que organismos coloniales o cenobiales aparezcan como células individuales. En este caso adoptar un criterio de conteo y mantenerlo en el tiempo es lo más recomendable para reducir el error de conteo. Por ejemplo, *Synura uvella* es un organismo colonial formado por varias células. Puede ocurrir que durante el conteo aparezca como células individuales. En este caso puede tomarse un criterio de conteo, por ejemplo, considerar que cada 5 células registradas se cuenta 1 individuo. Para organismos que aparecen formando cadenas (como muchas diatomeas) puede considerarse un criterio similar.

Es frecuente además que en un campo aparezcan individuos incompletos que presentan la duda de ser contados o no, sobre todo cuando se trabaja con campos al azar. En estos casos es útil aplicar el criterio del 50%. Si el cuerpo de la microalga está más del 50% incluido dentro del campo, entonces se cuenta. En caso contrario el individuo no se registra en ese campo. Para aquellos casos donde se está contando toda la cámara y un individuo aparece parte en un campo y parte en el siguiente debe decidirse en qué campo se cuenta, para así no hacerlo dos veces (**Figura 4**).

Cabe aclarar que cualquiera sea el método de conteo elegido, solo deben registrarse aquellos organismos que presentan contenido celular al momento de ser observada la muestra. Esto es, organismos que aparecen sin contenido celular, como ser valvas de diatomeas vacías, filamentos sin contenido celular u organismos parcialmente descompuestos no deben ser considerados en el conteo siendo no estaban vivos al momento de fijarse la muestra.

Otro aspecto para tener en cuenta es la precisión deseada. La misma dependerá directamente de la cantidad de campos que se cuenten. Efectivamente a mayor número de campos mayor precisión en la estimación de la densidad. El grado de precisión puede calcularse según la siguiente fórmula:

$$D = \frac{2 \cdot 100}{\sqrt{n^{\circ} \text{ de organismos contados}}}$$

Para, por ejemplo, un total de 500 individuos contados, la precisión es del 91,06% (error de 8.94%). Sin embargo, alcanzar este número de individuos puede ser muy costoso en tiempo. Dependiendo

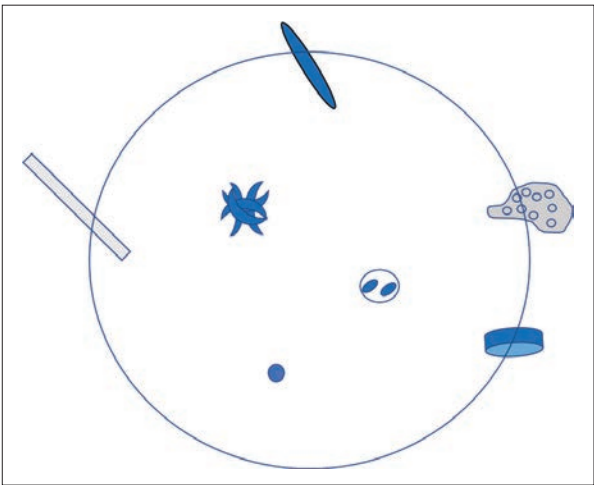


Fig. 4. Ilustración del criterio de >50% para el conteo por campos al azar. En gris se indican los individuos que no deberían de ser considerados por no estar incluido mas del 50% de la biomasa del organismo dentro del campo.

N. ind.	% error
4	100.0
5	89.4
7	75.6
10	63.2
15	51.6
20	44.7
25	40.0
40	31.6
50	28.3
75	23.1
100	20.0
200	14.1
400	10.0
500	8.9
700	7.6
1000	6.3
2000	4.5
5000	2.8
10000	2.0

Tabla 2. Estimación del error de conteo conforme al número total de individuos contados en la muestra.

de la muestra lo más probable es que un número elevado de organismos nunca se alcance. Por lo tanto, un criterio aceptable es considerar al menos 100 individuos de la especie dominante (Lund et al., 1958), que implica un error del 20% en la estimación (Tabla 2). En caso de que tampoco pueda alcanzarse ese número, puede considerarse contar al menos 400 individuos de todos los taxones registrados en el total de la muestra; pudiendo muy frecuentemente, ser necesario contar más de una cámara para alcanzar el número mínimo de individuos requerido.

Otra alternativa es estimar el número de campos necesario a contar realizando un conteo preliminar de la muestra. Esto puede hacerse utilizando una de las fórmulas propuesta por Venrick (1978). En este caso se requiere hacer un conteo preliminar de la muestra contando al menos 20 campos.

Análisis complementarios

Los organismos representados en el fitoplancton varían en tamaño y forma y esto tiene un impacto pronunciado en sus propiedades funcionales básicas, como el acceso a los nutrientes o la luz, la velocidad de hundimiento o la tolerancia a la

depredación. El biovolumen expresado en general como mm^3/L , así como también la máxima dimensión lineal (MDL) expresada en μm , son estimaciones del tamaño de las microalgas. En comparación el cálculo de clorofila-a, el cálculo del biovolumen resulta ser una media más efectiva siendo algunos grupos de algas presentan grandes concentraciones de clorofila b y c, o para el caso de las cianobacterias, la concentración de clorofila-a puede ser sustancialmente menor a la contenida en otros grupos de fitoplancton. Siendo además la concentración de clorofila-a varía según el estado fisiológico del organismo. Esto puede entonces enmascarar las mediciones y por tanto hacen de la cuantificación de clorofila-a una medida menos fiable al momento de valorar la salud ambiental de un sistema acuático.

Biovolumen

Para el cálculo del biovolumen se utiliza frecuentemente el método propuesto por Hillebrand et al. (1999) en donde se miden entre 10 y 25 individuos de cada taxón registrado asimilándolo a una forma geométrica que responda a la forma del organismo. La estimación del biovolumen se realiza de forma individual, por lo que en el caso de organismos que sean coloniales, cenobios o filamentos puede estimarse el volumen de una célula y luego

multiplicar el valor obtenido por el número total de células en términos de tener una estimación más precisa (**Figura 5a**).

La estimación del biovolumen celular se realiza sin considerar estructuras anexas como son espinas, flagelos, lórigas, o vainas de mucílago que son externas a la célula y que pueden ocupar un volumen variable. Una vez que el biovolumen celular medio ha sido estimado para cada uno de los taxones identificados se procede a multiplicar el resultado obtenido de la estimación de densidad (ind/ml) por el biovolumen medio (μm^3). El resultado final puede expresarse como $\mu\text{m}^3/\text{ml}$ o más frecuentemente como mm^3/L .

Máxima dimensión lineal

La máxima dimensión lineal de Lewis (MDL) se encuentra íntimamente relacionada con el biovolumen de una célula y se describe como el eje axial mayor de una célula medida en μm (**Figura 5b**). Es la MDL la que nos permite realizar clasificaciones por tamaños del fitoplancton que pueden tener interés en estudios de depredación, o bien dar información acerca de la amplitud de poro necesaria para filtrar estos organismos cuando se utilizan medios mecánicos o bien si se quiere aplicar algunas aproximaciones morfofuncionales que se

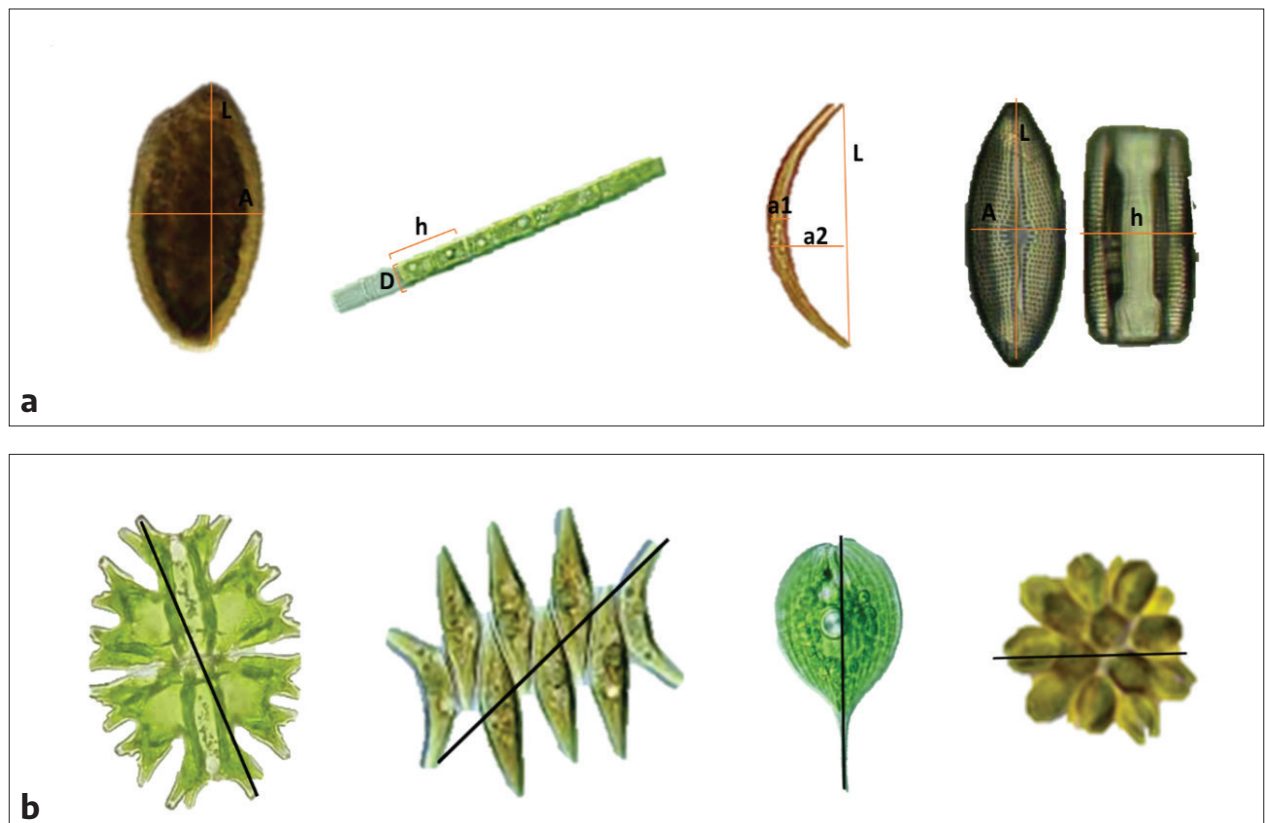


Fig.5. Ejemplos de medidas a considerar en diferentes tipos morfológicos para la estimación del biovolumen celular (a) y la máxima dimensión lineal (MDL) (b). Donde L es el largo, D es el diámetro, A es el ancho y h es la altura.

mencionan a continuación. En este caso debe de considerarse la máxima dimensión lineal del organismo en su totalidad, incluyendo vainas de mucílago y diferentes tipos de proyecciones más o menos rígidas como lórigas, espinas, escamas, o proyecciones celulares como cuernos u otras estructuras que acompañen y formen parte del organismo.

Identificación de especies. Uso de claves

La identificación de organismos del fitoplancton, a nivel de género o especie, puede constituir una tarea desafiante que requiere años de experticia y una sólida formación en ecología y taxonomía. Sin embargo, en términos de monitoreo de condiciones ecológicas, pueden utilizarse una gran cantidad de claves dicotómicas sencillas, que al menos pueden servir para aproximar el grupo y tener una idea general de la composición taxonómica en el ambiente que se está trabajando. No obstante, una identificación adecuada y detallada requiere frecuentemente la consulta con un experto en la materia. Particularmente, en lo que son humedales de altura existe una gran cantidad de endemismos, especialmente para las diatomeas, siendo muy posible que haya aún especies y subespecies que aún no han sido descritas. Debe tenerse presente además, que en años recientes muchos organismos han sido transferidos y nuevos géneros propuestos a partir de estudios de secuenciación de genes. En este sentido, el sitio web *Algaebase* se constituye como una buena alternativa para chequear la transferencia de estos organismos y algunas características generales que son útiles para la identificación (sitio web <https://www.algaebase.org/>). Para el caso particular de las diatomeas, donde profundos cambios en su taxonomía han ocurrido en años recientes, puede consultarse el sitio <https://diatoms.org/> como orientativo y para evaluar si se han producido transferencias a nuevos géneros.

Así mismo, para el uso de estas claves dicotómicas se requiere además manejar terminología específica para definir caracteres morfológicos que son utilizados para la descripción de especies. Tal es el caso para diatomeas donde diferentes terminologías son utilizadas para mencionar ornamentaciones del frústulo (estrías, areolas, rafe, pórtulas, etc.), denominaciones para diferentes formas de los cloroplastos, identificación de la presencia de estructuras especializadas como son pirenoides, estigmas, escamas, flagelos, etc. En este punto, no es intención de este capítulo dar una descripción completa de todos los caracteres taxonómicos de valor diagnóstico para la identificación de los organismos.

Índices de calidad de agua que usan al fitoplancton como indicador

Los ensambles fitoplanctónicos son comúnmente utilizados como indicadores del estado ecológico de un sistema acuático, especialmente en lagos y embalses debido a que responden rápidamente a los cambios del ambiente, a través de cambios en la composición de especies y abundancias relativas de las mismas. El fitoplancton es una herramienta útil en términos de detectar y estimar el impacto de alteraciones fisicoquímicas relacionadas con contaminación térmica, cambios en la mineralización del agua, eutrofización y contaminación orgánica. Sin embargo, la aplicación de índices de calidad de agua que utilizan el fitoplancton exige el conocimiento de la composición de especies, su abundancia, y para algunos índices, como se verá a continuación, el biovolumen.

Existe una gran diversidad de índices que utilizan al fitoplancton como indicador de calidad del agua. En Argentina, sin embargo, no contamos a la fecha con protocolos específicos o índices especialmente desarrollados para el fitoplancton de sistemas acuáticos continentales y menos para humedales de zonas áridas y semi-áridas. Por esto se usan con frecuencia diferentes índices que han sido desarrollados y validados para otras regiones geográficas, especialmente Europa. Debe tenerse presente que la mayoría de los índices que se presentan a continuación no han sido validados para sistemas acuáticos continentales de Argentina, por lo que los resultados obtenidos luego de su aplicación deben de ser sopesados con criterio de experto.

Entre los índices de más fácil aplicación pueden mencionarse los siguientes:

Índice trófico planctónico (Barbe et al. 2003):

$$IPL = \sum Q_i * A_j$$

Donde:

Q_i = puntuación asignada a los diferentes grupos de fitoplancton (varía entre 1 y 7).

A_j = Abundancia relativa porcentual de los grupos de fitoplancton presentes (varía de 1 a 5).

Índice de Hörnström (1981):

$$IL = \sum f * L_s / \sum f$$

Donde:

f = frecuencia de la especie (conteo)

L_s = índice trófico de la especie

Índice SLA (Sládecek 1973):

Si bien es un indicador generado para ríos las vegas y bofedales son sistemas semi-lóticos. Funcionan como ríos anastomazados de muy bajo caudal.

$$SLA = \sum_{i=1}^n h * g * S / \sum_{i=1}^n g * h$$

Donde:

h= valor de la especie i

g= valor indicador de la especie i

S= sensibilidad de la especie

Índice de ensamble fitoplanctónico (Padisák et al. 2006):

$$Q = \sum_{i=1}^n p_i * F$$

Donde $p_i = n_i / N$; n_i es la biomasa del i-ésimo grupo funcional de Reynolds; N: total biomasa) y F es un valor indicador establecido para grupo funcional según el tipo de lago específico.

Algunos otros índices que requieren de mayor experticia y que fueron validados para su uso en lagunas eutróficas y arroyos pueden ser consultados en Frau et al. (2018; 2019).

Clasificaciones morfofuncionales para la indicación de la calidad del agua

Una alternativa al uso de índices es el estudio de diferentes atributos del fitoplancton en el ambiente que se está trabajando. Para el caso de humedales áridos los principales cambios que se producen están relacionados con cambios en el nivel hidrométrico, estando esto directamente relacionado con cambios en la concentración de nutrientes y sales en solución (conductividad). De forma creciente, otras alteraciones relacionadas a procesos extractivos y de eutrofización antrópica de estos humedales también se están volviendo frecuentes. Los cambios en los ensambles de microalgas en estos ecosistemas también pueden estar relacionados a cambios en la temperatura, pH o concentración de materia orgánica. Muchos de estos cambios pueden estar relacionados a cambios estacionales e interanuales propios del ecosistema, y en ocasiones a alteraciones de origen antrópico. Es por todo esto que el análisis comparativo de las abundancias relativas de las especies o taxones de fitoplancton registrados en diferentes puntos de muestreo, períodos (meses o años), o antes y después de producirse un impacto de origen antrópico, también pueden ser

considerados buenos indicadores para describir cambios en la calidad de agua.

Por su parte, la asociación de parámetros ecológicos antes indicados, como son el biovolumen de los taxones registrados o la MDL, junto con el análisis comparativo de diferentes variables fisicoquímicas (temperatura, concentración de nutrientes, pH, oxígeno disuelto, etc.) también pueden aportar información valiosa en este tipo de ecosistemas. Estas asociaciones, mediante el uso de diferentes técnicas estadísticas como correlaciones simples, múltiples, regresiones, análisis de ordenamiento y de agrupamiento, entre otros, permiten el análisis de la respuesta de los ensambles fitoplanctónicos a los cambios ambientales que ocurren en el humedal bajo estudio. Todo esto sin necesidad de recurrir a índices de calidad de agua que aún no han sido suficientemente testeados y/o adaptados a este tipo de ecosistemas acuáticos tan particulares.

Por su parte, las clasificaciones morfofuncionales como las de Reynolds et al. (2002) posteriormente modificada y mejorada por Padisák et al. (2009) y Kruk et al. (2017) o clasificaciones de tipo morfológicas como la de Salmaso & Padisák (2007) y Kruk et al. (2010) han sido frecuentemente puestas a prueba en diferentes tipos de ecosistemas acuáticos a lo largo del mundo, demostrando ser eficientes al momento de bioindicar cambios en la calidad del agua. Este tipo de clasificaciones se basan en agrupar a los taxones según características morfológicas y fisiológicas, aportando información acerca de tolerancias y sensibilidades a cambios en la temperatura, conductividad, luz, nutrientes, mezcla de la columna de agua, lavado y depredación. El análisis estadístico de la distribución de grupos morfofuncionales en el espacio y el tiempo, así como su asociación con diferentes variables ambientales, también se constituyen como una herramienta válida para el biomonitorio de humedales de zonas áridas y semi-áridas.

Bibliografía

Barbe, J. M., L. Lafont, J. Mallet, M. Mouthon, F. Philippe, V. Vey. 2003. Actualisation de la méthode de diagnose rapide des plans d'eau. Analyse critique des indices de qualité des lacs et propositions d'indices de fonctionnement de l'écosystème lacustre. Cemagref. Agence de l'Eau.

Frau, D., G. Mayora, M. Devercelli. 2018. Phytoplankton based water quality metrics: feasibility of its application in a neotropical shallow lake. *Marine and Freshwater Research* 69: 1746-1754.

Frau, D., J. Medrano, C. Calvi, A. Giorgi. 2019. Water quality assessment of a neotropical pampean lowland stream using a phytoplankton functional trait approach. *Environmental Monitoring and Assessment*, 91: 681.

Hillebrand, H., C. D. Dürselen, D. Kirschtel, U. Pollinger, T. Zohary. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35: 403-424.

Hörnström, E. 1981. Trophic characterization of lakes by means of qualitative phytoplankton analysis. *Limnologia*, 13: 249-261.

Kruk, C., V. L. M. Huszar, E. T. H. M. Peeters, S. Bonilla, L. Costa, M. Lüring, C. S. Reynolds, M. Scheffer. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology*, 55: 614-627.

Kruk, C., M. Devercelli, V. L. M. Huszar. 2017. Classification of Reynolds phytoplankton functional groups using individual traits and machine learning techniques. *Freshwater Biology*, 62: 1681-1692.

Lund, J.W.G., C. Kipling, E. D. LeCren. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations of counting. *Hydrobiologia*, 11:143-70.

Padisák, J. G. Borics, I. Grigorszky, E. Soróczy-Pinér. 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: the assemblage index. *Hydrobiologia*, 553: 1-14.

Padisák, J., L.O. Crossetti, L. Naselli-Flores. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: A critical review with updates. *Hydrobiologia*, 621: 1-19.

Reynolds, C.S., V. Huszar, C. Kruk, L. Naselli-Flores, S. Melo. 2002. Towards a functional classification

of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 24: 417-428.

Salmaso, N., J. Padisak. 2007. Morpho-Functional Groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia*, 578: 97-112.

Sládeček, V. 1973. System of water quality from the biological point of view. *Archiv für Hydrobiologie*, 7: 1-218.

CAPÍTULO 15

Valoración de la condición ecológica de los humedales patagónicos mediante la utilización de plantas acuáticas

Manzo, L.M., Kutschker, A.M

Objetivo

Describir una metodología para evaluar el estado de conservación de los humedales patagónicos (también conocidos como mallines), mediante la aplicación de un índice basado en el relevamiento cuantitativo de plantas acuáticas.

Vegetación asociada a los mallines

Las plantas acuáticas juegan un rol vital en el funcionamiento de los humedales. Como productores primarios, son relevantes en la producción de biomasa e intervienen en el ciclo y la dinámica de nutrientes, a menudo regulando las condiciones físico-químicas del agua. Al mismo tiempo, proveen hábitat, refugio, y alimento para otras especies acuáticas y terrestres. Así, se han vuelto importantes herramientas en planes de monitoreo de los ecosistemas de agua dulce, a la vez que funcionan como indicadores biológicos, respondiendo consistentemente a los cambios ambientales (Beck *et al.*, 2014; Poikane *et al.*, 2018).. Por ejemplo, las formas de vida sumergidas responden rápidamente a los disturbios antropogénicos, siendo usadas como indicadoras de la calidad del agua y de la eutrofización (Penning *et al.*, 2008; Dong *et al.*, 2021). No obstante, otros atributos de las plantas acuáticas resultan útiles para reflejar los cambios físicos, químicos y biológicos del área circundante al humedal y también aquellas modificaciones relacionadas con los efectos del cambio climático. Por ejemplo, la riqueza y cobertura de plantas nativas (Kutschker *et al.*, 2014), y las asociaciones de plantas emergentes (Manzo *et al.*, 2020a) han sido métricas usadas exitosamente para detectar los impactos del uso del suelo resultantes del pastoreo y de los efectos asociados a las urbanizaciones en humedales de la región patagónica.

En este trabajo la vegetación asociada a los mallines se designa como macrófitas e incluye a los organismos acuáticos fotosintéticos lo suficientemente grandes a simple vista, que crecen permanente o periódicamente sumergidos, flotando o emergiendo de la superficie del agua (Chambers *et al.*, 2008). Las macrófitas acuáticas incluyen taxones pertenecientes al Reino Plantae, siguiendo la clasificación propuesta por Ruggiero *et al.* (2015), y abarcan desde algas filamentosas (Chlorophyta), macroalgas (Charophyta) hasta musgos (Bryophyta) y, dentro de las plantas vasculares, a Pteridophyta y Spermatophyta (Gimnospermas y Angiospermas).

Las macrófitas acuáticas se pueden clasificar en función de su hábito en helófitas e hidrófitas (Figura 1):

A) Las **helófitas** son aquellas plantas que están enraizadas en suelos sumergidos, en suelos periódicamente inundados o sometidos a variación de los niveles de humedad. Los órganos reproductivos de estas plantas son siempre aéreos. Típicamente crecen en el sector litoral de los humedales y se las puede subdividir en:

- **Emergentes**: plantas que crecen de manera permanente o temporal en suelos inundados.

- **Marginales**: plantas vasculares terrestres, que crecen en la periferia o áreas marginales de los humedales, en suelos con contenido de humedad variable dependiendo del tipo de biozona o ambiente donde esté emplazado el humedal.

B) Las **hidrófitas o plantas acuáticas**, en sentido estricto, incluyen representantes del Reino Plantae que completan su ciclo biológico cuando todas sus partes se encuentran sumergidas. Viven en

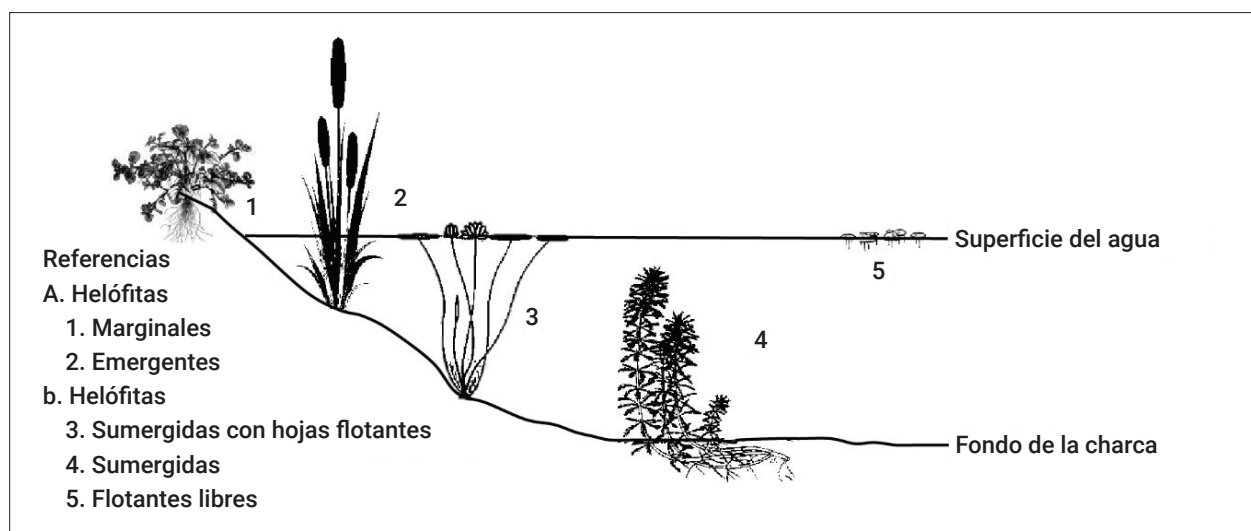


Fig. 1. Esquema general de una charca donde se representan los distintos hábitos de las plantas.

ríos, arroyos, humedales e incluso en ambientes marinos. Se pueden subdividir en:

- *Sumergidas*: plantas enraizadas, con todas sus partes vegetativas sumergidas en la columna de agua. Los órganos reproductivos de estas plantas pueden ser aéreos, flotar en la superficie del agua o más raramente encontrarse sumergidos.

- *Sumergidas con hojas flotantes*: plantas enraizadas, mayormente sumergidas en la columna de agua, con sus hojas largamente pecioladas y adaptadas al stress mecánico; los órganos reproductivos de estas plantas flotan en la superficie del agua o son aéreos.

- *Flotantes libres*: plantas acuáticas no enraizadas al sedimento, cuyas hojas y órganos reproductivos son aéreos o flotan libres en la superficie del agua.

Materiales y métodos para el muestreo de macrófitas asociadas a mallines

Materiales

- GPS
- Cámara fotográfica
- Waders y botas
- Guantes largos que protejan del agua helada o de aguas contaminadas, y que permitan trabajar con comodidad
- Cinta métrica y unidad muestral circular de 0,25 m² de superficie (ejemplo hula hula plástico de color llamativo o vistoso para trabajar en el campo).
- Rastrillo u horquilla para tomar muestras del fondo, en sitios más profundos.

- Planilla de campo (para el sitio y el registro de la vegetación) y lápiz negro para completarla.
- Bolsas de plástico para almacenar el material a procesar luego en laboratorio.
- Cinta aisladora blanca y marcador indeleble para rotular
- Conservadoras con hielo y/o refrigerantes para el guardado y traslado de las muestras al laboratorio
- Papel de diario para herborizar ejemplares de macrófitas en caso de campañas largas que requieran el acondicionamiento inmediato del material vegetal recolectado.
- Solución de hipoclorito de sodio al 5 % para la desinfección de equipo utilizado.

Consideraciones particulares a tener en cuenta

- a) Accesibilidad: asegurarse de que los sitios a muestrear sean de fácil acceso, tanto en lo referido al relieve como a la autorización de propietarios, en caso de corresponder a terrenos privados.
- b) Condiciones climáticas: verificar buenas condiciones para muestrear. Además analizar las precipitaciones previas a la fecha de muestreo, seleccionando un mínimo de siete días libres de precipitaciones en la región a evaluar. Esto facilitará por un lado el acceso a la charca y el recorrido del área, y por el otro, permitirá obtener registros más ajustados y estables de las condiciones del mallín.
- c) Existen humedales que por sus características fisicoquímicas (pH, salinidad, total de sólidos en suspensión) son naturalmente pobres en cuanto a riqueza florística. No obstante, este resultado no responde a un disturbio antrópico, sino más bien a otras causas. Por lo tanto, para no incurrir en errores de interpretación, si

se trata de un ambiente desconocido se sugiere revisar estudios o antecedentes del área, o en su defecto, establecer un sitio de referencia (esto es, sin disturbar) para poder establecer comparaciones.

- d) Condiciones hidrológicas: verificar que, al momento del muestreo a campo, el mallín presente una charca con suficiente agua para muestrear los distintos hábitos o formas de vida de las macrófitas.
- e) En la región patagónica, la mejor época para el muestreo de plantas acuáticas asociadas a humedales es a fines de primavera y principios de verano, porque los humedales tienen suficiente agua y las plantas presentan flores/frutos que ayudan a su identificación taxonómica y a una mejor estimación de su abundancia.
- f) Para hacer una buena recolección del material vegetal, los ejemplares deben estar lo más completo posible, es decir, contar con las partes vegetativas (raíz, tallo, hojas) y reproductoras (flores y frutos).

Caracterización del sitio de muestreo

Se deberá realizar un registro fotográfico del sitio de muestreo, en donde se incluyan todos aquellos atributos que resulten de importancia al momento de evaluar la condición ecológica del ambiente. Por ejemplo, registrar indicios de disturbio tales como la presencia de fecas, cárcavas, sales en superficie, vertidos cloacales, extracción de materiales, entre otros. Realizar una captura panorámica del área que refleje el emplazamiento del sitio en el paisaje, o en la matriz urbana y, si hubiera, evidenciar la presencia de rutas, alambrado, viviendas, etc.

En la ficha de campo se registrará la latitud, longitud y altitud, y también, información descriptiva del sitio de muestreo tal como la condición climática, la caracterización fisicoquímica, el tipo de vegetación circundante a la charca, entre otros datos (Anexo A).

Procedimiento de muestreo

Se realizarán muestreos para evaluar la composición de especies y otros atributos de la comunidad de macrófitas asociadas a los humedales patagónicos. Este procedimiento permitirá definir humedales de referencia, como también el estado de disturbio o deterioro del sitio relevado.

A los efectos de conocer la composición y riqueza de macrófitas, se hará un relevamiento de todas las especies o morfoespecies presentes en el humedal. El término morfoespecie se utiliza cuando un taxón no presenta o se desconoce su identificación taxonómica, por lo cual se le otorga un nombre temporal para que pueda ser diferenciada de otras especies, hasta tanto sea identificado correctamente. Se los

puede designar en este caso como morfoespecie 1, morfoespecie 2, y así sucesivamente.

En el caso de llevar adelante un estudio cuantitativo, que tenga como objetivo evaluar la abundancia de macrófitas, en cada sitio se establecerán tres transectas, cuya longitud será elegida de acuerdo al área de cada charca (esto es, la zona inundada del mallín). Cada transecta irradiará desde la línea de borde hacia el centro de la charca del mallín, comprendiendo todo el stand de macrófitas. La dirección de cada transecta será seleccionada al azar y sin reemplazo de acuerdo a las siguientes orientaciones posibles: sur, norte, este, oeste, sureste, suroeste, noreste y noroeste. A lo largo de cada transecta se ubicarán unidades de muestreo circulares (0,25 m²), dispuestas de manera equidistante cada 2 m, 3 m o 5 m, dependiendo de la longitud de la transecta. Para aplicar el mismo esfuerzo de muestreo por unidad de superficie, se deberá incrementar el número de unidades muestrales desde el interior del mallín hacia la periferia, como se muestra a modo de ejemplo en el esquema de la Figura 2.

Para la identificación de las especies, se removerán los especímenes con la mano (o con ayuda de herramienta para tal fin), quitándole los restos de barro o tierra, y se conservarán en bolsas plásticas debidamente rotuladas (fecha, sitio, etc.). Al momento de la recolección del material vegetal se registrará en la planilla de campo (Anexo B) la fecha, el nombre de la persona que realizó la colecta, la localidad, las coordenadas geográficas, la altitud, y las características del ejemplar tales como la familia, el nombre científico o nombre común, el hábito o el lugar de crecimiento (en caso de hidrófitas indicar si es enraizada, con hojas flotantes o flotante libre) y características que se pueden perder después del secado tales como el color de las flores, entre otros datos. Posteriormente, los ejemplares se retirarán de las bolsas plásticas y se herborizarán (ver sección 4) para su determinación taxonómica en el laboratorio.

Los equipos y materiales después de cada muestreo realizado en una estación serán lavados y desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %, para evitar la contaminación cruzada, principalmente en aquellos humedales conectados a cuerpos de agua lóticos (ríos, arroyos). Esta desinfección garantiza la eliminación de algas, huevos u otros microorganismos que pueden ser potenciales invasores.

La presentación comercial del desinfectante viene con una concentración aproximada del 5 % de hipoclorito de sodio, por lo tanto, para preparar 1 L de solución de hipoclorito de sodio al 2 %, se deben mezclar 400 ml de hipoclorito en 600 ml de agua

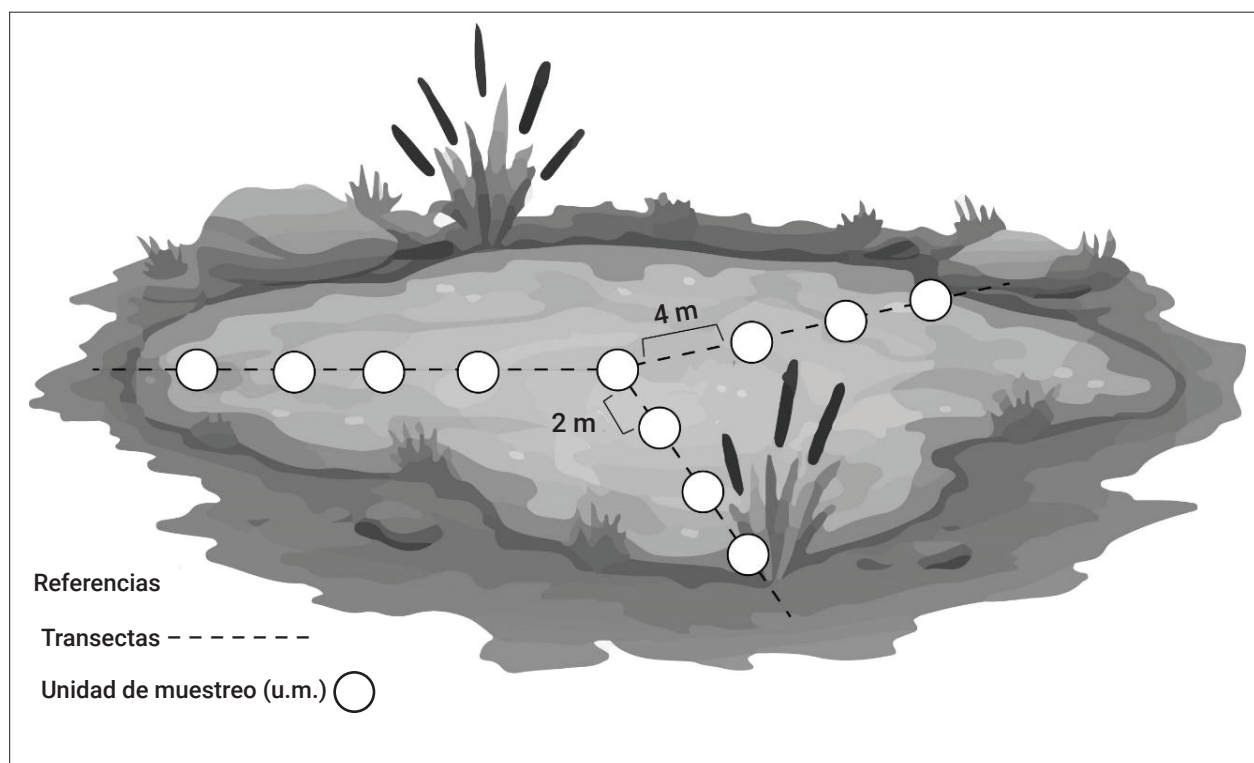


Fig. 2. Diseño de muestreo cuantitativo para plantas acuáticas asociadas a humedales patagónicos. Modelo de la disposición de las transectas y unidades muestrales en una charca.

destilada. Es importante que el agua sea destilada, ya que el agua corriente viene cargada de sales y metales que intervienen con su efectividad.

Acondicionamiento de las plantas para la confección de un herbario

Cada ejemplar (Figura 3 A) recolectado será retirado de la bolsa plástica, desplegado y colocado cuidadosamente sobre una hoja de papel de diario (Figura 4 B). Se procurará estirar y acomodar lo mejor posible cada órgano de la planta (raíces, hojas, flores y frutos) para facilitar su determinación. Sobre cada hoja de papel de diario, se colocará una etiqueta indicando la fecha y el lugar o el sitio (latitud, longitud) de la colecta, junto con cualquier otro dato o carácter de la planta (por ejemplo, color de las flores) que resulte de importancia en su identificación.

Una vez que todas las plantas halladas en los sitios muestreados se hayan acomodado sobre las hojas de papel de diario, se comenzará con el proceso de prensado. Para ello, todas las plantas se apilarán y cubrirán con una plancha de madera (preferentemente de igual o mayor tamaño que la hoja de papel de diario). Luego, se colocará un objeto pesado por encima para aplicar presión de manera uniforme. También,

se podrán utilizar correas/tensores para aplicar presión. Cada día se deberán cambiar las hojas de papel de diario para evitar que el material se pudra. Además, se podrán agregar varias hojas entre espécimen y espécimen para acelerar la absorción de humedad. Una vez que las plantas se encuentren totalmente secas, de a una se irán retirando de la prensa y fijando (con una cinta adhesiva) sobre una hoja de papel blanco (hoja tamaño A4). Finalmente, en el cuadrante inferior derecho de la hoja se deberá colocar una etiqueta, donde se indicará el nombre científico de la planta, el sitio de recolección y las coordenadas, la fecha de colecta, el nombre del colector, y cualquier otra observación o descripción de la planta (altura, color de flores, etc.) que contribuya a la identificación (Figura 4 C).

Se recomienda la confección de un herbario para la consulta permanente de las especies recolectadas. Es importante guardar el herbario en una caja con antipolillas para que dure más tiempo; almacenar en lugar fresco, seco, no expuesto al sol directo.

Identificación de plantas acuáticas asociadas a mallines

Los ejemplares recolectados en cada uno de los sitios relevados se podrán observar con un



Fig. 3. Proceso de herborización. A. Ejemplar relevado en campo por ejemplo *Veronica anagallis-aquatica*. B. Ejemplar sobre papel de diario, previamente prensado y secado. C. Ejemplar herborizado sobre papel blanco y etiquetado.

estereomicroscopio e identificar usando claves y bibliografía regionales (Correa, 1978-1999) y la colección de la Flora Argentina (Antón y Zuloaga, 2012-2020). Una vez identificados, los especímenes se clasificarán según su hábito en: sumergidas, sumergidas con hojas flotantes, flotantes libres, emergentes y marginales. También se les asignará su origen: endémicas, nativas, cosmopolitas o exóticas, y su ciclo de vida: anuales/bienales o perennes. Asimismo, se asignará a cada especie un valor de conservación según se detalla en el Anexo C. Para la actualización y verificación de los nombres científicos de las especies, así como para establecer su origen y ciclo de vida, se recomienda consultar el catálogo de plantas vasculares del Cono Sur, disponible online en el siguiente link: <http://www.darwin.edu.ar/>.

Índice de macrófitas para evaluar el estado ecológico de los mallines patagónicos (IMMP)

Como fuera mencionado anteriormente, tanto la riqueza total de macrófitas, y en particular la riqueza de especies nativas, así como el índice de diversidad de Shannon-Wiener han permitido evidenciar los efectos de la degradación relacionados con el uso del suelo y con la intensidad de los disturbios (ej. carga ganadera) en humedales patagónicos. Partiendo de esa base, aquí se propone el cálculo del Índice de Macrófitas para Mallines Patagónicos (IMMP), con el objetivo de evaluar su estado ecológico.

Para el cálculo del IMMP, se seleccionaron dos métricas que resumen los aspectos que mejor contribuyen para la determinación del estado ecológico de los mallines: a) Índice de Calidad Florística (ICF) y b) Importancia de las especies nativas y endémicas. Para establecer el ICF se tuvo en cuenta como métrica individual el valor de conservación de los taxones (Vc) (Anexo C) y su abundancia, medida de manera semicuantitativa a partir de la estimación de cobertura (Tabla 1). El valor de conservación de cada taxón se estableció teniendo en cuenta su origen, el ciclo de vida, la sensibilidad/tolerancia a la degradación, tipo de reproducción y datos de variables físico-químicas analizadas en estudios previos llevados a cabo en mallines de la región Patagónica Argentina y Chilena (San Martín et al., 2003; Kutschker et al., 2014; Manzo et al., 2020a; Claverie et al., 2021; Manzo et al., 2022). En el caso de las especies exóticas se consideró un valor de conservación igual a 0 y las mismas fueron excluidas de la formulación del índice, siguiendo lo propuesto por Nichols et al. (1999) y de acuerdo a lo que plantea Magee et al. (2019) respecto a la inclusión de todas las especies o solo las nativas en los índices para evaluar la condición de los humedales.

Para evaluar la abundancia de cada especie, se proponen tres rangos de cobertura: < 5 %; 5-50 % y > 50 %, asignándose a cada porcentaje un número entero que se relaciona con el valor de conservación de la especie y con su grado de contribución al estado ecológico del mallín. De esta manera, se

pondera positivamente una distribución equitativa de las especies en la comunidad o ensamble de macrófitas. En la tabla 1, se indican los valores de conservación (V_c) que puede presentar una especie y los correspondientes coeficientes de conservación (C), ajustados en función del grado de cobertura que ocupa en el sitio de muestreo.

Así, el cálculo final del IMMP se obtiene a partir de la siguiente ecuación (modificado de Nichols et al., 1999):

$$IMMP = \underline{C} \sqrt{N}$$

Donde,

$\underline{C}$ coeficiente medio de conservación de las especies.

N riqueza de especies nativas y endémicas.

Una vez obtenido el valor del IMMP, se le asigna el nivel de calidad y color correspondiente, según se indica en la tabla 2.

A modo de ejemplo en las siguientes figuras se evaluó el IMMP para sitios ubicados en la ecorregión de bosque (Figura 4) y de estepa patagónica (Figura 5).



Características del mallín:

Ecorregión: BOSQUE PATAGÓNICO

Provincia: Tierra del Fuego

Génesis: Glacigénico

Altitud: 123 m.s.n.m.

Temperatura media anual: 5 °C

Precipitación media anual: 600 mm

Condición ecológica del mallín:

Índice de Macrófitas para

Mallines Patagónicos (IMMP): 22,6

Nivel de calidad ecológica: MUY BUENA



Características del mallín:

Ecorregión: BOSQUE PATAGÓNICO

Provincia: Tierra del Fuego

Génesis: Glacigénico

Altitud: 2 m.s.n.m.

Temperatura media anual: 5,56 °C

Precipitación media anual: 625 mm

Condición ecológica del mallín:

Índice de Macrófitas para

Mallines Patagónicos (IMMP): 20,8

Nivel de calidad ecológica: BUENA



Características del mallín:

Ecorregión: BOSQUE PATAGÓNICO

Provincia: Santa Cruz

Génesis: Glacigénico

Altitud: 418 m.s.n.m.

Temperatura media anual: 7,23 °C

Precipitación media anual: 812 mm

Condición ecológica del mallín:

Índice de Macrófitas para

Mallines Patagónicos (IMMP): 10,3

Nivel de calidad ecológica: REGULAR

Fig. 4. Nivel de calidad ecológica de mallines localizados en la ecorregión de bosque patagónico.

**Características del mallín:**

Ecorregión: ESTEPA PATAGÓNICA
 Provincia: Santa Cruz
 Génesis: Remoción en masa
 Altitud: 700 m.s.n.m.
 Temperatura media anual: 4,98 °C
 Precipitación media anual: 372 mm

Condición ecológica del mallín:

Índice de Macrófitas para
 Mallines Patagónicos (IMMP): 16
 Nivel de calidad ecológica: BUENA

**Características del mallín:**

Ecorregión: ESTEPA PATAGÓNICA
 Provincia: Santa Cruz
 Génesis: Glacigénico
 Altitud: 445 m.s.n.m.
 Temperatura media anual: 5,42 °C
 Precipitación media anual: 290 mm

Condición ecológica del mallín:

Índice de Macrófitas para
 Mallines Patagónicos (IMMP): 11,6
 Nivel de calidad ecológica: REGULAR

**Características del mallín:**

Ecorregión: ESTEPA PATAGÓNICA
 Provincia: Chubut
 Génesis: Fluvial
 Altitud: 524 m.s.n.m.
 Temperatura media anua: 10,28 °C
 Precipitación media anual: 383 mm

Condición ecológica del mallín:

Índice de Macrófitas para
 Mallines Patagónicos (IMMP): 5,6
 Nivel de calidad ecológica: REGULAR/MALA

Fig. 5. Nivel de calidad ecológica de mallines localizados en la ecorregión de estepa patagónica.

Bibliografía

- Antón, A.M., F.O. Zuloaga. 2012-2020. Flora Vascular de la República Argentina. Estudio Sigma S.R.L. Buenos Aires. Consulta online: <http://www.floraargentina.edu.ar>
- Beck, M.W., C. M. Tomcko, R.D. Valley, D. F. Staples, 2014. Analysis of macrophyte indicator variation as a function of sampling, temporal, and stressor effects. *Ecol. Indic.* 46, 323–335. <https://www.researchgate.net/publication/264274554>
- Bran, D., J. Gaitan, J. Ayesa, C. López. 2004. La vegetación de los mallines del Noroeste de Patagonia. Taller: Los mallines en la Patagonia Argentina. Esquel, 4 al 5 de marzo 2004.
- Céréghino, R., A. Ruggiero, P. Marty, S. Angélibert. 2008. Influence of vegetation cover on the biological traits of pond invertebrate communities. *Ann. Limnol. - Int. J. Limnol.* 44, 267–274. <https://doi.org/10.1051/limn:2008010>
- Chambers, P.A., P. Lacoul, K. J. Murphy, S.M. Thomaz. 2008. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiol.* 595, 9–26. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9154-6>
- Claverie, A. Ñ., L.B. Epele, A.M. Kutschker, M.G. Grech, L. M. Manzo, M. L. Miserendino. 2021. Variabilidad estructural de la comunidad de macrófitas en un gradiente pluviométrico en la provincia de Chubut. *Ecol. Austral* 31, 431–443
- Correa, M.O. 1978-1999. Flora Patagónica. Tomo VIII: parte I, II, III, IVa, IVb, V, y VIII. Colección científica del INTA. Buenos Aires.
- Cremona, M.V., A. S. Enríquez. 2015. Los mallines de Patagonia Norte: sus funciones productivas y ambientales. *Presencia*, 9–13.
- Dong, B., Zhou, Y., Jeppesen, E., Shi, K., Qin, B., 2021. Response of community composition and biomass of submerged macrophytes to variation in underwater light, wind and trophic status in a large eutrophic shallow lake. *J. Environ. Sci. (China)* 103, 298–310. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.11.027>
- Kutschker, A. M., L. B. Epele, M. L. Miserendino. 2014. Aquatic plant composition and environmental relationships in grazed Northwest Patagonian wetlands, Argentina. *Ecol. Eng.* 64, 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.12.007>
- Magee, T.K., K. A. Blocksom, M. S. Fennessy. 2019. A national-scale vegetation multimetric index (VMMI) as an indicator of wetland condition across the conterminous United States. *Environ. Monit. Assess.* 191, 322. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7324-4>
- Manzo, L.M., M. G. Grech, L. B. Epele, A. M. Kutschker, M.L. Miserendino. 2020a. Macrophyte regional patterns, metrics assessment and ecological integrity of isolated ponds at Austral Patagonia (Argentina). *Sci. Total Environ.* 727, 138617. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138617>
- Manzo, L.M., L. B. Epele, C. N. Horak, A. M. Kutschker, M.L. Miserendino. 2020b. Engineered ponds as environmental and ecological solutions in the urban water cycle: A case study in Patagonia. *Ecol. Eng.* 154, 105915. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105915>
- Manzo, L.M., Epele, L.B., Grech, M.G., Kutschker, A.M., Miserendino, M.L., 2022. Which regionalization scheme is the best to predict wetland plant distribution in Western Patagonia? *J. Veg. Sci.* 1–15. <https://doi.org/10.1111/jvs.13157>
- Mazzoni, E., J. Rabassa. 2018. Wetlands Associated to the Basaltic Plateaus: Typology and Morphometry. In: *Volcanic Landscapes and Associated Wetlands of Lowland Patagonia*. Mazzoni, E., Rabassa, J., (Eds). The Latin American Book Series, 209–230
- Mitsch, W.J., J. G. Gosselink. 2015. *Wetlands*. John Wiley y Sons Inc., New York, USA 920 p.
- Nichols, S.A., 1999. Floristic quality assessment of Wisconsin lake plant communities with example applications. *J. Lake Reserv. Manag.* 15 (2), 133–141
- Paul, M.J., J. L. Meyer. 2001. Streams in the urban landscape. *Annu. Rev. Ecol. Evol. S.* 32, 333–365. <https://www.researchgate.net/publication/226135308>
- Penning, W.E., M. Mjelde, B. Dudley, S. Hellsten, J. Hanganu, A. Kolada, M. van den Berg, S. Poikane, G. Phillips, N. Willby, F. Ecke. 2008. Classifying aquatic macrophytes as indicators of eutrophication in European lakes. *Aquat. Ecol.* 42, 237–251. <https://doi.org/10.1007/s10452-008-9182-y>
- Poikane, S., Portielje, R., Denys, L., Elferts, D., Kelly, M., Kolada, A., Mäemets, H., Phillips, G., Søndergaard, M., Willby, N., van den Berg, M.S., 2018.

Macrophyte assessment in European lakes: Diverse approaches but convergent views of 'good' ecological status. *Ecol. Indic.* 94, 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.06.056>

Ruggiero, M. A., D. P. Gordon, T. M. Orrell, N., Bailly, T. Bourgoïn, R. C. Brusca, T. Cavalier-Smith, M. D. Guiry, P. M. Kirk. 2015. Correction: A higher level classification of all living organisms. *Plos One*, 10 (6): e0130114

San Martín, C., C. Ramírez, M. Álvarez. 2003. Macrófitas como bioindicadoras: una propuesta metodológica para caracterizar ambientes dulceacuícolas. *Rev. Geogr. Valpso* 34, 243–253.

Suárez, D., V. Utrilla. 2007. Evaluación de mallines mediante el método Botanal ajustado a vegas de Patagonia Sur. *Carpeta de Información Técnica. Estación Experimental Agropecuaria INTA Santa Cruz.*

Anexo A.

Planilla de campo para la caracterización de los humedales patagónicos.

PLANILLA DE CAMPO MALLINES				AÑO	
Nombre del sitio:		Fecha: Hora: Investigadores:			
Nombre GPS:					
Latitud:					
Longitud:					
Altitud (m.s.n.m):					
Condiciones climáticas					
Ahora		¿Hubo alguna lluvia copiosa los últimos 7 días?			
Tormenta					
Lluvia		Últimas 24 hs			
Chaparrones		Número de días			
Soleado		Temperatura del aire			
Nublado (%)					
Caracterización del mallín					
Hidrología		Conectividad		Origen	
Permanente		Aislado		Fluvial	Por deflación
Temporal		Conectado		Antropogénico	Por remoción en masa
Hidroperíodo estimado: meses__				Glacigénico	
Características del mallín					
Ecorregión		Usos del suelo		Predominancia del uso	
Bosques patagónicos		Sin uso		1Bajo	
Estepa patagónica		Ganadería		2Medio bajo	
Monte de llanuras y mesetas		Forestación		3Medio	
		Agricultura		4Medio alto	
		Urbano/Industria		5Alto	
		Otro (especificar):			
Características interiores del mallín					
Área _____m ²				Sustrato del fondo (%)	

PLANILLA DE CAMPO MALLINES		AÑO		
		Arena	☐	
		Limo	☐	
		Arcilla	☐	
Croquis del área de muestreo IMPORTANTE				
Perfil de profundidad		Cobertura de plantas (%)		
Ancho (m)		0	☐	6-25 ☐
Largo (m)		1-5	☐	26-50 ☐
				51-75 ☐
				76-100 ☐
Caracterización de la calidad del agua				
Temperatura del agua	°C			
Conductividad eléctrica	μScm^{-1}			
Total de sólidos disuelto	mg.l^{-1}			
Salinidad	o/oo			
Contenido de oxígeno disuelto	mg.l^{-1}			
Oxígeno disuelto	%			
pH				

Anexo B.

Planilla de campo para el muestreo cuantitativo de macrófitas asociadas a mallines patagónicos

Planilla de campo mallines - muestreo de macrófitas			año		
Localidad:	GPS	Lat.	Fecha:		
Mallín:		Long.	Muestreador:		
Transecta N°:	Longitud:		Orientación:		
		Abundancia			
Taxon/morfotipo	Baja (<5%)	Media (5-50%)	Alta (>50%)	Foto	N° Muestra herbario
Algas					
Carófitas					
Clorófitas					
Musgos, antoceros y hepáticas					
Briófitas					
Plantas vasculares					
Sp 1					
Sp 2					
Sp3					
--					
--					
--					

Planilla de campo mallines - muestreo de macrófitas		año			
Descripción matriz circundante					
Usos de la tierra					

Anexo C. Composición florística de mallines patagónicos, Argentina.

Se detallan el origen (End: endémico del Conosur; Nat: nativo; Cosm.: cosmopolita; Exot: exótico), el hábito (Eme: emergente; Mar: marginal; Sum: sumergido; Hflo: hojas flotantes, Flot: flotante libre), ciclo de vida (anual/bienal, perenne) y el valor de conservación (Vc) de cada especie.

Taxones	Origen	Hábito	Ciclo vida	Vc
Charophyta				
Characeae				
<i>Chara</i> sp.		Sum.	Perenne	7
<i>Nitella</i> sp.		Sum.	Perenne	7
Chlorophyta				
Zygnemataceae				
<i>Spirogyra</i> sp.	Cosm.	Sum.	-	6
<i>Zygnema</i> sp.	Cosm.	Sum.	-	6
Bryophyta				
Sphagnaceae				
<i>Sphagnum magellanicum</i> Brid.	End.	Eme.	Perenne	10
Pteridophyta				
Blechnaceae				
<i>Austroblechnum penna-marina</i> (Poir.) Gasper & V.A.O. Dittrich	Cosm.	Mar.	Perenne	8
Isoetaceae				
<i>Isoetes savatieri</i> Franch.	End.	Sum.	Anual	9
Salviniaceae				
<i>Azolla filiculoides</i> Lam.	Nat.	Flot.	Anual	2
Spermatophyta				
Apiaceae				
<i>Azorella trifoliolata</i> Clos	End.	Mar.	Perenne	8
<i>Lilaeopsis occidentalis</i> J.M. Coult. & Rose.	Nat.	Sum.	Perenne	6
Araceae				
<i>Lemna gibba</i> L.	Cosm.	Flot.	Anual	2
<i>Lemna valdiviana</i> Phil.	Nat.	Flot.	Perenne	8
Araliaceae				
<i>Hydrocotyle chamaemorus</i> Cham. & Schltdl.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Hydrocotyle ranunculoides</i> L. f.	Nat.	Hflo.	Perenne	2
Asteraceae				
<i>Achillea millefolium</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Anthemis cotula</i> L.	Exot.	Mar.	Anual	0

Taxones	Origen	Hábito	Ciclo vida	Vc
<i>Grindelia chilensis</i> (Cornel.) Cabrera	End.	Mar.	Perenne	7
<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip.	Exot.	Mar.	Annual	0
Boraginaceae				
<i>Myosotis discolor</i> Pers.	Exot.	Mar.	Annual	0
Brassicaceae				
<i>Brassica nigra</i> (L.) W.D.J. Koch	Exot.	Mar.	Annual	0
<i>Nasturtium officinale</i> W.T. Aiton	Exot.	Eme.	Perenne	0
Calyceraceae				
<i>Gamocarpha australis</i> (Decne.) S.S. Denham & Pozner	End.	Mar.	Perenne	8
Campanulaceae				
<i>Legenere valdiviana</i> (Phil.) E. Wimm.	Nat.	Eme.	Annual	9
<i>Lobelia oligophylla</i> (Wedd.) Lammers.	Nat.	Eme.	Perenne	7
Caryophyllaceae				
<i>Arenaria serpens</i> Kunth	Nat.	Mar.	Perenne	4
<i>Cerastium fontanum</i> Baumg. <i>vulgare</i>	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Colobanthus quitensis</i> (Kunth) Bartl	Nat.	Mar.	Perenne	4
Cyperaceae				
<i>Carex aematorhyncha</i> E. Desv.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex canescens</i> L.	Exot.	Eme.	Perenne	0
<i>Carex decidua</i> Boott	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex distenta</i> Kunze ex Kunth	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex excelsa</i> Poepp. ex Kunth	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex fuscula</i> d'Urv.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex gayana</i> E. Desv.	Nat.	Eme.	Perenne	6
<i>Carex macrorrhiza</i> Boeck.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex magellanica</i> Lam.	Nat.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex nebularum</i> Phil.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex niederleiniana</i> Boeck.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex phleoides</i> Cav.	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Carex reichei</i> Kük.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Carex subantarctica</i> Speg.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Cyperus eragrostis</i> Lam.	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Eleocharis macrostachya</i> Britton	Nat.	Eme.	Perenne	6
<i>Eleocharis melanomphala</i> C.B. Clarke	End.	Eme.	Perenne	6
<i>Eleocharis melanostachys</i> (d'Urv.) C.B. Clarke	End.	Eme.	Perenne	6
<i>Eleocharis pachycarpa</i> E. Desv.	Nat.	Eme.	Perenne	5
<i>Eleocharis pseudoalbibracteata</i> S. González & Guagl.	End.	Eme.	Perenne	7
<i>Isolepis ranko</i> (Steud.) Vegetti	End.	Eme.	Annual	9
<i>Phylloscirpus acaulis</i> (Phil.) Goetgh. & D.A. Simpson	Nat.	Eme.	Perenne	6
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják.	Nat.	Eme.	Perenne	6
<i>Schoenus antarcticus</i> (Hook. f.) Dusén.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Schoenus rhynchosporoides</i> (Steud.) Kük.	End.	Eme.	Perenne	8
Droseraceae				

Taxones	Origen	Hábito	Ciclo vida	Vc
<i>Drosera uniflora</i> Willd.	End.	Eme.	Perenne	9
Ericaceae				
<i>Gaultheria pumila</i> (L. f.) D.J. Middleton	End.	Mar.	Perenne	8
Fabaceae				
<i>Medicago lupulina</i> L.	Exot.	Mar.	Anual/bienal	0
<i>Trifolium aureum</i> Pollich.	Exot.	Mar.	Anual/bienal	0
<i>Trifolium repens</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Trifolium spadiceum</i> L.	Exot.	Mar.	Anual/bienal	0
Frankeniaceae				
<i>Frankenia chubutensis</i> Speg.	End.	Mar.	Perenne	8
Gentianaceae				
<i>Centaurium pulchellum</i> (Sw.) Druce	Exot.	Mar.	Anual	0
<i>Gentianella magellanica</i> (Gaudich.) Fabris ex D.M. Moore	End.	Eme.	Anual	9
Geraniaceae				
<i>Epilobium brachycarpum</i> C. Presl	Exot.	Mar.	Anual	0
<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Hér. ex Aiton	Exot.	Mar.	Anual/bienal	0
<i>Geranium berteroanum</i> Colla	End.	Mar.	Perenne	7
Gunneraceae				
<i>Gunnera magellanica</i> Lam.	Nat.	Eme.	Perenne	8
Haloragaceae				
<i>Myriophyllum quitense</i> Kunth.	Nat.	Sum.	Perenne	6
Juncaceae				
<i>Juncus balticus</i> Willd.	Nat.	Eme.	Perenne	5
<i>Juncus bufonius</i> L.	Nat.	Eme.	Anual	4
<i>Juncus burkartii</i> Barros	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Juncus diemii</i> Barros	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Juncus effusus</i> L.	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Juncus pallescens</i> Lam.	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Juncus scheuchzerioides</i> Gaudich.	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Juncus stipulatus</i> Nees & Meyen	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Luzula alopecurus</i> Desv.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Luzula chilensis</i> Nees & Meyen ex Kunth.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Marsippospermum grandiflorum</i> (L. f.) Hook. f.	End.	Eme.	Perenne	8
Juncaginaceae				
<i>Tetroncium magellanicum</i> Willd.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Triglochin palustris</i> L.	Cosm.	Eme.	Perenne	3
<i>Triglochin striata</i> Ruiz & Pav.	Cosm.	Eme.	Perenne	7
Montiaceae				
<i>Calandrinia</i> sp.	Nat.	Mar.	Perenne	8
Orobanchaceae				
<i>Euphrasia antarctica</i> Benth.	End.	Eme.	Anual	9
<i>Euphrasia cockayniana</i> Petrie	Nat.	Mar.	Anual	8
Phrymaceae				
<i>Erythranthe bridgesii</i> (Benth.) G.L. Nesom	End.	Eme.	Anual	7

Taxones	Origen	Hábito	Ciclo vida	Vc
<i>Erythranthe glabrata</i> (Kunth) G.L. Nesom	Nat.	Eme.	Anual	6
Plantaginaceae				
<i>Callitriche lechleri</i> (Hegelm.) Fassett	End.	Sum.	Anual	7
<i>Callitriche truncata</i>	Exot.	Sum.	Anual	0
<i>Hippuris vulgaris</i> L.	Nat.	Eme.	Perenne	5
<i>Littorella australis</i> Griseb. ex Benth. & Hook. f.	End.	Sum.	Perenne	8
<i>Plantago barbata</i> G.Forst.	End.	Eme.	Perenne	7
<i>Plantago maritima</i> G. Forst.	Nat.	Mar.	Perenne	6
<i>Veronica anagallis-aquatica</i> L.	Exot.	Eme.	Anual	0
<i>Veronica peregrina</i> L.	Exot.	Mar.	Anual	0
<i>Veronica serpyllifolia</i> L.	Exot.	Eme.	Perenne	0
Poaceae				
<i>Agrostis capillaris</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Agrostis imberbis</i> Phil.	Nat.	Mar.	Perenne	6
<i>Agrostis philippiana</i> Rúgolo & De Paula	End.	Mar.	Perenne	7
<i>Agrostis stolonifera</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Alopecurus geniculatus</i> L.	Exot.	Eme.	Perenne	0
<i>Alopecurus magellanicus</i> Lam.	Nat.	Eme.	Perenne	6
<i>Alopecurus pratensis</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Avena sativa</i> L.	Exot.	Mar.	Anual	0
<i>Avenella flexuosa</i> (L.) Drejer	Nat.	Mar.	Perenne	6
<i>Deschampsia antarctica</i> E. Desv.	End.	Mar.	Perenne	7
<i>Deschampsia laxa</i> Phil.	End.	Mar.	Perenne	7
<i>Deyeuxia diemii</i> Rúgolo	End.	Eme.	Perenne	7
<i>Distichlis australis</i> (Speg.) Villamil	End.	Mar.	Perenne	6
<i>Distichlis scoparia</i> (Kunth) Arechav.	End.	Mar.	Perenne	6
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	Nat.	Eme.	Perenne	5
<i>Glyceria multiflora</i> Steud.	Nat.	Eme.	Perenne	6
<i>Hordeum chilense</i> Roem. & Schult.	End.	Mar.	Perenne	8
<i>Hordeum lechleri</i> (Steud.) Schenck	End.	Mar.	Perenne	8
<i>Koeleria spicata</i> (L.) Barberá, Quintanar, Soreng & P.M. Peterson	End.	Mar.	Perenne	9
<i>Hordeum pubiflorum</i> Hook. f.	End.	Mar.	Perenne	8
<i>Phleum alpinum</i> L.	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Phleum pratense</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	Cosm.	Eme.	Perenne	1
<i>Poa lanuginosa</i> Poir.	Nat.	Mar.	Perenne	6
<i>Poa pratensis</i> L.	Exot.	Eme.	Perenne	0
<i>Poa trivialis</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
<i>Polypogon australis</i> Brongn.	Nat.	Eme.	Perenne	4
<i>Polypogon exasperatus</i> (Trin.) Renvoize	Nat.	Mar.	Perenne	4
Polygonaceae				
<i>Polygonum aviculare</i> L.	Exot.	Mar.	Anual/bienal	0
<i>Rumex acetosella</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0

Taxones	Origen	Hábito	Ciclo vida	Vc
<i>Rumex crispus</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
Potamogetonaceae				
<i>Potamogetum linguatus</i> Hagstr.	End.	Hflo.	Perenne	7
<i>Stuckenia filiformis</i> (Pers.) Boehm.	Nat.	Sum.	Perenne	3
<i>Stuckenia pectinata</i> (L.) Börner	Nat.	Sum.	Perenne	3
<i>Zannichellia palustris</i> L.	Nat.	Sum.	Perenne	5
Primulaceae				
<i>Primula magellanica</i> Lehm.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Samolus spathulatus</i> (Cav.) Duby	End.	Eme.	Perenne	8
Ranunculaceae				
<i>Caltha appendiculata</i> Pers.	End.	Eme.	Perenne	8
<i>Caltha sagittata</i> Cav.	Nat.	Eme.	Perenne	7
<i>Halerpestes cymbalaria</i> (Pursh) Greene	Nat.	Hflo.	Perenne	4
<i>Halerpestes uniflora</i> (Phil. ex Reiche) Emadzade, Lehnebach, P. Lockh. & Hörandl	End.	HFlo.	Perenne	7
<i>Ranunculus fuegianus</i> Speg.	End.	Hflo.	Perenne	7
<i>Ranunculus hydrophilus</i> Gaudich.	End.	Hflo.	Anual	9
<i>Ranunculus maclovianus</i> d'Urv.	End.	Hflo.	Anual	3
<i>Ranunculus pseudotrullifolius</i> Skottsb.	End.	Hflo.	Anual	7
<i>Ranunculus repens</i> L.	Exot.	Eme.	Perenne	0
<i>Ranunculus spegazzini</i> Lourteig.	End.	HFlo.	Anual	7
<i>Ranunculus trichophyllus</i> Chaix.	Nat.	Sum.	Anual	6
Rosaceae				
<i>Acaena antarctica</i> Hook. f.	End.	Mar.	Perenne	6
<i>Acaena magellanica</i> (Lam.) Vahl	Nat.	Eme.	Perenne	5
<i>Geum andicola</i> (Phil.) Reiche	End.	Mar.	Perenne	4
<i>Potentilla anserina</i> L.	Exot.	Mar.	Perenne	0
Rubiaceae				
<i>Galium magellanicum</i> Hook. f.	End.	Eme.	Perenne	9
Scrophulariaceae				
<i>Verbascum thapsus</i> L.	Exot.	Mar.	Bienal	0
Typhaceae				
<i>Typha angustifolia</i> L.	Cosm.	Eme.	Perenne	2

CAPÍTULO 16

Evaluación de la integridad ecológica de humedales patagónicos y andinos mediante macroinvertebrados

Macchi, P.A. y Epele, L. B.

Objetivo

Describir una metodología para evaluar el estado ecológico de humedales patagónicos y andinos, mediante la aplicación de métricas basadas en el muestreo de macroinvertebrados acuáticos.

Introducción

Los macroinvertebrados acuáticos, definidos por convención, son aquellos organismos superiores a 1 mm (Batzner y Boix 2016) e incluyen platelmintos, moluscos, anélidos, ácaros, crustáceos e insectos, entre los más destacados. Alrededor del mundo existen 40 familias de macroinvertebrados dominantes en humedales ($\geq 10\%$ de ocurrencia), de las cuales 25 corresponden a insectos, los que constituyen el grupo más diverso. Entre los insectos se destacan los Ordenes Diptera con ocho familias, Hemiptera con cinco y, Coleoptera y Odonata ambos con cuatro (Batzner y Ruhí 2013).

La composición y la estructura de los ensambles de macroinvertebrados presentes en un determinado humedal dependen de factores abióticos, como la localización geográfica, el hidropérido (tiempo de permanencia del agua) y la química del agua, así como de factores bióticos como la presencia de macrófitas y peces (Macchi 2017).

La modificación del paisaje y los usos del suelo debidos a la urbanización, la agricultura, la ganadería, la minería, la deforestación y el remplazo de especies nativas por exóticas con valor comercial, han sido las principales causas de la pérdida y degradación de los humedales y particularmente de los mallines en Patagonia (Epele 2014; Epele y Miserendino 2015; Macchi 2017; Epele et al. 2021). Además existen amenazas producidas por el cambio climático, que la para la región Patagónica se

traducen en disminuciones de las precipitaciones y aumentos de temperatura (Epele et al. 2021).

El uso de los macroinvertebrados como indicadores del estado ecológico de los ecosistemas acuáticos, constituye una herramienta útil para detectar alteraciones que se producen en los mismos. Entre las ventajas, para utilizarlos como bioindicadores en humedales, se puede mencionar que: (1) Están ampliamente distribuidos en muchos tipos de humedales; (2) Responden con distinta sensibilidad a diversos factores de estrés ambiental (3); La mayoría completa sus ciclos de vida en el humedal por lo que están expuestos directamente a factores de estrés físicos, químicos y biológicos; (4) Son importantes en las redes tróficas de la fauna que reside en los humedales (Batzner y Boix 2016; Ruhí et al. 2016). No obstante su aplicación, a diferencia de los ecosistemas lóticos, ha sido reducida dado que los humedales presentan una mayor diversidad de condiciones hidrogeomorfológicas, lo que origina condiciones bióticas y abióticas únicas, que pueden ser muy diferentes de los ríos y arroyos. De esta forma, dada la amplia variedad de humedales y la especificidad propia del sitio y sus condiciones, no existe un enfoque único y estándar para el uso de macroinvertebrados como bioindicadores de los humedales (Ruhí et al. 2016). Por ello muchos autores han resaltado que los estudios integrados serían los más apropiados, estableciendo índices específicos de integridad ecológica de los humedales sobre la base de comunidades locales de macroinvertebrados (Ruhí et al. 2016).

Recomendaciones

La aplicación de métricas basadas en ensambles de macroinvertebrados acuáticos en humedales patagónicos y andinos requiere tener en cuenta, ciertas consideraciones particulares para una correcta evaluación.

a. Condiciones de referencia: la heterogeneidad hidrogeomorfológica junto a la diversidad de hábitats disponibles define la composición y estructura de los ensambles de macroinvertebrados particulares de cada humedal. De esta forma pueden existir humedales que, por sus condiciones naturales, presenten una pobreza faunística y cuando se estiman las métricas utilizadas para su evaluación, los valores indiquen algún grado de degradación ambiental que no se corresponde con su calidad ecológica, sino a sus características naturales. Entonces, para no incurrir en errores de interpretación, sugerimos revisar los antecedentes para la zona que se desea estudiar, o en su defecto, realizar un muestreo base que permita establecer las condiciones de referencia para el conocimiento de los macroinvertebrados. Este debe incluir además aspectos hidrogeomorfológicos, calidad del agua, diversidad de hábitats, algas, macrófitas y presencia de peces. De esta forma, en sucesivos muestreos, podrán realizarse comparaciones respecto a la línea de base establecida.

b. Fecha de muestreo: las precipitaciones (lluvias) o el deshielo en arroyos con hielo o nieve en cabecera, previas al muestreo pueden ocasionar aumentos de agua y sedimentos en los humedales, afectando a la biota presente. Es por ello que se recomienda seleccionar un momento de muestreo con un mínimo de siete días previos sin precipitaciones en la región a evaluar.

c. Estación de muestreo: las variaciones hidrológicas estacionales, relacionadas con el hidropériodo, afectan a la comunidad de macroinvertebrados y a la productividad de los humedales. Además, humedales semipermanentes (que se secan al menos una vez en un período de 10 años) o temporarios (que se secan todos los años), pueden secarse a fines de verano y otoño, o mermar mucho su nivel del agua. El invierno es la temporada de mayores precipitaciones y, fines de primavera y principios de verano, de fuertes vientos. En estas condiciones inestables los resultados de una evaluación pueden dar resultados menores a los esperados. Es por ello que el mejor momento de muestreo en la región es fines de primavera y principios de verano, con condiciones hidrológicas más estables. Si se selecciona el verano, se sugiere hacerlo antes de febrero, ya que muchos humedales suelen secarse a partir de dicho mes.

d. Biotopo: la calidad y cantidad de los biotopos (complejidad estructural del hábitat) son fundamentales para la estructuración de las comunidades de macroinvertebrados (Bird y Day 2014) y sus cambios, pueden afectar a su composición y abundancia (Hill 2004). Es por ello que, para garantizar

un muestreo representativo de macroinvertebrados en un humedal, previamente se deben identificar los biotopos presentes en el mismo (Ver Figura 1).

e. Caracterización de la calidad del agua: para la caracterización y evaluación de la calidad del agua, ver protocolo de ecosistemas lóticos.

f. Muestreo de macroinvertebrados en la columna de agua: se recomienda que el muestreo de macroinvertebrados sea realizado en la columna de agua y no en los sedimentos. Diversos estudios han demostrado una baja abundancia y diversidad de macroinvertebrados en sedimentos (Kashian y Burton 2000), probablemente debido a las condiciones de anoxia en que se encuentran apenas unos milímetros debajo de la columna de agua (Macchi 2017).

Determinación de biotopos

Para la evaluación de biotopos se sugieren cuatro categorías (Bird 2012, Blanckenberg et al. 2020):

A. Vegetación compleja (conformado por ensambles de macrófitas pertenecientes a distintos tipos biológicos, sumergidas y emergentes, arraigadas o no arraigadas).

B. Vegetación simple (conformado por ensambles de macrófitas únicamente arraigadas y emergentes de la superficie del agua).

C. Aguas someras (hábitat sin macrófitas, con una profundidad máxima de 30 cm)

D. Aguas profundas (hábitat sin macrófitas, con una profundidad superior a los 30 cm).

Procedimiento:

Se recorre el perímetro del humedal y se identifica, de manera ocular, el porcentaje de cobertura de cada biotopo (análisis cualitativo). Este valor se registra en una planilla y se utilizará para el diseño de muestreo de los ensambles de macroinvertebrados.

Muestreo de macroinvertebrados

Materiales

Previo a la salida de campo se debe verificar que se cuenta con los todos materiales y equipos necesarios en condiciones para realizar el muestreo (Tabla 1). Para eso deberá completar los formularios de chequeo de materiales y equipo, diseño de monitoreo y ficha de campo para cada sitio, completando los datos mínimos requeridos.



Fig. 1. Biotopos identificados en humedales según la complejidad estructural del hábitat (Macchi 2017)

Procedimiento

Se deberá recopilar la información descriptiva del hábitat, que se documentará la descripción del sitio, las condiciones climáticas, fisicoquímicas del agua, y el uso de suelo. Para lo cual se utiliza la ficha de campo (ver Anexo 1).

Realizar un registro fotográfico del sitio de muestreo, incluyendo las principales características que describan las condiciones en que se encuentra el humedal y los biotopos o hábitats presentes, así como todos aquellos atributos del área que resulten de importancia (fuentes de perturbación). En lo posible utilice un Sistema de Posicionamiento Global (GPS) para ubicar longitud, latitud y altitud del sitio.

Antes de realizar el muestreo de macroinvertebrados, tomar muestras de agua para caracterizar su calidad fisicoquímica (ver protocolo de ambientes lóticos).

En la columna de agua los macroinvertebrados serán colectados con una red de mano con marco tipo D de 500 μm de tamaño de poro, de acuerdo

con la siguiente metodología multihábitat (Barbour et al. 2006, Hering et al. 2006):

1. Delimitar una transecta que abarque desde la orilla al centro del cuerpo de agua, y que toque todos los biotopos presentes en el humedal.
2. Introducir la red D en uno de los biotopos identificados y mover la misma en zigzag, removiendo suavemente en el sustrato, o arrastrando entre las macrófitas, de manera que el movimiento del agua que se genere sea capturado por la red. Repetir este arrastre de red al menos cuatro o cinco veces en el biotopo. Es importante registrar la distancia de arrastre de red en cada movimiento, ya que luego posibilitará obtener, junto a la superficie del marco, la abundancia muestreada en un volumen y con ello calcular la densidad de macroinvertebrados. Por ejemplo, si el marco de la red mide 0,25 m^2 , el arrastre de cada movimiento fue de 1 metro y se realizaron 4 arrastres, el cálculo es $0,25 \text{ m}^2 \times 1 \text{ m} \times 4$, el volumen muestreado es de 1 m^3 . Se sugiere expresar las densidades en individuos por metro cúbico (ind/m^3).

Formularios: REM-AQ-F002 Diseño de monitoreo REM-AQ-F001 Ficha de campo		Formularios requeridos para completar antes y durante el monitoreo.
GPS		Para geoposicionar el sitio de muestreo
Red marco D		Para muestreo semi-cuantitativo de macroinvertebrados en una amplia variedad de hábitats (macrófitas, hojarasca) y tipos de sustrato. Apertura de malla de 500 μ m.
Coladores o tamices de 1000 μ m y 500 μ m.		Para concentración y limpieza previa de la muestra.
Bolsas de polietileno con cierre		Para fijación y traslado de muestras al laboratorio, en caso de no procesar en campo.
Pinzas entomológicas suaves		Para la separación y recolección de organismos que puedan quedar retenidos en la red.
Pipetas Pasteur de plástico		Para atrapar organismos pequeños que pueden ser succionados.
Piseta de 500 ml		Para el lavado de coladores o tamices.
Conservadoras		Para la conservación y traslado de muestras al laboratorio.
Guantes descartables		Para proteger las manos, pueden utilizarse guantes largos tipo veterinario en el caso de sospecha de ambiente contaminado.
Equipo personal de muestreo: waders y/o botas		Para un mejor desplazamiento, evitando mojarse durante el muestreo.

Alcohol 70% y/o Formol 5%		Para fijar y conservar las muestras o los organismos separados en campo alcohol al 70%. Para fijación de muestras también puede utilizarse formol al 5%.
Cinta métrica de 50 m o 100 m		Para realizar las mediciones necesarias en el sitio de muestreo.
Kit de librería: Lápiz, lapicera, marcador indeleble, tijera, goma de borrar, cinta ancha.		Para anotaciones y otras tareas en el proceso de rotulación de muestras.
Botiquín de primeros auxilios		Necesario para cualquier imprevisto de accidente.
Equipo de desinfección		Mochila para desinfección de los equipos entre diferentes humedales.

Tabla 1. Materiales y equipamiento para el muestreo de macroinvertebrados en humedales.

3. Una vez terminado cada arrastre, se deberá levantar la red D y enjuagar el copo sumergiéndolo en la superficie del agua, con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de sedimento fino posible. También es recomendable retirar la mayor cantidad de materia de tamaño grande (hojas, ramas, rocas, etc.) que haya quedado atrapada, previa inspección y lavado dentro de la misma red. Finalmente, el material se vaciará en las bolsas plásticas previamente etiquetadas, tomando la parte inferior de la red con toda la mano y dándole la vuelta dentro de la bolsa con varias sacudidas. Para asegurarnos que la red queda totalmente vacía de organismos, se pueden utilizar pinzas entomológicas para recoger los organismos adheridos.

4. Rotular y fijar la muestra con alcohol al 96%. Como la muestra contiene agua la concentración final será menor y su preservación durará más tiempo (se recomienda cambiar el alcohol de la muestra luego de una semana). Guardar en heladera para traslado. Si la muestra contiene mucha materia orgánica puede utilizarse formol al 5% para fijar la misma, ya que se garantizará una mejor conservación.

5. Repetir los pasos 2 a 4 en los otros biotopos registrados. De sólo estar presente un biotopo

volver a tomar una muestra integrada, con el procedimiento descrito.

6. Al finalizar el muestreo se procederá a la desinfección de los equipos y materiales utilizados. Para ellos se recomienda utilizar pulverizadores o recipientes que contengan soluciones de preparación sencilla como agua con lavandina al 2%, agua con sal al 5% o agua caliente por encima de los 60°C. Esta desinfección garantiza la eliminación de algas, huevos u otros microorganismos que pueden ser potenciales invasores de otros humedales, evitando la contaminación cruzada.

Separación y determinación del material

Lista de elementos necesarios para el trabajo

Tamiz de 500 µm, capsulas de Petri, pinzas entomológicas, pisetas con alcohol 70%, tijera, bandejas plásticas o de telgopor, cajas o canastos plásticos, cubetera, papel manteca para rótulos, lápiz o lapicera indeleble, cuaderno, tubos Eppendorf, frascos plásticos, frascos de vidrio, lupa de brazo, lupa estereoscópica, claves dicotómicas y bibliografía para la identificación de los organismos.

Ordenamiento del material

Una vez en el laboratorio, las muestras serán ingresadas de acuerdo a las especificaciones propias del sistema de control. Las muestras rotuladas deberán ser registradas en una carpeta de control, que incluya los datos: fecha, humedal, coordenadas del sitio y nombre de la persona que realizó el muestreo. Es importante en este paso verificar el rotulado del material. Las muestras se organizarán en una secuencia conveniente para su posterior procesamiento. Una vez registradas las muestras se organizarán en cajas, previamente rotuladas con el nombre de todos los sitios que contendrá cada una. Guardar cada planilla de campo en una carpeta rotulada con el nombre del proyecto, previamente conservar una copia de la misma digitalizada. A la mayor brevedad posible, es conveniente ir guardando la información en un ordenador (planilla Excel).

Separación, identificación y conservación de las muestras

En el laboratorio volcar las muestras recolectadas en el campo, preservadas en bolsas o frascos plásticos, en una bandeja plástica blanca. Previamente colar a través de un tamiz de 500 µm y enjuagar con agua. Volcar la muestra enjuagada en una bandeja blanca e inspeccionar visualmente el tamiz, retirando los macroinvertebrados que puedan haber quedado adheridos. Cuando la muestra presente una gran cantidad de algas filamentosas u organismos muy suaves y pequeños se deberá evitar el lavado. Si trabajó con formol manipular según protocolo y almacenar en botellas plásticas el residuo hasta su tratamiento. Si trabajó con alcohol se puede enjuagar y colar con tamiz y eventualmente el residuo se descarta. Todo el material obtenido de los tamices deberá ponerse nuevamente en alcohol al 70%, para evitar su descomposición mientras dura el proceso de separación de los organismos.

Para comenzar con la separación de los organismos volcar una porción de la muestra en una bandeja blanca (plástica o tergopol). Separar con pinzas un ejemplar de cada tipo que se vea morfológicamente diferente (separar varios de cada uno para estar seguros), se puede trabajar con una lupa de brazo largo que magnifica entre 3 a 5 veces el ejemplar. Los ejemplares similares se colocan en una celda de una cubetera de heladera (blanca o clara), que previamente tenga alcohol 70 % en cada compartimento. Es económica, y permite organizar los diferentes organismos en cada celda. Si la muestra se deja de procesar por un tiempo (día siguiente) tapar y colocar algún peso. Al finalizar de separación de la muestra de un sitio, guardar cada celda de la cubetera con los distintos

tipos de macroinvertebrados en tubos Eppendorf con alcohol al 70% y colocarlos en frascos previamente rotulados.

Una vez separadas las muestras, tomar los frascos y volcar uno de los tubos Eppendorf con los organismos en una cápsula de Petri con alcohol 70 %. Observar e identificar bajo lupa estereoscópica con claves dicotómicas o pictóricas sugeridas (ver inciso 8 y anexo 2), al menos hasta el nivel taxonómico de familia. La resolución a nivel de familia se puede utilizar como un sustituto de resoluciones taxonómicas más bajas para calcular una variedad de métricas que permiten caracterizar el estado ecológico de humedales sin una pérdida significativa de información (Pires et al. 2021).

Confeccionar una matriz anotando cada familia de macroinvertebrado registrada por cada sitio o humedal estudiado en un cuaderno. Es importante identificar en planilla o cuaderno, fecha, humedal, sitio, observador. Anotar el nombre de la familia en forma de columna ejemplo: Dytiscidae, Lestidae, Tipulidae, etc.

Los organismos identificados se pueden almacenar nuevamente en tubos Eppendorf y éstos a su vez en un frasco de vidrio con tapa a rosca. Cada Eppendorf se puede rotular con etiquetas de papel vegetal en el interior, usando un código de identificación, humedal, sitio, fecha. No olvidar rotular por fuera y por dentro. Esta recomendación es importante porque si hay una gran cantidad de frascos, se pueden mezclar las tapas. De este modo siempre quedará la etiqueta interior identificatoria, como resguardo. El fijador para preservar la muestra es alcohol 70 %. Uno puede revisar la muestra almacenada cuantas veces requiera o en diferentes días, volviendo a guardar el material por si surgen dudas o consultas.

Una vez procesado el material pueden almacenarse las muestras provenientes de varios sitios en un mismo frasco, siempre que estén adecuadamente rotuladas. Esto ahorra espacio, los frascos a su vez pueden almacenarse en racks o canastos plásticos apilables (como los cajones de verduras o frutas, o de cartón de buena calidad). A su vez el cajón puede estar rotulado ejemplo: Campaña: verano, Mallín Grande, Río Negro 2020.

Es conveniente armar una pequeña colección de referencia cuando ya se está seguro de que la taxonomía está resuelta. También se recomienda en lo posible y si se tiene posibilidad de fotografiar el material bibliográfico, ya que sirve para hacer consultas con los especialistas, o revisar nuevamente si se tienen dudas. La cámara de un celular

(apoyados sobre los oculares de la óptica) permite conseguir fotografías de buena calidad y almacenarlas.

Evaluación de la integridad ecológica

Los indicadores del estado ecológico de los ecosistemas acuáticos son reconocidos cada vez más como herramientas fundamentales para la gestión y el manejo adecuado de estos ecosistemas (Brazner et al. 2007). Particularmente, los macroinvertebrados acuáticos juegan un papel importante en el funcionamiento de los humedales, por lo que el análisis exhaustivo de estos organismos puede proporcionar una visión general del estado de conservación del mismo.

En este sentido, como en la región no existen índices bióticos análogos a los utilizados en ríos, un enfoque multimétrico permite evaluar el efecto de diversos factores de estrés en diferentes atributos de los ensambles de macroinvertebrados, donde cada métrica evaluada es una característica de la biota que cambia de una manera predecible a medida que aumenta la intensidad del estrés ambiental (Barbour et al. 2006).

La utilización de macroinvertebrados como indicadores a nivel de comunidad requiere, metodológicamente, la transformación de los datos (presencia o abundancia de los diferentes taxones) en métricas (Prat et al. 2009). La mayor parte de las métricas simples aplicadas en el estudio de los macroinvertebrados utilizan como factor clave la tolerancia de los diferentes taxones a una perturbación determinada (Macchi 2017). De este modo la relación entre el número de organismos tolerantes a las perturbaciones y los intolerantes a ella son un recurso habitual en las métricas usadas

(Bonada et al. 2006).

Dentro de esas métricas, las de riqueza resultan ser las más sensibles frente al disturbio (Gascón et al. 2009; Macchi 2017) y sus valores disminuyen a medida que aumenta la degradación en los humedales por cambios en el uso del suelo. Las métricas de riqueza reflejan la diversidad de las comunidades acuáticas y su aumento se correlaciona con el incremento de la salud de las comunidades (Barbour et al. 1996).

Las métricas simples sugeridas para evaluar disturbios en humedales patagónicos y andinos (en negrita en Tabla 2), son los siguientes (Epele y Miserendino 2015; Macchi 2017): n° total de taxones, n° de familias de insectos, n° de órdenes de invertebrados no insectos, n° de taxones de insectos, n° de taxones de quironómidos, EOT (riqueza de efemerópteros, odonatos y tricópteros), OCD (riqueza de odonatos, coleópteros y dípteros), % de dípteros, % de quironómidos, % de crustáceos, % EOT, % OCD ; % de depredadores y % de filtradores (Figura 2). Aunque la aplicación de algunas de estas métricas es sugerida para realizar una evaluación ecológica de los humedales, es conveniente probar otras, y relacionarlas con la calidad del agua y los usos del suelo, para ampliar las explicaciones de los posibles disturbios y sus efectos en la integridad ecológica. Por ejemplo, la variación de la calidad del agua de los humedales está directamente relacionada al grado de disturbio de la zona aledaña. En diversos estudios de humedales en la región, los efectos del uso ganadero y urbano generan mayores valores en las concentraciones de nutrientes, sólidos en suspensión y conductividad (Macchi 2017; Miserendino et al., 2020).

Medida	Métrica	Respuesta esperada al disturbio
Riqueza	Nº total de taxones	Disminuye
	Nº de familias de insectos	Disminuye
	Nº de taxones de insectos	Disminuye
	Nº de órdenes de invertebrados no insectos	Disminuye
	Nº de taxones de quironómidos	Disminuye
	Nº de géneros de coleópteros	Aumenta
	Nº de taxa de crustáceos	Disminuye
	Nº de taxa de gasterópodos	Disminuye
Composición y abundancia	% de efemerópteros	Disminuye
	% de tricópteros	Disminuye
	% de dípteros	Disminuye
	% de quironómidos	Disminuye
	% de gasterópodos	Disminuye
	% de oligoquetos	Aumenta
	% de crustáceos	Aumenta
	% de anfípodos	Aumenta
	% de oligoquetos	Aumenta
	% EOT (Efemerópteros, odonatos y tricópteros)	Disminuye
	% OCD (Odonatos, coleópteros y dípteros)	Disminuye
Tolerancia/ Intolerancia	Índice de Shannon y Wiener	Disminuye
	Equitatividad	Disminuye
	Densidad	Aumenta
	EOT (Efemerópteros, odonatos y tricópteros)	Disminuye
	OCD (Odonatos, coleópteros y dípteros)	Disminuye
Grupos funcionales	% Depredadores	Disminuye
	% Colectores	Disminuye
	% Filtradores	Aumenta
	% Raspadores	Disminuye
	% Fragmentadores	Variable

Tabla 2. Algunas métricas simples basadas en atributos de los ensambles de macroinvertebrados de humedales y sus probables respuestas al disturbio o cambios en el uso del suelo en humedales (en negrita los recomendados).



Fig. 2. Modelo conceptual de métricas de macroinvertebrados acuáticos que contribuyen a la evaluación de la integridad ecológica de humedales. Métricas: TT: n° total de invertebrados; FI: n° de familias de insectos; TI: n° de taxones de insectos; NI: n° de órdenes de invertebrados no insectos; Q: n° de taxones de quironómidos; EOT: n° de taxones de efemerópteros, odonatos y tricópteros; OCD: n° de taxones de odonatos, coleópteros y dípteros; %D: abundancia relativa porcentual de dípteros; % Q: abundancia relativa de quironómidos; % EOT: abundancia relativa de EOT; % OCD: abundancia relativa de OCD; % Cr: abundancia relativa de crustáceos; % De: Ab. abundancia relativa de depredadores; %FI: abundancia relativa porcentual de filtradores (Macchi 2017).

Bibliografía sugerida para la identificación

Domínguez, E., H. R. Fernández. 2009. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina, 656 pp.

Hamada, N., J. H. Thorp, D. C. Rogers. 2018. Keys to Neotropical Hexapoda. Thorp and Covich's. Freshwater Invertebrates. Volume III. London, United Kingdom, 839 pp.

Lopretto, E. C., G. Tell. 1995. Ecosistemas de aguas continentales Metodologías para su estudio. Ediciones Sur.

Macchi, P. 2019. Biomonitorio RN (Versión 1.0) <https://m.apkpure.com/es/biomonitorio-rn/ar.com.biomonitorio.muestras>

Bibliografía

Barbour, M. T., J. Gerritsen, E. Griffith, R. Frydenborg, E. McCarron, J. S. White, M. L. Bastian, 1996. A framework for biological criteria for Florida streams using benthic macroinvertebrates. Journal of the North American Benthological Society, 185-211.

Barbour, M.T., J. B. Stribling, K. R. Karr. 2006. Multimetric approach for establishing biocriteria and measuring biological condition. In Biological assessment and criteria: tools for water resource planning and decision making, W.S. Davis and T.P. Simon, eds. CRC Press, Boca Ratan, FL. 63-77.

Batzer, D. P. D. Boix. 2016. An Introduction to Freshwater Wetlands and Their Invertebrates. In Invertebrates in Freshwater Wetlands (pp. 1-23). Springer International Publishing.

Batzer, D. P., A. Ruhí. 2013. Is there a core set of organisms that structure macroinvertebrate assemblages in freshwater wetlands?. Freshwater Biology, 58(8), 1647-1659.

Bird, M. S. 2012. Effects of Habitat Transformation on Temporary Wetlands in the South-Western Cape, South Africa. Journal of Aquatic Science, 36, 299-308.

Bird, M. S., J. A. Day. 2014. Wetlands in changed landscapes: the influence of habitat transformation on the physico-chemistry of temporary depression wetlands. PloS one, 9(2), e88935.

Blanckenberg, M., M. C. Mlambo, D. Parker, S. N. Motitsoe, C. Reed. 2020. Protected and un-protected

urban wetlands have similar aquatic macroinvertebrate communities: a case study from the Cape Flats Sand Fynbos region of southern Africa. PloS one, 15(5), e0233889.

Bonada, N., N. Prat, V. H. Resh, B. Statzner. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. Annu. Rev. Entomol., 51, 495-523.

Epele, L. B. 2014. Comunidades de invertebrados acuáticos de mallines de Patagonia, bajo distintos niveles de antropización (tesis de doctorado). Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/34197>

Epele, L. B., M. L. Miserendino. 2015. Environmental quality and aquatic invertebrate metrics relationships at Patagonian wetlands subjected to livestock grazing pressures. PloS one, 10(10), e0137873.

Epele, L. B., Grech, M. G., Manzo, L. M., Macchi, P. A., Hermoso, V., Miserendino, M. L., ... & Cañedo-Argüelles, M. 2021. Identifying high priority conservation areas for Patagonian wetlands biodiversity. Biodiversity and Conservation, 30, 1359-1374. DOI: 10.1007/s10531-021-02146-2

Gascón, S., D. Boix, J. Sala. 2009. Are different biodiversity metrics related to the same factors? A case study from Mediterranean wetlands. Biological conservation, 142 (11), 2602-2612.

Hering, D., C. K. Feld, O. Moog, T. Ofenböck. 2006. Cook book for the development of a Multimetric Index for biological condition of aquatic ecosystems: experiences from the European AQEM and STAR projects and related initiatives. Hydrobiologia, 566 (1), 311-324.

Hill, L. 2004. Elands catchment comprehensive reserve determination study, Mpumalanga Province, ecological classification and ecological water requirements (quantity) workshop report. Report No. ENV-PC, 19, 1-98.

Kashian, D. R., T.M. Burton. 2000. A comparison of macroinvertebrates of two Great Lakes coastal wetlands: testing potential metrics for an index of ecological integrity. Journal of Great Lakes Research, 26(4), 460-481.

Macchi, P.A. 2017. Macroinvertebrados acuáticos como indicadores ecológicos de cambios en el uso del suelo en mallines del sudoeste de la Provincia de Río Negro (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad

Nacional de la Plata. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/59171>

Miserendino, M. L., L. B. Epele, C. Brand, L. M. Manzo. 2020. Los indicadores biológicos en la Patagonia. Calidad de agua e integridad ecológica: Una mirada desde arroyos a mallines. Eudeba, 165-173.

Pires, M. M., M. G. Grech, C. Stenert, et al. 2021. Does taxonomic and numerical resolution affect the assessment of invertebrate community structure in New World freshwater wetlands?. Ecological indicators, 125, 107437.

Prat, N., B. Ríos, R. Acosta, M. Rieradevall. 2009. Los macroinvertebrados como indicadores de calidad de las aguas. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología, 631-654.

Ruhí, A., G. W. Fairchild, D. J. Spieles, G. Becerra-Jurado, D. Moreno-Mateos. 2016. Invertebrates in Created and Restored Wetlands. In Invertebrates in Freshwater Wetlands (pp. 525-564). Springer International Publishing.

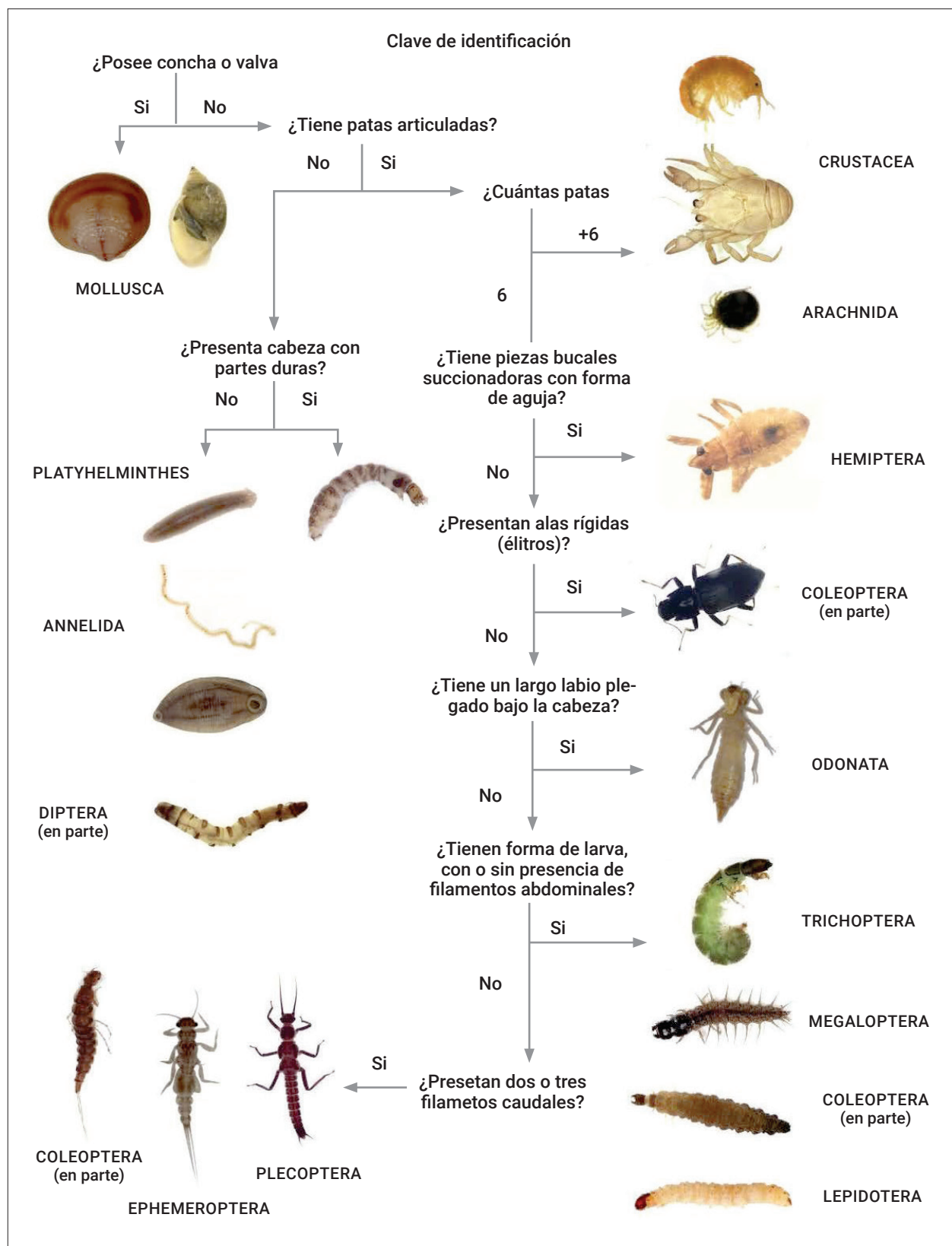
Anexo 1

Planilla de campo

MALLIN:		CODIGO:	
GPS:			
CONDICIONES CLIMÁTICAS	AHORA	ULTIMAS 24 HS	¿Hubo alguna lluvia copiosa los últimos 7 días? si no
	Tormenta		Temperatura del aire: Hora:
	Lluvia		
	Chaparrones		
	Nub. %cobertura		
	Soleado claro		
VEGETACIÓN ACUATICA	indique tipos dominantes y especies presentes		
	☐ Enraizadas emergentes ☐ Enraizadas sumergidas ☐ Enraizadas flotantes ☐ Algas flotantes ☐ Algas bentónicas ☐ Libres flotantes		
PECES	Presencia		Especies: Tamaños:
CALIDAD DEL AGUA	Temp. agua (°C)		OBSERVACIONES
	Conductividad (µS/cm)		
	SDT mg/L		
	Salinidad (mg/L)		
	O ₂ disuelto (mg/L)		
	% O ₂		
	pH		
	Profundidad maxima		

Anexo 2

Clave pictórica para la determinación de principales grupos de macroinvertebrados.





Lago Mascaridi, Río Negro, Argentina. Esteban Balseiro

TERCERA SECCIÓN

TÉCNICAS DE MONITOREO EN AMBIENTES LÉNTICOS PROFUNDOS

Editora temática: **Beatriz Modenutti**

Capítulo 17: Distribución de parámetros físicos y químicos en lagos profundos. **Esteban Balseiro y Beatriz Modenutti**

Capítulo 18: Distribución del oxígeno disuelto en la columna de agua y reserva de oxígeno en lagos profundos. **Esteban Balseiro y Beatriz Modenutti**

Capítulo 19: Biomonitorio empleando el fitoplancton en lagos profundos. **Marcela Bastidas Navarro y Beatriz Modenutti**

Capítulo 20: Muestreo del zooplancton en lagos profundos. **Esteban Balseiro y Cecilia Laspoumaderes**

Capítulo 21: La vegetación de ribera y litoral en lagos profundos andino-patagónicos. **Florencia Cuassolo**

Capítulo 22: Índice de calidad de ribera en lagos profundos. **Nicolás Martyniuk**

Capítulo 23. Muestreo de bentos. **Nicolás Martyniuk**

CAPÍTULO 17

Distribución de parámetros físicos y químicos en lagos profundos

(profundidad máxima mayor a 50 m)

Esteban Balseiro y Beatriz Modenutti

Introducción

Los lagos profundos (< 100 m de profundidad) se caracterizan por poseer una distribución compleja y no uniforme de la temperatura en su columna de agua. Esta característica hace que otras variables como el oxígeno disuelto, los nutrientes (C, N y P), etc. tengan también una distribución heterogénea. A su vez, los organismos presentan también distribuciones particulares en profundidad. Por lo tanto, la columna de agua de los lagos profundos tiene un funcionamiento distintivo en los diferentes niveles y, además, variable a lo largo del año. Es importante remarcar que la toma de muestras superficiales en estos cuerpos de agua representa una visión sumamente parcializada y puede conducir a conclusiones erróneas cuando se realizan monitoreos sobre su funcionamiento.

En la República Argentina, los lagos profundos corresponden mayoritariamente al distrito de lagos andino-patagónicos localizados entre los 37 °S (Lago Aluminé) y los 55 °S (Lago Fagnano) y representan el 77% del agua contenida en lagos de la Argentina (Quirós 1988). Analizar la columna de agua de estos lagos puede resultar complicado ya que se necesitan embarcaciones con motor y el uso de equipos particulares que permitan registrar las variables en profundidad. Para realizar los muestreos se deben cumplir las normas de la Prefectura Naval Argentina y tener los permisos correspondientes de las diferentes jurisdicciones (Parques Nacionales, por ejemplo). Es importante remarcar que la mayoría de los lagos andinos argentinos están sujetos a una fuerte acción de los vientos provenientes del Pacífico, lo que ocasiona que los cambios en la temperatura a registrar posean una distribución más profunda que en otros lagos similares del mundo (Baigún and Marinone 1995).

La obtención de muestras se realiza teniendo en cuenta que el bote dispone de un malacate capaz de bajar los equipos en profundidad, para lo cual se deben disponer de sogas graduadas y/o cables de más de 50 metros. Después de detener el bote y mantenerlo inmóvil (con ancla o con maniobras de motor), se registra la posición exacta mediante GPS y la profundidad del punto de muestreo mediante ecosonda y, luego de esto, se hacen descender los diferentes instrumentos. En numerosos cuerpos de agua de la Argentina no se posee una batimetría completa y detallada por lo cual se recomienda que el muestreo se realice siempre con ecosonda para permitir registrar la profundidad del punto de muestreo. Dependiendo del tipo de instrumento utilizados, los registros pueden ser discretos (por ejemplo, metro a metro) o continuos (el equipo registra y graba a medida que se lo asciende o desciende por la columna de agua). Si los instrumentos son manuales no debe olvidarse de consignar la profundidad de muestreo, si por el contrario el registro es electrónico no debe olvidarse de guardar los diferentes registros obtenidos. En particular, los equipos diseñados para realizar perfiles verticales (tipo CTD o similar) (Figura 1.) resultan muy adecuados, ya que los datos se graban con la profundidad a la cual fueron tomados. Estos equipos poseen una alta capacidad de almacenamiento de datos incluyendo miles de líneas y dependen de la computadora que se posea o tarjeta de memoria incluida en el equipo. Los equipos de perfiles automáticos permiten ver los datos en programas propios y exportarlos en formatos como "csv" (comma separated values) que pueden ser leídos por planillas de cálculo, graficadores y programas estadísticos. Alternativamente se pueden tomar datos en perfil vertical mediante sensores de obtención de datos discretos, en este caso es necesario registrar manualmente la profundidad a la cual se está tomando el dato. Obviamente esta metodología resulta de menor uso

en lagos profundos, por la cantidad de datos que implica un perfil vertical que incluya porciones significativas de la columna de agua (ver abajo temperatura).

Temperatura

La temperatura en la columna de agua de lagos profundos puede registrarse mediante termómetros de inversión y, más modernamente mediante sondas de registro térmico digital continuo o no continuo (Figura 1). Ambos equipos deben contar con cables o sogas los suficientemente largas para operar en profundidad (son frecuentes sensores de 100 m). El termómetro de inversión (Figura 1) basa su medición en la interrupción de la columna de mercurio por efecto de la inversión en su posición desencadenada por el envío de un mensajero. El termómetro se sumerge hasta la profundidad deseada en la posición en la cual la columna de mercurio varía con la temperatura, luego se libera el mensajero que provoca una rotación de 180 grados del termómetro que genera la interrupción de la columna a la temperatura del nivel. Luego se asciende y se anota la temperatura del nivel. Los termómetros de inversión son los menos recomendados dado que implican una tarea muy laboriosa: el termómetro debe ser descendido y ascendido por cada nivel que se tome la temperatura. El uso de trenes de termómetros de inversión (que pueden ser también digitales) facilita esta tarea, pero sigue siendo notoriamente más laboriosa e imprecisa que un sensor electrónico. Por el contrario, las sondas de registro electrónico de la temperatura (Figura 1) permiten

la toma de datos de manera continua a medida que el equipo desciende a lo largo de la columna de agua por lo cual son recomendadas para lagos profundos. El descenso de estos equipos puede realizarse de forma manual o con el empleo de malacates de velocidad controlada. El registro de los datos puede volcarse directamente a tarjetas de memoria incluidas en el equipo o computadoras que se conectan al mismo.

En todos los casos, debe tenerse en cuenta que los equipos térmicos (cualquiera sea el mismo: de registro continuo o discontinuo, electrónico o no) poseen cierta inercia, por ello el descenso o ascenso de los equipos debe realizarse a una velocidad adecuada y en relación con la inercia térmica particular. Dado que la temperatura en el perfil vertical puede tener variaciones muy importantes, si se utilizan mediciones discretas se recomienda que en los sectores de alta variación de la temperatura ($\geq 1^{\circ}\text{C m}^{-1}$), donde se ubica el salto térmico denominado termoclina se reduzca la distancia entre las mediciones.

La distribución de la temperatura en la columna de agua no es homogénea por fenómenos relacionados fundamentalmente con la absorción del calor y su distribución en función del viento. El calor procedente del sol (radiación infrarroja) se absorbe en los primeros centímetros de la columna de agua; el calor así acumulado se transmite a las capas inferiores mediante advección (mezcla generada por el viento). Esta mezcla tiende a homogeneizar verticalmente la temperatura, y la magnitud del espesor de esta capa superficial es directamente proporcional a la intensidad y persistencia del

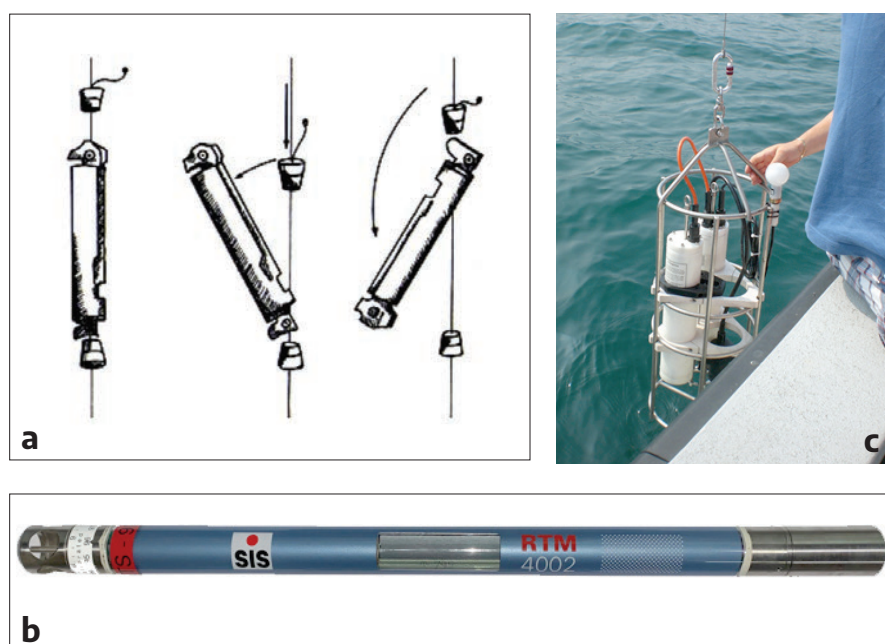


Fig. 1. Equipo de registro de temperatura izquierda: a: Esquema de funcionamiento de un termómetro de inversión de uso manual para medidas discretas. b: termómetro de inversión digital. c: sonda tipo CTD de registro electrónico y continuo.

viento. Esta capa puede tener varios metros y en general en los lagos andinos oscila entre los 15 y 45 m de profundidad.

De acuerdo a la distribución de los ambientes en cuanto a la latitud y altitud (Hutchinson and Löffler 1956) y considerando además su profundidad y exposición al viento sin obstáculos (*fetch*) (Lewis 1983) los lagos profundos andino patagónicos presentan un comportamiento de **monomícticos cálidos** (Baigún and Marinone 1995; Modenutti et al. 2010). Esto significa que poseen un único período de mezcla extendido desde el otoño hasta la primavera y un período de estratificación térmica estival que se extiende desde fines de la primavera hasta comienzos del otoño.

El período de estratificación térmica estival se caracteriza por presentar un estrato superior denominado **epilimnion**, de agua uniformemente más cálida y menos densa. Por debajo de éste se sitúa una marcada discontinuidad térmica conformando el **metalimnion**. En esta capa se ubica la **termoclina**, que es el plano de máximo cambio en la temperatura que va acompañada por cambios en la densidad del agua. La capa más profunda, fría y más densa se denomina **hipolimnion**.

En otoño por disminución de la temperatura y por el incremento de las lluvias frías y del viento se igualan verticalmente las temperaturas y desaparece la termoclina. Este período es biológicamente muy importante porque permite una distribución uniforme de otros parámetros como por ejemplo los nutrientes y el oxígeno disuelto.

Luz

La radiación solar es vital para el metabolismo y para la existencia de los ecosistemas. A su vez es un parámetro muy susceptible de ser afectado por numerosos efectos antrópicos y fenómenos naturales. Por ello es un parámetro muy importante de determinar en la columna de agua.

La energía solar que llega a la superficie terrestre se presenta en un rango de 300 nm (ultravioleta) a casi 3000 nm (infrarrojo). Por debajo de los 400 nm se ubican las radiaciones ultravioletas que corresponden a UV-B (290-320 nm) y UV-A (320-380 nm). La luz visible es aquella porción (casi el 50%) de la energía radiante total que puede ser detectada por el ojo humano (380 a 780 nm). En particular, es muy importante la denominada radiación fotosintéticamente activa (RFA o PAR por sus siglas en inglés) que se produce entre los 400 y los 700 nm, y representa entre el 46 y el 48% de la energía total

que llega a la superficie terrestre y es la utilizada en el proceso de fotosíntesis.

La luz que llega a la superficie del agua no penetra completamente, pues buena parte es reflejada y dispersada. Luego, dentro del agua, la luz rápidamente se atenúa con el incremento de la profundidad por mecanismos de absorción y de dispersión. La luz es absorbida o dispersada por los componentes ópticamente activos: **estructura molecular del agua, los compuestos orgánicos disueltos y las partículas en suspensión**. En función de estos componentes puede caracterizarse el clima óptico de un lago. Mientras que la contribución de la molécula de agua en la absorción de la RFA es constante en todos los ambientes acuáticos, el aporte de las restantes fracciones puede variar tanto espacial como temporalmente. Las diferentes constituciones geológicas de las cuencas de drenaje, las características climáticas particulares, la morfología de las cubetas, el estado trófico y el grado del impacto humano, pueden producir concentraciones diferenciales de los principales componentes involucrados en la absorción y dispersión de la luz. El resultado es una atenuación de la luz con el incremento de la profundidad, que resulta dinámica y responde tanto a cambios estacionales como así también a los cambios producidos en tiempos geológicos del sistema.

Una medida sumamente importante en el ecosistema acuático es la determinación de la zona eufótica que representa la región lacustre donde se produce la fotosíntesis. Su límite inferior es la zona de compensación, donde la producción primaria se iguala a la respiración y por convención se ha establecido que este límite se encuentra al 1% de la luz RFA que llega a la superficie. En el caso de lagos profundos andinos esta zona es muy extensa pudiendo llegar hasta los 50 m en el caso de los lagos más transparentes (lagos Nahuel Huapi, Espejo, Correntoso), hasta pocos metros en lagos afectados por arcillas glaciares como el Lago Mascaró, Frías y otros lagos del sur de Santa Cruz (Morris et al. 1995; Balseiro et al. 2022).

La medición de luz puede realizarse de manera aproximativa con un disco denominado disco de Secchi que es un instrumento de medición de la transparencia de un cuerpo de agua, y de manera indirecta de la penetración de la luz (Figura 2). El disco mide entre 20 a 30 centímetros de diámetro y para mejorar el contraste, está dividido en cuartos que se pintan en blanco y negro alternativamente. Las mediciones deben realizarse siempre desde la superficie de la masa de agua y nunca desde puentes, diques, etc. Desde la embarcación

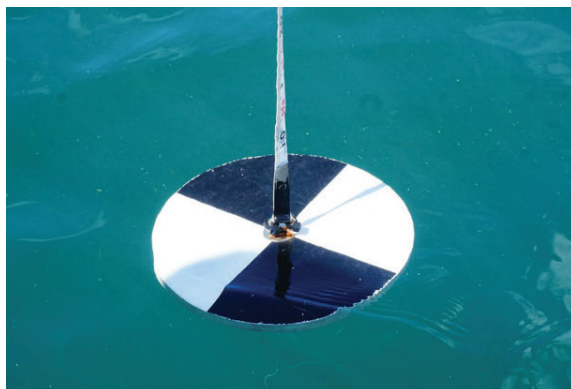


Fig. 2. Equipo de registro de luz.
a: Disco de Secchi se utiliza de forma manual como medición de la transparencia. b: radiómetro sumergible de registro electrónico y continuo.

a sotavento y, en el lado de sombra, se introduce al disco de Secchi atado a una cuerda graduada y se anota la profundidad en la cual el disco se pierde de vista. Se recomienda que la operación se realice al menos en 3 ocasiones. A partir de esta variable se pueden conocer otros parámetros, como la profundidad de la **zona eufótica** que resulta por convención aproximadamente 2,5 veces la profundidad de visión del disco de Secchi. Por ejemplo, en un lago transparente es común que la profundidad de visualización del disco de Secchi supere los 15 m.

Sin embargo, las mediciones más recomendables, sobre todo si se trata de lagos profundos oligotróficos (como lo son los lagos andinos) son aquellas obtenidas con radiómetros sumergibles. Existen muchos modelos del tipo de sondas que incluyen no sólo mediciones de la luz en diferentes longitudes de onda (UV-B, UV-A y RFA), sino también que registran al mismo tiempo la temperatura, profundidad y otras variables.

La intensidad lumínica es la cantidad de luz que llega a la superficie del lago y se expresa como energía o como flujo de fotones. En el primer caso las unidades más comúnmente utilizadas son $\mu\text{W cm}^{-2}$ o W m^{-2} , y en el segundo caso las unidades son $\mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Dependiendo del radiómetro que se utilice, se puede obtener una u otra medida, aunque hay algunos radiómetros en los que se puede seleccionar la unidad deseada. La conversión entre una y otra medida no es sencilla ya que las diferentes longitudes de onda del espectro visible tienen diferente energía, a medida que la longitud de onda aumenta (del violeta al rojo) la energía por unidad de flujo de fotones disminuye.

Una variable importante es el coeficiente de atenuación lumínica o coeficiente de extinción difusa (K_d), que se calcula a partir de los registros en el campo de la intensidad lumínica y los siguientes cálculos.

La atenuación de la luz producida al incrementarse la profundidad, presenta una función exponencial (Kirk 1994), y se define como:

$$I_z = I_0 \cdot e^{-K_d z}$$

o,

$$\ln I_0 - \ln I_z = K_d \cdot z$$

$$K_d = \frac{(\ln I_0 - \ln I_z)}{z}$$

siendo ,

I_z : intensidad lumínica a la profundidad z

I_0 : intensidad lumínica en la superficie del cuerpo de agua

z : profundidad a la que se desea conocer la intensidad de la luz

K_d : coeficiente de extinción de la luz propio del ambiente

En lagos es muy frecuente referirse a un coeficiente compuesto que corresponde a todas las longitudes de onda incluidas dentro del PAR ($K_d \text{ PAR}$). Aunque puede calcularse de forma separada para cada longitud de onda registrada por el radiómetro.

En los lagos andinos profundos la atenuación de la luz está frecuentemente afectada por el ingreso de arcillas glaciares (por ejemplo, Lagos Argentino, Viedma, Mascardi) (Morris et al. 1995), o por eventuales erupciones volcánicas en el área (por ejemplo, erupción del Hudson en el lago Buenos Aires, erupción del Puyehue-Cordón Caulle en Lagos Nahuel Huapi, Espejo y Correntoso) (Modenutti et al. 2013). En estos casos las partículas en suspensión no vivas (arcillas glaciares, ceniza volcánica), son la variable que contribuye más a la absorción de luz en la columna de agua.

Por otra parte, acciones antrópicas como cambios en el uso de la tierra que provoquen incrementos en el ingreso de partículas inorgánicas (suelo y arena) y sustancias disueltas (ácidos húmicos del suelo) también influyen en cambios en el coeficiente de extinción (Queimaliños et al. 2019; Bastidas Navarro et al. 2022). Asimismo, los organismos vivos influyen en la absorción lumínica, por lo cual incrementos en el fitoplancton producto del fenómeno de eutrofización también afectarán a la distribución lumínica.

Por último, es importante visualizar en la columna de agua del lago donde se ubica la zona eufótica en

relación con la estructura térmica (Figura 3). Esta condición será de suma importancia para considerar la distribución de la clorofila (Ver en capítulo 3). En relación con ambos parámetros (luz y temperatura), podemos observar que en lagos con termoclina profundas la estratificación térmica queda incluida dentro de la zona eufótica, mientras que en otros lagos el metalimnion coincide con el límite la zona eufótica (Figura 3). Estos perfiles también se ven afectados por las acciones antrópicas y los factores naturales ya mencionados.

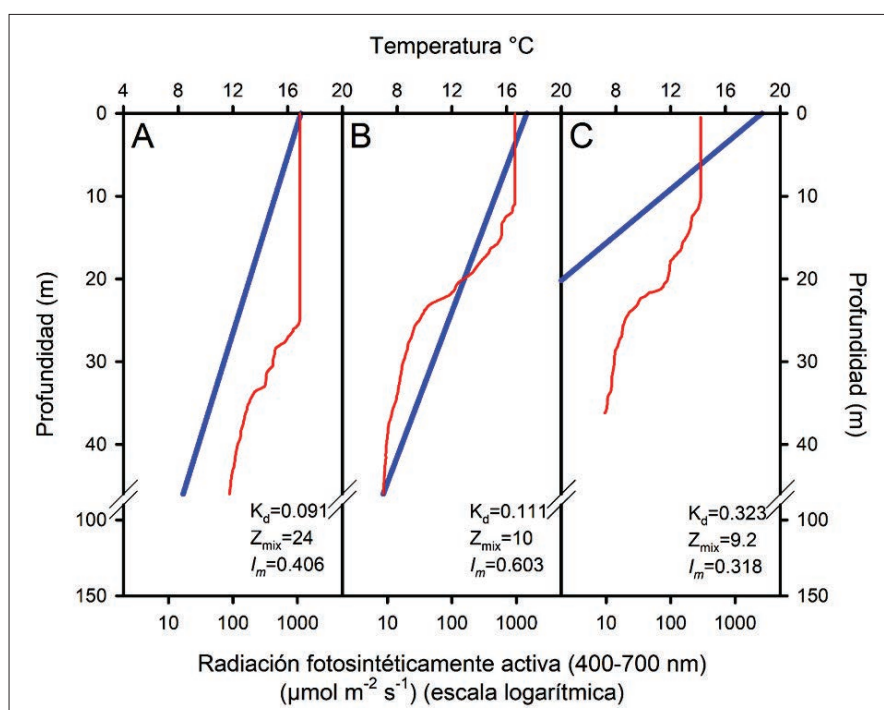


Fig. 3. Gráficos de distribución de temperatura en lagos andinos con termoclinas a diferente profundidad.

Bibliografía

Baigún, C., M. C. Marinone. 1995. Cold-temperate lakes of South America: do they fit Northern hemisphere models? *Arch Hydrobiol* 135:23-51

Balseiro, E., B. Modenutti, M. Bastidas Navarro, N. Martyniuk, L. Schenone, C. Laspoumaderes. 2022. North Patagonian Andean Deep Lakes: Impact of Glacial Recession and Volcanic Eruption. In: *Freshwaters and Wetlands of Patagonia: Ecosystems and Socioecological Aspects*. Springer, pp 31-57

Bastidas Navarro, M., L. Schenone, N. Martyniuk, E. Vega, B. Modenutti, E. Balseiro. 2022. Predicting Dissolved Organic Matter Lability and Carbon Accumulation in Temperate Freshwater Ecosystems. *Ecosystems* 25 (4):795-811. doi:10.1007/s10021-021-00682-0

Hutchinson, G.E., H. Löffler. 1956. The thermal classification of lakes. *PNAS* 42 (2):84-86

Kirk, J.T.O. 1994. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge Univ. Press.

Lewis, W. M. Jr. 1983. A revised classification of lakes based on mixing. *Can J Fish Aquat. Sci.* 40:1779-1787

Modenutti, B., R. Albariño, M. B. Navarro, V. D. Villanueva, M. Sol Souza, C. Trochine, C. Laspoumaderes, F. Cuassolo, G. Mariluán, L. Buria, E. Balseiro. 2010. Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: Organic matter, light and nutrient relationships. *Ecol Austral* 20 (2):95-114.

Modenutti, B. E, E. G. Balseiro, J. J. Elser, M. Bastidas Navarro, F. Cuassolo, C. Laspoumaderes, M. S. Souza, V. Diaz Villanueva. 2013. Effect of volcanic eruption on nutrients, light, and phytoplankton in oligotrophic lakes. *Limnol Oceanogr* 58 (4):1165-1175. doi:10.4319/lo.2013.58.4.0000

Morris, D.P, H. Zagarese, C. E. Williamson, E. G. Balseiro, B.R. Hargreaves, B.E. Modenutti, R. Moeller, C. Queimaliños. 1995. The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnol Oceanogr* 40 (8):1381-1391

Queimaliños, C., M. Reissig, G. L. Perez, C. Soto Cardenas, M. Gereá, P. E. Garcia, D. Garcia, M. C. Dieguez. 2019. Linking landscape heterogeneity with lake dissolved organic matter properties assessed through absorbance and fluorescence spectroscopy: Spatial and seasonal patterns in temperate lakes of Southern Andes (Patagonia,

Argentina). *The Science of the Total Environment* 686:223-235. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.396

Quirós, R. 1988. Relationship between air temperature, depth, nutrient and chlorophyll in 103 Argentinian lakes. *Verh Int Verein Limnol* 23:647-658

CAPÍTULO 18

Distribucion del oxígeno disuelto en la columna de agua y reserva de oxígeno en lagos profundos

Esteban Balseiro y Beatriz Modenutti

Introducción

La concentración de oxígeno disuelto en los cuerpos de agua influye en numerosos parámetros ambientales (biodiversidad, emisiones de gases, etc.) incluyendo la calidad del agua. Por esta razón es muy importante su determinación de manera precisa a lo largo de la columna de agua incluyendo los diferentes niveles sobre todo si el lago profundo está estratificado.

Hay dos métodos que se utilizan comúnmente para determinar la concentración de oxígeno disuelto en muestras de agua: la **titulación** de Winkler (método iodométrico) y **sensores** (electrodos de membrana y ópticos con fluorescencia) de registro discreto y continuo (Wetzel and Likens 1991). El método de Winkler implica la toma de muestras, lo que resulta sumamente difícil y prácticamente no se realiza en lagos profundos. Los sensores son sumamente utilizados en los lagos profundos y debe recordarse entonces la necesidad de contar con sensores con cables largos (100 m) que permitan la medición en sectores profundos del hipolimnion. Esto resulta indispensable ya que, durante el período de estratificación térmica, la distribución del oxígeno disuelto no es homogénea en la columna de agua.

Los sensores con electrodos de membrana, en general, son de registro discreto, es decir debe registrarse nivel por nivel lo que también hace que su operación resulte lenta en columnas de agua profundas. Por el contrario, el método con **sensores de oxígeno** ópticos de fluorescencia es rápido y permite mediciones *in situ* y el registro continuo (Figura 1). Estos sensores vienen acoplados con medidores de temperatura por lo cual se calibran automáticamente (ver más abajo relación temperatura oxígeno). En lagos profundos

es muy común el uso de estos sensores ópticos de manera directa o en sondas CDT ambos con registro electrónico.

La solubilidad del oxígeno es la concentración máxima (saturación) que puede alcanzar el O_2 en el agua y depende de 3 factores: la temperatura, la presión atmosférica (altitud) y la salinidad. La solubilidad del O_2 en el agua varía en relación inversa con la temperatura (Tabla 1). Por lo tanto, en lagos profundos, con temperaturas variables en columna de agua y/o estratificados (donde se observa una estructura térmica de epilimnion, metalimnion e hipolimnion) son esperables variaciones en el oxígeno disuelto. En estas condiciones resulta importante el registro continuo de oxígeno a lo largo de los diferentes niveles de



Fig. 1. Oxímetro óptico con fluorescencia y cable de 100 m para muestreo de lagos profundos que permite registros continuos de temperatura, concentración de oxígeno, % de saturación con calibración automática por presión atmosférica (altitud).

la columna de agua. Por otra parte, la concentración de oxígeno disuelto en agua está también afectada por la presión atmosférica (y por lo tanto la altitud sobre el nivel del mar). Finalmente, la solubilidad del O_2 en el agua también depende de la salinidad, teniendo la concentración de O_2 una relación negativa con la salinidad (Wetzel 2001). Sin embargo, cabe aclarar que, en el caso de los lagos profundos andinopatagónicos de Argentina, la salinidad es extremadamente baja y no afecta a la solubilidad del O_2 .

Considerando su variación inversa con la temperatura, en un lago estratificado esperaríamos una mayor concentración en sectores más fríos (hipolimnion) que en sectores más cálidos (epilimnion) (Figura 2). Esta distribución de oxígeno que se denomina ortógrada es la típica registrada en lagos profundos andinos (Figura 2) y señala su bajo nivel trófico (oligotrófico).

Sin embargo, el contenido de oxígeno disuelto puede disminuir significativamente por efecto de la respiración, especialmente la microbiana, resultante de la degradación de compuestos orgánicos (que pueden provenir del mismo lago o de la cuenca, vuelcos, etc.). Esta disminución (que

puede llegar a la anoxia) se registra en el hipolimnion de lagos estratificados. Cuando el agua del lago no se mezcla y posee mucha materia orgánica, comienza la disminución del O_2 debido a la degradación microbiana. Al no haber un suministro de O_2 a través de fotosíntesis, o por circulación vertical, esta disminución continúa pudiendo alcanzar la anoxia. (Ver Figura 3)

Reserva de Oxígeno

La reserva de oxígeno de un lago estratificado resulta entonces importante porque señala la cantidad de oxígeno disponible para la respiración microbiana. De manera indirecta nos señala la capacidad que tienen los organismos de degradar los compuestos orgánicos. Se espera que los lagos oligotróficos profundos posean una reserva de oxígeno alta. La reserva de oxígeno en un lago estratificado es la cantidad de O_2 que se encuentra en el hipolimnion. Esta reserva depende del volumen del hipolimnion y de la concentración de O_2 de ese hipolimnion, de tal forma que la reserva es

$$\text{Reserva de } O_2 = [O_2] * \text{Volumen del hipolimnion}$$

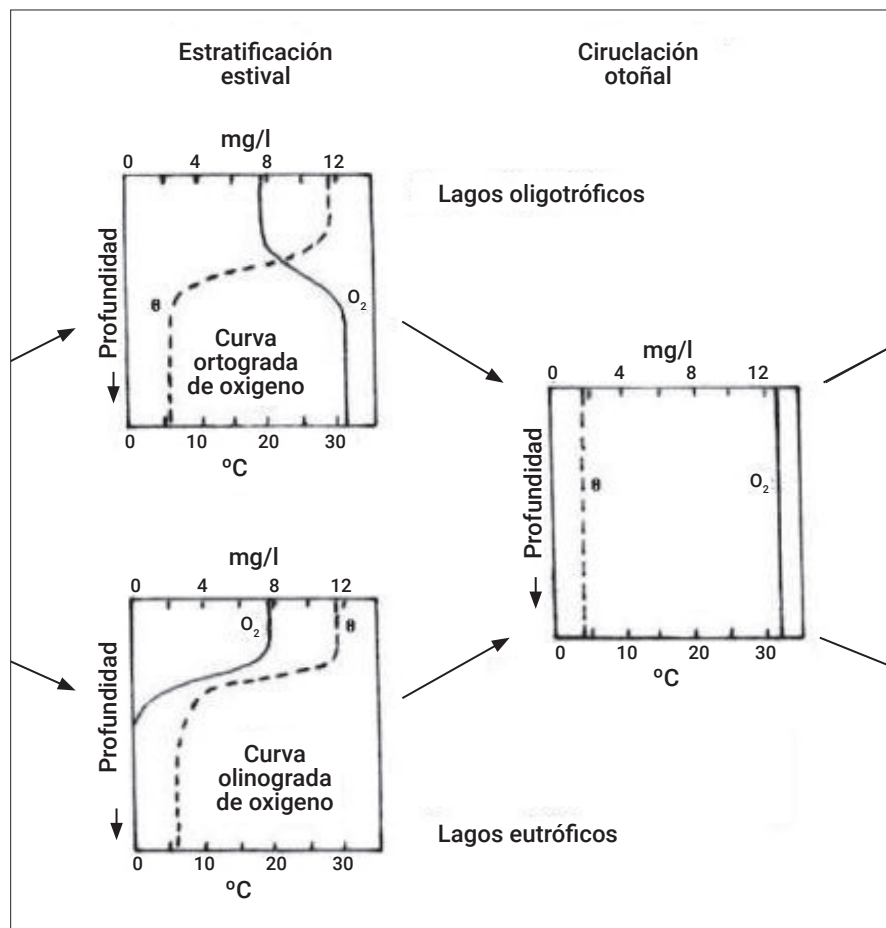


Fig. 2. Perfil ortógrado y clinógrado de distribución de oxígeno, en lagos monomícticos cálidos como son los lagos profundos andinopatagónicos, (ver temperatura).

Las unidades de esta reserva están dadas en masa de O_2 dado que la concentración es masa (mg, g, Kg) volumen⁻¹ (L, m3, Hm3) * volumen (L, m3, Hm3), por lo que volumen se cancela y queda masa.

Es importante volver a mencionar que la temperatura afecta la disolución de oxígeno y, por lo tanto, incrementos en la temperatura traerán aparejados cambios en la distribución de oxígeno, causando una disminución en la concentración en superficie fundamentalmente. Esta situación se acentuará más con el incremento de la antropización que incluye la eutrofización, la

salinización y el manejo hídrico de los sistemas. Estos cambios también afectan al hipolimnion y traerán como consecuencia disminución de la reserva de oxígeno y la capacidad del sistema de procesar materia orgánica. En el marco de cambio climático, estas situaciones deben tenerse en cuenta especialmente.

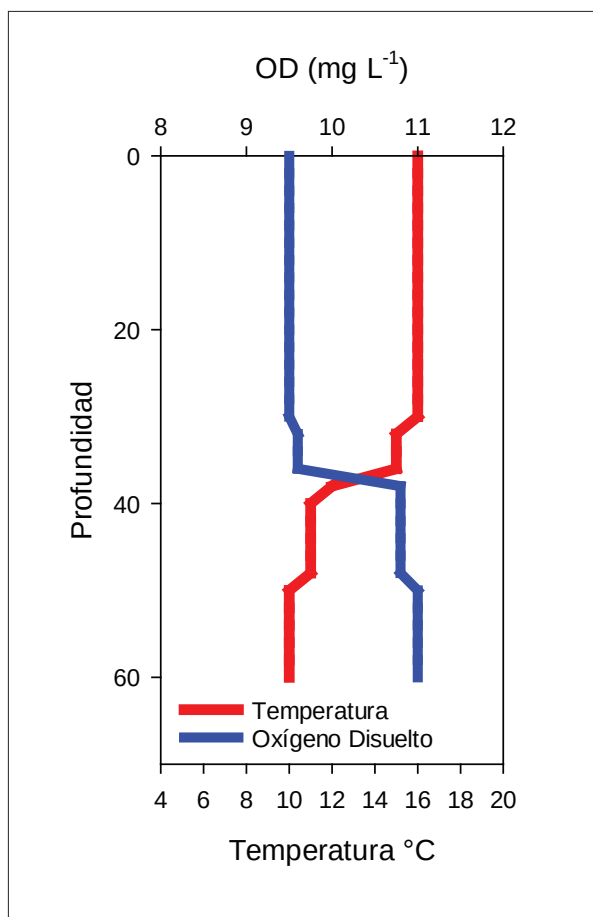


Fig. 3. Perfil de oxígeno y temperatura en Lago Gutiérrez.

Temp. (°C)	OD (mg/L)	Temp. (°C)	OD (mg/L)
0	14.6	16	9.9
1	14.2	17	9.7
2	13.8	18	9.6
3	13.5	19	9.3
4	13.1	20	9.1
5	12.8	21	8.9
6	12.5	22	8.7
7	12.1	23	8.6
8	11.8	24	8.4
9	11.6	25	8.3
10	11.3	26	8.1
11	11.0	27	8.0
12	10.8	28	7.8
13	10.5	29	7.7
14	10.3	30	7.6
15	10.1	31	7.5

Bibliografía

Wetzel, R. G. 2001. Limnology: lake and river ecosystems. Academic Press, San Diego, CA

Wetzel R. G, G. E, Likens. 1991. Limnological analyzes. Springer-Verlag, New York, New York

CAPÍTULO 19

Biomonitoreo empleando el fitoplancton en lagos profundos

Marcela Bastidas Navarro y Beatriz Modenutti

Distribución de la clorofila en la columna de agua: mediciones *in situ*

La concentración de clorofila *a* se utiliza para estimar en forma indirecta la biomasa del fitoplancton (productores primarios) ya que es el principal pigmento fotosintético presente en los diferentes grupos de algas. Asimismo, la concentración de clorofila es un indicador del estado fisiológico del fitoplancton y del estado trófico de los sistemas acuáticos. Una característica única de los lagos andinopatagónicos es la presencia de organismos mixótrofos. Se denominan así a organismos primariamente heterótrofos (por ejemplo, ciliados) pero que también pueden fotosintetizar por la presencia de algas simbióticas en su citoplasma. En estos lagos una alta proporción de la clorofila está contenida en los ciliados mixotróficos *Ophrydium naumanni*, *Stentor araucanus* y *S. amethystinus* (Modenutti 1997; Queimaliños et al. 1999; Modenutti

2014) (Figura 1) y su presencia representa una biodiversidad indicadora de condiciones de prístinidad que debe preservarse, dado que estos organismos son extremadamente sensibles de cambios ambientales (Modenutti et al. 2000a; Modenutti et al. 2013b; Modenutti et al. 2013c). Por otra parte, también es notable la presencia de nanoflagelados mixotróficos que son primariamente algas (fotosintéticas) que acceden a ingerir partículas (bacterias) por fagotrofía, sobre todo en condiciones de bajos niveles de nutrientes como los lagos andinopatagónicos (Queimaliños et al. 2002; Modenutti 2014; Schenone et al. 2022) (Figura 1)

Los lagos profundos, en particular los de la Patagonia andina argentina, son ambientes ultraoligotróficos u oligotróficos que reciben muy bajos aportes de nutrientes de fuentes externas, lo que resulta en niveles muy bajos de producción primaria y zonas eufóticas extendidas con bajos coeficientes de

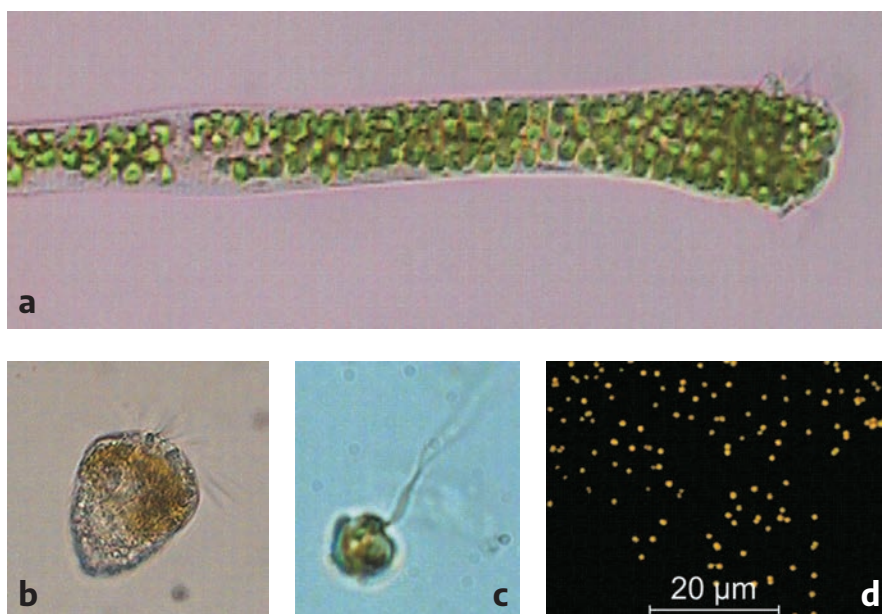


Fig. 1. Protistas mixótrofos y picocianobacterias presentes en lagos Andinos. a: *Ophrydium naumanni* (ciliado), nótese las algas simbióticas en el interior de la célula del ciliado, b: *Strobilidium viride* (ciliado), c: *Chrysocromulina parva* (nanoflagelado), d: picocianobacterias. a, b y c: microfotografía en microscopio óptico, d: microfotografía en microscopio de epifluorescencia (iluminación en banda azul).

atenuación (Morris et al. 1995; Pérez et al. 2002a; Balseiro et al. 2022). De esta manera, estos lagos resultan, en general altamente transparentes con zonas eufóticas extensas. (Link a página 228) Esta situación causa que la distribución del fitoplancton (y los protistas mixótrofos) ocurra a lo largo de toda la extensa zona eufótica aunque no en forma homogénea, por lo cual, para conocer la distribución de la clorofila a lo largo de la columna de agua de un lago profundo, debe realizarse un muestreo que incluya varios niveles de profundidad en la zona eufótica o usarse fluorómetros *"in situ"* que operan de manera continua en la columna de agua a través de registros electrónicos (Figura 2).

Asimismo, debe considerarse que la gran transparencia de estos lagos provoca un fuerte efecto inhibidor de la radiación ultravioleta sobre el fitoplancton en los niveles superiores de la columna de agua

y de la zona eufótica, por lo cual estos niveles (0 a 5 m de profundidad) son evitados por los productores primarios que se ubican en niveles profundos de la zona eufótica (Pérez et al. 2002a; Modenutti et al. 2004; Callieri et al. 2007a). Esta distribución implica la existencia de un máximo profundo de concentración de clorofila conocido como máximo profundo de clorofila o DCM (Deep Chlorophyll Maxima) que se sitúa a los 30-40 m de profundidad (Modenutti et al. 2004). Este pico profundo (DCM) coincide con la profundidad del 1% de la radiación fotosintéticamente activa (PAR, Photosynthetically Active Radiation) que incide en superficie (Pérez et al. 2002b; Modenutti et al. 2013a) (Figura 2). En este nivel lumínico profundo es donde el fitoplancton (y los mixótrofos) encuentran un refugio adecuado para evitar a la fotólisis celular (provocada por altos niveles de UV-B en superficie,) y los niveles lumínicos de intensidad y calidad que les permite tener una alta eficiencia fotosintética y por consiguiente, mayor biomasa (Callieri et al. 2007b).

Una rápida visualización de la distribución de la clorofila en la columna de agua profunda puede obtenerse empleando fluorómetros *"in situ"*. Además de la clorofila *a*, las algas y las cianobacterias contienen pigmentos accesorios que permiten utilizar de forma más eficaz la energía de la luz y que influyen de forma característica en la fluorescencia de la clorofila *a*. El uso de fluorómetros específicos *"in situ"* que poseen diferentes longitudes de onda de excitación en el rango visible entre 370 y 610 nm, permite además distinguir entre las diferentes clases de algas a partir de la fluorescencia emitida por sus pigmentos. Existen numerosos equipos que permiten censar la calidad de agua por estos métodos rápidos. En el caso de lagos profundos estos equipos pueden operarse adicionados a las sondas ya mencionadas tipo CTD (ver temperatura y luz), lo que trae la ventaja de obtener datos completos y continuos de la columna de agua. (Link a página 202-Figura 1 ida y vuelta)

Extracción de muestras

Por lo expuesto, se debe considerar que la concentración de clorofila en la zona eufótica se distribuye de manera desigual y todos los muestreos deben contemplar necesariamente la inclusión del nivel de profundidad del 1 % de PAR de superficie, (Link capítulo 1-página 200) incluyendo entonces el máximo de concentración de clorofila característico de estos lagos profundos. La extracción de muestras para estimar la concentración de clorofila se realiza mediante botellas limnológicas (Ruttner, van Dorn, etc.) que se descienden hasta la profundidad deseada, se cierran mediante el accionar de un mensajero (Figura 3) y se llevan a la superficie para su posterior almacenamiento y tratamiento.

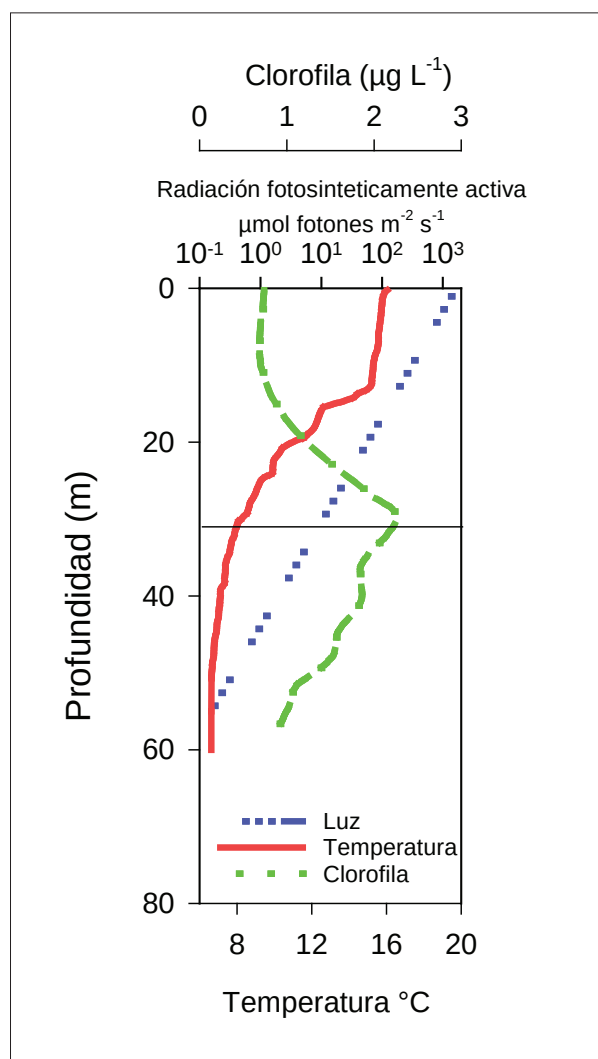


Fig. 2. Distribución de clorofila *"in situ"* en relación con la distribución de temperatura y luz en la columna de agua en un lago profundo andino patagónico (lago Mascaradi). La línea horizontal indica la profundidad del 1% de luz (aprox 30 m).



Fig. 3. Ejemplos de muestreadores de fitoplancton (botellas limnológicas).

Estimación de la concentración de clorofila en laboratorio

La estimación de la concentración de clorofila implica la utilización de un solvente orgánico apropiado para la extracción de los pigmentos fotosintéticos contenidos en determinado volumen, y luego su valoración por espectrofotometría o por fluorometría. Los solventes más utilizados son acetona 90%, metanol puro y etanol 90%. Estos solventes extraen clorofilas y carotenoides, pero sólo se determinan las clorofilas. Con algunas técnicas se evalúan las clorofilas *a*, *b* y *c* (método tricromático), mientras que, con otras, sólo la clorofila *a* (métodos monocromáticos).

Las clorofilas en general están sujetas a procesos de alteración dentro de los organismos vivos; hay una continua síntesis y degradación de las mismas. La molécula de la clorofila *a* consiste en un anillo tetrapirrólico, con un átomo de magnesio en el centro y una cadena formada por un alcohol (fitol) cuya composición varía según el tipo de clorofila. Las clorofilasas separan la cadena de fitol y convierten a la clorofila en clorofilida; en medio ácido, la clorofila pierde el magnesio y se convierte en feofitina, conservando el fitol. La clorofila sin fitol ni magnesio se denomina feofórbido y al conjunto de feofitinas y feofórbidos se los denomina feopigmentos. Entre los métodos de extracción más utilizados en fitoplancton se encuentra el de Nusch (Nusch 1980). Este método está basado en la extracción alcohólica (etanol al 90%) de los pigmentos fotosintéticos. El procedimiento consiste en:

- a) Filtración: la cantidad de agua filtrada es variable según la concentración de fitoplancton y el método de lectura posterior. Generalmente se parte de un volumen entre 200 mL y 2 L según el estado trófico y la lectura posterior (espectrofotométrica o fluorométrica). En lagos profundos oligotróficos las estimaciones fluorométricas son más comunes y aconsejables por dos razones: se necesita filtrar un volumen menor y además permiten estimaciones de concentraciones bajas. En lo posible, la muestra debe ser filtrada inmediatamente después de obtenida de la botella, esta operación se puede realizar sobre la embarcación o en la costa, pero siempre en condiciones de protección de la luz. Si no se pudiera hacer inmediatamente la muestra se debe guardar muy protegida de la luz y a una temperatura estable lo más cercana a la del sitio de donde proviene (recuérdese que si son profundas pueden ser muestras frías por lo cual debería ser a 5°C, en heladera). Se recomienda que este almacenamiento no se realice por más de 6 horas. La filtración consiste precisamente en pasar el agua obtenida de cada nivel a través de un filtro para retener el fitoplancton y los mixótrofos. Antes de la filtración es indispensable que la muestra sea homogeneizada, pues las células decantan con gran facilidad. Para filtrar el volumen de muestra se utilizan bombas de presión negativa que no deben exceder los 3/4 de atmósfera o 570 mm de mercurio. Los filtros utilizados son inertes e insolubles en el solvente de extracción (acetona, metanol, eta-

nol) y debe tener buena capacidad de retención de células, en general se usan filtros de fibra de vidrio de tamaño de poro aproximado entre 0.5 y 0.7 μm , habitualmente designados como GF/F.

- b) Extracción: en un tubo graduado y con tapa a rosca medir 10 mL de etanol 90%, e introducir el filtro obtenido al filtrar la muestra. Luego se debe aflojar la tapa a rosca e introducir el tubo en agua hirviendo para permitir la ebullición del alcohol durante un lapso de 1 a 2 minutos. El tubo debe ser guardado en oscuridad y en frío (en heladera o freezer) durante por lo menos 24 horas.
- c) Filtración del extracto: se realiza a través de filtros de mayor tamaño de poro que el anterior, con el propósito de extraer posibles sedimentos que afectan en la lectura a 750 nm. Otra alternativa es centrifugar el extracto para que decanten los sedimentos en este caso deben usarse centrífugas refrigeradas para que no se incremente la temperatura del extracto.
- d) Lectura espectrofotométrica: la clorofila *a* presenta dos picos en su espectro de absorción, uno a 430 nm y otro a 665 nm. La longitud de onda a la que se produce la máxima absorbancia en los extractos de las clorofilas puras es 665 nm, por lo tanto, las lecturas se realizan a esta longitud de onda. Por otra parte, los productos de degradación de la clorofila *a* presentan el mismo espectro de absorción o uno muy similar. La clorofilida *a* tiene el mismo espectro y no es posible separarla de la clorofila *a* activa por este método, pero los feopigmentos, que tienen uno similar presentan una propiedad que sí permite distinguirlos. Como se mencionó anteriormente, en medio ácido la clorofila *a* activa se degrada a feopigmentos. En este caso se agregan al extracto unas gotas de ácido clorhídrico 1 N, después de realizar la lectura a 665 nm, se esperan unos minutos, se vuelve a leer a la misma longitud de onda y se observa una reducción en la absorbancia. Aunque los feopigmentos tengan un espectro de absorción similar, los valores de absorbancias que poseen son menores que los de la clorofila *a* activa.
- e) Aplicación de las fórmulas:

$$\text{Clorofila } a (\mu\text{g L}^{-1}) = \frac{(E_{665_0} - E_{665_a}) \times 29.6 \times v}{V \times l}$$

$$\text{Feopigmentos } (\mu\text{g L}^{-1}) = 20.8 \times E_{665_a} \times \frac{v}{V \times l} - \text{Clorofila } a$$

donde: 665₀ 665_a corresponden a la lectura antes

y después de acidificar, respectivamente. E_{665₀} es la diferencia entre la absorbancia 665₀ y la absorbancia 750₀, E_{665_a} es la diferencia entre la absorbancia 665_a y la absorbancia 750_a, v es el volumen del extracto (mL), V corresponde al volumen de muestra filtrada (L), y l es la longitud de la cubeta (cm).

- f) Lectura fluorométrica:

Como ya se mencionó, esta técnica es la recomendada para lagos profundos oligotróficos porque permite trabajar con concentraciones bajas de pigmentos y volúmenes menores de filtrado. La técnica de fluorimetría consiste en excitar con luz azul (430-450 nm) a los pigmentos algales lo que da una máxima emisión de fluorescencia en longitud de onda roja (650 a 675 nm). Luego de la extracción se coloca la muestra en una celda de fluorómetro, se lee y seguidamente, la muestra se acidifica para convertir toda la clorofila *a* en feopigmentos y se mide en el fluorómetro nuevamente.

Dada que la lectura de los fluorómetros es relativa, es indispensable realizar una curva de calibración para cada fluorómetro. Esta curva se construye a partir de mediciones realizadas simultáneamente por espectrofotometría y fluorimetría. A pesar de la necesidad de este paso, la medición por fluorimetría es más rápida y simple en bajas concentraciones de pigmentos.

La fluorescencia depende de la temperatura. Por lo tanto, al realizar la calibración del equipo, así como en el análisis de muestras, se debe trabajar a una temperatura ambiental constante entre 20-25 °C. La luz intensa puede degradar con rapidez la clorofila, por lo cual se recomienda realizar todo el análisis en un ambiente con luz tenue.

Una vez calibrado con un espectrofotómetro, se obtiene el factor de conversión F, de tal forma que

$$\text{Chla } (\text{mg m}^{-3}) = \frac{F * (\text{lectura del fluorómetro}) * v}{V}$$

Donde v es el volumen de extracción y V el volumen de muestra filtrado.

Luego de la acidificación para medir feofitinas, se vuelve a leer (R_a)

Usando los mismos estándares con los que se obtuvo el factor de calibración F, se deben obtener los valores de R_b y R_a para cada concentración. Con estos valores se obtiene τ

$$\tau = \frac{R_{bstd}}{R_{astd}}$$

Entonces

$$\text{Clorofila } a \text{ } (\mu\text{g L}^{-1} \text{ o } \text{mg m}^{-3}) = \frac{F * \left(\frac{\tau}{\tau-1}\right) * (R_b - R_a) * v}{V}$$

Y

$$\text{Feopigmentos } (\mu\text{g L}^{-1} \text{ o } \text{mg m}^{-3}) = \frac{F * \left(\frac{\tau}{\tau-1}\right) * (\tau R_a - R_b) * v}{V}$$

Recuento celular para cálculo de índices específicos

En términos de abundancia celular, el fitoplancton de los lagos profundos andino-patagónicos y, en particular al nivel del DCM, está constituido principalmente por picocianobacterias (Modenutti and Balseiro 2002; Callieri et al. 2007b), las cuales presentan además alta eficiencia fotosintética en condiciones de luz tenue (límite inferior de la zona eufótica, 1% de PAR de superficie) debido a la presencia del pigmento ficoeritrina (Hauschild et al. 1991; Callieri et al. 1996). Además, el fitoplancton incluye además células móviles, principalmente especies de nanoflagelados mixotróficos (*Chrysochromulina parva*, *Plagioselmis lacustris* y *Gymnodinium* spp) (Queimaliños 2002; Modenutti et al. 2004; Modenutti et al. 2013b; Bastidas Navarro et al. 2018), ciliados mixotróficos (*Ophrydium naumanni*) y dinoflagelados (*Peridinium* sp, *Gymnodinium* spp) (Queimaliños et al. 1999; Queimaliños 2002; Pérez et al. 2007). Finalmente, las diatomeas *Urosolenia eriensis*, *Cyclotella stelligera*, *Fragilaria* spp. y *Synedra* spp. están presentes también en baja abundancia (Queimaliños and Diaz 2014).

Para realizar el recuento celular del fitoplancton de estos lagos profundos, se procede a la toma de muestras de agua a diferentes niveles de profundidad, procurando incluir siempre el DCM. Se procede de manera diferencial para el recuento de la fracción menor (picofitoplancton dominado por picocianobacterias) y mayor a 2 μm (nanofitoplancton y fitoplancton de red). Para la fracción del picofitoplancton, se fija un volumen de 60 mL de muestra de agua de lago con formaldehído filtrado (a través de 0.2 μm , con una concentración final de 2 % v/v). Las células son teñidas con 4',6-diamidino-2-phenylindol (DAPI), a una concentración final de 0.2 % w/v según Porter & Feig (Porter and Feig 1980). El recuento se lleva a cabo filtrando un volumen variable entre 2 a 5 mL en filtros de membrana negros de 0.2 μm de tamaño de poro, y observando con un microscopio de epifluorescencia y bajo objetivo de inmersión. Utilizando diferentes filtros de luz del

propio microscopio se pueden diferenciar las picocianobacterias con diferentes pigmentos. Las células que fluorescen en rojo, al ser iluminadas con luz azul, son consideradas células ricas en ficocianina, mientras que aquellas que fluorescen en anaranjado son células ricas en ficoeritrina (Stomp et al. 2007). Las células ricas en ficoeritrina son las más abundantes en lagos profundos oligotróficos (Figura 1d). Un estudio detallado de esta fracción puede realizarse también con la técnica de **citometría de flujo**, mediante la cual además se pueden identificar poblaciones dentro de la misma muestra. (Link a página 73 ida y vuelta)

El recuento de la fracción mayor a 2 μm se aborda de dos maneras. En primer lugar, se obtiene una muestra de 60 mL que se fija con formaldehído filtrado (a través de 0.2 μm , con una concentración final de 2 % v/v). En el laboratorio, se procede a filtrar en filtros de membrana negros de 1 μm de tamaño de poro, un volumen de 20 mL. Las células son teñidas con 4',6-diamidino-2-phenylindol (DAPI), a una concentración final de 0.2 % w/v (Porter and Feig 1980). Los recuentos se realizan bajo microscopio de epifluorescencia, utilizando los filtros de luz UV y azul para diferenciar los nanoflagelados heterotróficos, los cuales solo fluorescen bajo luz UV. Las células de nanoflagelados que fluorescen en color rojo, al ser iluminadas con luz azul, son observadas cuidadosamente y comparadas sus características con la bibliografía, ya que en conjunto estas células pueden ser consideradas como nanoflagelados mixótrofos. En segundo lugar, un volumen de 500 mL de agua de lago es inmediatamente fijado con solución de Lugol. Estas muestras son transportadas al laboratorio y contadas en cámaras de Utermöhl de 50 mL en un microscopio invertido. Se recomienda el uso de cámaras proporcionalmente grandes (50 mL) que requieren un proceso de decantación más largo (48 h) dado que en lagos oligotróficos profundos la concentración celular puede ser muy baja. En estas muestras se observa, determina y recuenta tanto al fitoplancton de red (mayor de 20 μm) como a los nanoflagelados y otras células pequeñas.

El recuento de organismos por unidad de volumen es un método ampliamente utilizado como estimador de biomasa, ya que posee grandes ventajas al permitir la identificación de las especies, y la distinción de los organismos de las partículas detríticas; sin embargo, su resultado numérico no da una verdadera evaluación de la biomasa debido a que los organismos fitoplanctónicos difieren notablemente en tamaño. Por esto se utiliza el biovolumen como expresión real de la biomasa en estas comunidades. El biovolumen se calcula aproximando la forma celular de cada especie a formas

geométricas completas o a una composición de ellas, tomando el promedio de las dimensiones involucradas. Para ello se realiza un número determinado de mediciones de las células de todas las fracciones fitoplanctónicas, a través de un sistema de análisis de imágenes (Image ProPlus). Particularmente, para el fitoplancton ($< y > 2 \mu\text{m}$) se calcula el biovolumen celular según Sun & Liu (2003). A continuación, se puede transformar el biovolumen a contenido de carbono con los factores de conversión correspondientes (por ejemplo, Weisse 1993 para picocianobacterias; Menden-Deuer & Lessard 2000 para dinoflagelados, diatomeas y otras algas).

Nivel del máximo de clorofila e índices de calidad de agua

- a) Relación entre el DCM y los cambios en la penetración lumínica.

La profundidad a la que se encuentra el DCM resulta una variable muy sensible a cambios ambientales en la transparencia que ocurren en los lagos profundos andino-patagónicos, tanto de corto como a largo plazo.

Los eventos geológicos como las erupciones volcánicas son procesos de corto plazo que en la región patagónica ocurren por erupción de estratovolcanes que producen productos piroclásticos de diverso tamaño y que ingresan a los ambientes acuáticos. En particular, los sedimentos más finos provocan cambios drásticos, aumentando la cantidad de sólidos en suspensión y disminuyendo la transparencia del agua (Modenutti et al. 2013a). Este incremento en la turbidez causado por la caída de ceniza provoca un desplazamiento en la posición del DCM hacia niveles superiores en la columna de agua en los lagos afectados. El incremento absoluto en los valores de biomasa fitoplanctónica también se explica por un incremento en la atenuación lumínica, lo que disminuye el efecto de fotólisis y provoca el cambio en la posición de los máximos.

Los eventos de largo plazo en los lagos profundos de los Andes Patagónicos se asocian también a cambios en la transparencia, pero modulada por la acción de los glaciares y debida al derretimiento de los glaciares que aportan arcillas glaciares a los sistemas (Modenutti et al. 2000b; Modenutti et al. 2013a; Modenutti et al. 2013c). En particular, en el lago Masecardi, que recibe en el extremo noroccidental del brazo Tronador agua de deshielo de los glaciares del cerro Tronador, las partículas de arcilla glacial

suspendidas producen un gradiente longitudinal (Bonetto 1971; Modenutti and Pérez 2001; Balseiro et al. 2007; Laspoumaderes et al. 2013; Bastidas Navarro et al. 2018). En este gradiente, la profundidad del DCM está directamente relacionada con la penetración de la luz, por lo que la disminución de la carga de sólidos suspendidos profundiza el DCM a lo largo del Brazo Tronador. En 2009, la morena frontal que embalsa el lago proglacial Ventisquero Negro, se rompió devastando catastróficamente el valle debajo de la presa (Worni et al. 2012) con consecuencias en los ambientes acuáticos aguas abajo. Este evento, denominado GLOF (Glacier Lake outburst flood), provocó un aumento del tamaño del lago Ventisquero Negro favoreciendo la decantación de la arcilla glacial y disminuyendo la cantidad de sólidos en suspensión que se transportaban aguas abajo hacia el lago Masecardi. El aumento de la transparencia a lo largo del Brazo Tronador en los años siguientes, provocó una ubicación más profunda del DCM (Bastidas Navarro et al. 2018). Analizando conjuntamente los ambientes afectados por las arcillas glaciares (antes y después del evento GLOF) y por la influencia de las cenizas, las longitudes de onda PAR y UV-A (320 nm) tienen una gran importancia en la determinación de la profundidad de DCM.

Así, las partículas en suspensión, tanto las arcillas glaciares como las cenizas volcánicas, muestran un efecto similar disminuyendo la transparencia del agua y consecuentemente provocando una ubicación superior del DCM en la columna de agua.

- b) Índices de niveles tróficos

En los lagos profundos de la Patagonia andina argentina se han aplicado diferentes índices para conocer su estado trófico. En particular, si se desea analizar la concentración de clorofila, se pueden aplicar diferentes índices tróficos. Los lagos profundos andino-patagónicos correspondieron al estado de ultra-oligotrófia y oligotrofia de acuerdo a la clasificación de OCDE (Comité de Eutrofización de la Organización de Cooperación Económica y Desarrollo), y según el índice de estado trófico TSI (Trophic state Index) o de Aizaki et al. (1981) (modificación de (Carlson 1977)) (Tabla 1). Estos métodos de clasificación resultan simples y de fácil aplicación al momento de ser utilizados fundamentalmente por tomadores de decisiones, antes de aplicación, etc. Los cálculos relacionan las principales variables asociadas al proceso de eutrofización: nutrientes, clorofila y transparencia y se aplican sólo a valores obtenidos en la superficie del cuerpo de agua. Sin embargo, debido a las complejidades mencionadas (ver temperatura, luz,

Lago	Concentración de Clorofila a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Clasificación de OCDE	TSI
Correntoso	0.18	Ultraoligotrófico	13.73
Espejo	0.20	Ultraoligotrófico	12.65
Gutierrez	0.25	Ultraoligotrófico	16.38
Mascardi	0.20	Ultraoligotrófico	13.58
Moreno	0.31	Ultraoligotrófico	26.13
Nahuel Huapi	0.08	Ultraoligotrófico	20.22
Futalaufquen	0.91	Ultraoligotrófico	25.43
Guillermo	0.30	Ultraoligotrófico	14.60

Tabla 1. Valores de concentración de clorofila a para diferentes lagos andinos nord-patagónicos, clasificación de acuerdo a OCDE, y valor del índice IST o de Aizaki.

oxígeno, clorofila) en la columna de agua de los lagos profundos estos índices pueden incurrir en sobre o subestimaciones, por lo cual se recomienda que siempre se apliquen acompañados de otras variables registradas en niveles profundos de la columna de agua.

Si se desea utilizar a las algas presentes para valorar el estado trófico pueden utilizarse una gran variedad de índices, pero deben considerarse posibles sesgos por la particular constitución del fitoplancton (dominancia de picocianobacterias, nanoflagelados y ciliados mixotróficos). En el caso de los lagos profundos andino-patagónicos argentinos se emplearon índices como los propuestos por Stockner (1991), Bell and Kalff (2001) y Callieri and Stockner (2002). El índice se basa en la contribución relativa de las picocianobacterias ricas en ficoeritrina (Link a página 216) a la biomasa y producción total del fitoplancton. En un rango decreciente de condiciones tróficas, la contribución relativa de las picocianobacterias ricas en ficoeritrina a la biomasa y producción total del fitoplancton aumenta (Stockner 1991; Bell and Kalff 2001; Callieri and Stockner 2002). Este patrón se cumple en los lagos profundos Nord Patagónicos, donde se ha observado una relación inversa entre la contribución relativa de la picocianobacterias a la producción primaria total, y la concentración de P disuelto total (TDP). La inclusión de lagos profundos andino-patagónicos en la extensa base de datos de Vörös et al. (Vörös et al. 1998) ajusta muy bien en las tendencias observadas para lagos del hemisferio norte; los valores de la relación producción de picocianobacterias/ producción primaria

total obtenidos en los lagos profundos del área (entre el 10 y 70% de contribución) constituyen el extremo inferior del rango de concentraciones de la base de datos de Vörös et al. (Azam 1998).

Bibliografía

Aizaki, M., A. Otsuki, T. Fukushima, M. Hosomi, K. Muraoka. 1981. Application of Carlson's trophic state index to Japanese lakes and relationships between the index and other parameters: With 2 figures and 4 tables in the text. 21 (1):675-681

Azam, F. 1998. Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. *Science* 280 (5364):694-696

Balseiro, E., B. Modenutti, M. Bastidas Navarro, N. Martyniuk, L. Schenone, C. Laspoumaderes. 2022. North Patagonian Andean Deep Lakes: Impact of Glacial Recession and Volcanic Eruption. In: *Freshwaters and Wetlands of Patagonia: Ecosystems and Socioecological Aspects*. Springer, pp 31-57

Balseiro, E., B. Modenutti, C. Queimaliños, M. Reising. 2007. *Daphnia* distribution in Andean Patagonian lakes: Effect of low food quality and fish predation. *Aquat Ecol* 41 (4):599-609. doi:10.1007/s10452-007-9113-3

Bastidas Navarro, M., N. Martyniuk, E. Balseiro, B. Modenutti. 2018. Effect of glacial lake outburst floods on the light climate in an Andean Patagonian lake: implications for planktonic phototrophs. *Hydrobiologia* 816 (1):39-48

Bell, T, J. Kalff. 2001. The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater systems of different trophic status and depth. *Limnol Oceanogr* 46 (5):1243-1248

Bonetto, A. 1971. Informe preliminar sobre las investigaciones limnológicas de la cuenca del Río Manso y Lago Mascaradi (Río Negro-Patagonia). vol 4. Fundación Bariloche, Departamento de Recursos Naturales y Energía,

Callieri, C., E. Amicucci, R. Bertoni, L. Vörös. 1996. Fluorometric characterization of two picocyanobacteria strains from lakes of different underwater light quality. *Int Rev Gesamt Hydrobiol* 81 (1):13-23

Callieri, C., C. Corno, E. Caravati, S. Galafassi, M. Bottinelli, R. Bertoni. 2007a. Photosynthetic characteristics and diversity of freshwater *Synechococcus* at two depths during different mixing conditions in a deep oligotrophic lake. *J Limnol* 66 (2)

Callieri, C., B. E. Modenutti, C. Queimaliños, R. Bertoni, E. G. Balseiro. 2007b. Production and biomass of picophytoplankton and larger autotrophs in Andean ultraoligotrophic lakes: Differences in light harvesting efficiency in deep layers. *Aquat Ecol* 41 (4):511-523

Callieri, C., J. Stockner. 2002. Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *J Limnol* 6 (1):1-14

Carlson, R.E. 1977. A Trophic State Index for Lakes. *Limnology and Oceanography*, 22, 361-369. <http://dx.doi.org/10.4319/lo.1977.22.2.0361>

Hauschild, C. A., H. J. McMurter, F.R. Pick. 2004. Effect of spectral quality on growth and pigmentation of picocyanobacteria 1. 27 (6):698-702. DOI:10.1111/j.0022-3646.1991.00698.x

Laspoumaderes, C. B. E. Modenutti, M. S. Souza, M. Bastidas Navarro, F. Cuassolo, E. G. Balseiro. 2013. Glacier melting and stoichiometric implications for lake community structure: zooplankton species distributions across a natural light gradient. *Global Change Biol* 19 (1):316-326. doi:10.1111/gcb.12040

Modenutti, B. 2014. Mixotrophy in Argentina freshwaters. *Adv Limnol* 65:359-374

Modenutti, B., E. Balseiro, M. Bastidas Navarro, C. Laspoumaderes, M. Souza, F. Cuassolo. 2013. Environmental changes affecting light climate in oligotrophic mountain lakes: the deep chlorophyll maxima as a sensitive variable. *Aquat Sci* 75 (3):361-371. doi:10.1007/s00027-012-0282-3

Modenutti, B, E. Balseiro, C. Callieri, C. Queimaliños, R. Bertoni. 2004. Increase in photosynthetic efficiency as a strategy of planktonic organisms exploiting deep lake layers. *Freshwat. Biol.* 49 (2):160-169

Modenutti, B. E. 1997. Distribución de los ciliados planctónicos *Ophrydium naumanni* y *Stentor araucanus* en lagos oligotróficos andinos. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 47:79-83

Modenutti, B. E., E. G. Balseiro. 2002. Mixotrophic ciliates in an Andean lake: Dependence on light and prey of an *Ophrydium naumanni* population. *Freshwat Biol* 47 (1):121-128

Modenutti, B. E., E. G. Balseiro, M. Bastidas Navarro, C. Laspoumaderes, M. S. Souza, F. Cuassolo. 2013b. Environmental changes affecting light climate in oligotrophic mountain lakes: The deep chlorophyll maxima as a sensitive variable. *Aquat Sci* 75 (3):361-371. doi:10.1007/s00027-012-0282-3

Modenutti, B. E., E. G. Balseiro, J. J. Elser, M. Bastidas Navarro, F. Cuassolo, C. Laspoumaderes, M. S. Souza, V. Diaz Villanueva. 2013c. Effect of volcanic eruption on nutrients, light, and phytoplankton in

- oligotrophic lakes. *Limnol Oceanogr* 58 (4):1165-1175. doi:10.4319/lo.2013.58.4.0000
- Modenutti, B. E., E. G. Balseiro, C. P. Queimaliños. 2000. Ciliate community structure in two South Andean lakes: the effect of lake water on *Ophrydium naumanni* distribution. *Aquat Microb Ecol* 21:299-307
- Modenutti, B. E., G. L. Pérez. 2001. Planktonic ciliates from an oligotrophic South Andean Lake, Morénito lake (Patagonia, Argentina). *Braz J Biol* 61 (3):389-395
- Modenutti, B. E., G. L. Perez, E. G. Balseiro,, C. P. Queimaliños. 2000. Relationship between light availability, chlorophyll a and total suspended solid in a glacial lake of South Andes. *Verh Int Verein Limnol* 27 (5):2648-2651
- Morris, D. P., H. Zagarese, C. E. Williamson, E. G. Balseiro, B.R. Hargreaves, B. E. Modenutti, R. Moeller, C. Queimaliños. 1995. The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnol Oceanogr* 40 (8):1381-1391
- Nusch, E. A.1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Archiv für Hydrobiologie–Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 14:14-36.
- Pérez, G., C. Queimaliños, E. Balseiro, B. Modenutti. 2007. Phytoplankton absorption spectra along the water column in deep North Patagonian Andean lakes (Argentina). *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters* 37 (1):3-16
- Pérez, G. L., C. P. Queimaliños, B. E. Modenutti. 2002a. Light climate and plankton in the deep chlorophyll maxima in North Patagonian Andean lakes *J Plankton Res* 24:591-599
- Pérez, G. L., C. P. Queimaliños, B. E. Modenutti. 2002b. Light climate and plankton in the deep chlorophyll maxima in North Patagonian Andean lakes. *J Plankton Res* 24 (6):591-599
- Porter, K. G., Y. S. Feig. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora *Limnol Oceanogr* 25:943-948
- Queimaliños, C., M. M. Diaz. 2014. Phytoplankton of Andean Patagonian lakes. . *Archiv Fur Hydrobiologie*,85. 235-256 DOI: 10.1127/1612-166X/2014/0065-0044
- Queimaliños, C. P. 2002. The role of phytoplanktonic size fractions in the microbial food webs in two north Patagonian lakes (Argentina). 28 (3):1236-1240. <https://doi.org/10.1080/03680770.2001.11902651>
- Queimaliños, C.P., B. E. Modenutti, E. G.Balseiro. 1999. Symbiotic association of the ciliate *Ophrydium naumanni* with *Chlorella* causing a deep chlorophyll a maximum in an oligotrophic South Andes lake. *J Plankton Res* 21 (1):167-178
- Queimaliños, C.P., G. Pérez, B. E. Modenutti. 2002. Summer population development and diurnal vertical distribution of dinoflagellates in an ultraoligotrophic Andean lake (Patagonia, Argentina). *Archiv fur Hydrobiologie Algological Studies* 107:117-129
- Schenone, L, E. Balseiro. B. Modenutti. 2022. Light dependence in the phototrophy-phagotrophy balance of constitutive and non-constitutive mixotrophic protists. *Oecologia* 200 (3-4):295-306. doi:10.1007/s00442-022-05226-4
- Stockner, J. G. 1991. Autotrophic Picoplankton in Freshwater Ecosystems: The View from the Summit. 76 (4):483-492. doi:<https://doi.org/10.1002/iroh.19910760402>
- Stomp, M., J. Huisman, L. Voros, F. R. Pick, M. Laamanen, T. Haverkamp, L. J. Stal. 2007. Colourful coexistence of red and green picocyanobacteria in lakes and seas. *Ecol Lett* 10 (4): 290-298
- Vörös, L., C. Callieri, K. V. Balogh, R. Bertoni. 1998. Freshwater picocyanobacteria along a trophic gradient and light quality range. *Hydrobiologia* 369-370:117-125
- Worni, R., M. Stoffel, C. Huggel, C. Volz, A. Casteller, B. Luckman. 2012. Analysis and dynamic modeling of a moraine failure and glacier lake outburst flood at Ventisquero Negro, Patagonian Andes (Argentina). *J Hydrol* 444-445:134-145. doi:10.1016/j.jhydrol.2012.04.013

CAPÍTULO 20

Muestreo del zooplancton en lagos profundos

Esteban Balseiro y Cecilia Laspoumaderes

El zooplancton es una comunidad de organismos heterótrofos que habitan en la columna de agua no asociados a sustratos y que son incapaces de nadar o contrarrestar las corrientes de agua. Sin embargo, en lagos profundos, algunos de sus integrantes pueden realizar grandes migraciones verticales diarias de 25 hasta 45 m de extensión (Reissig et al. 2004; Balseiro et al. 2007; Modenutti et al. 2018). Debido a este comportamiento que presentan algunas especies del zooplancton, es necesario que las muestras tomadas de día abarquen profundidades mayores que la zona eufótica para asegurar tener una muestra representativa de la comunidad. Muestras tomadas a menores profundidades tendrán sesgos en las capturas y las abundancias relativas (Alonso et al. 2004; Balseiro et al. 2007; Modenutti et al. 2018). El zooplancton en los lagos profundos andino-patagónicos está compuesto por protistas ("protozoos"), rotíferos, cladóceros y copépodos (Figura 1). Sin embargo, también es posible encontrar la hidromedusa de cnidarios *Craspedacusta sowerbii*, una especie originaria de China que ha invadido ambientes de todo el mundo.

Dado que los integrantes de esta comunidad tienen un amplio rango de tamaños (ciliados desde 10 µm hasta microcrustáceos de 3-5 mm), la toma de muestras de esta comunidad, dependerá de la fracción que se pretenda coleccionar. Las fracciones más pequeñas, denominadas comúnmente microzooplancton, están constituidas en los lagos andinos profundos por ciliados heterótrofos y mixótrofos. Estos últimos son ciliados que tienen algas en simbiosis dentro de su célula y, por lo tanto, se nutren de los productos generados por fotosíntesis de las algas y de las bacterias que ingieren, es decir son fotótrofos y heterótrofos en el mismo organismo. Estos ciliados pueden llegar a ser particularmente importantes en algunos sistemas como los lagos oligotróficos de los Andes

Patagónicos en donde pueden llegar a contener más del 50 % de la clorofila del plancton (Modenutti 1997; Queimaliños et al. 1999). En el caso de los ciliados, las muestras se toman con botellas limnológicas (como en el caso del fitoplancton), y su tratamiento posterior es muy similar al del fitoplancton, ya que se fijan con solución de Lugol y el recuento se realiza en microscopio invertido.

Dado que los lagos profundos tienen un gran desarrollo vertical de la columna de agua, es de suma importancia realizar muestreos (o la toma de muestras) cubriendo esta dimensión vertical. En el caso del microzooplancton, al igual que el fitoplancton, al utilizar botellas limnológicas, las muestras se toman a diferentes profundidades para poder analizar el perfil vertical. Es de suma importancia entonces conocer algunas variables físicas como los perfiles de temperatura y luz, para poder planificar la toma de las muestras. Se recomienda que al menos se tomen muestras de toda la zona eufótica.

En el caso del estudio de rotíferos, cladóceros y copépodos, las alternativas son variadas y dependerán del tipo de estudio. Se pueden realizar muestreos cualitativos con la finalidad de determinar la composición, y muestreos cuantitativos, con la finalidad de obtener información sobre abundancia. Las muestras se fijan clásicamente con solución del formaldehído al 4%, pero en casos específicos se utiliza una solución de azúcar-formol que disminuye la pérdida de los huevos de los cladóceros (Haney and Hall 1973). Para estudios genéticos, las muestras se pueden congelar a -80°C hasta el procesamiento de la misma (método recomendado), o fijarlas con alcohol etílico.

En el caso de muestras cualitativas y para la toma de muestras generales y destinadas a conocer composición se emplean redes de plancton

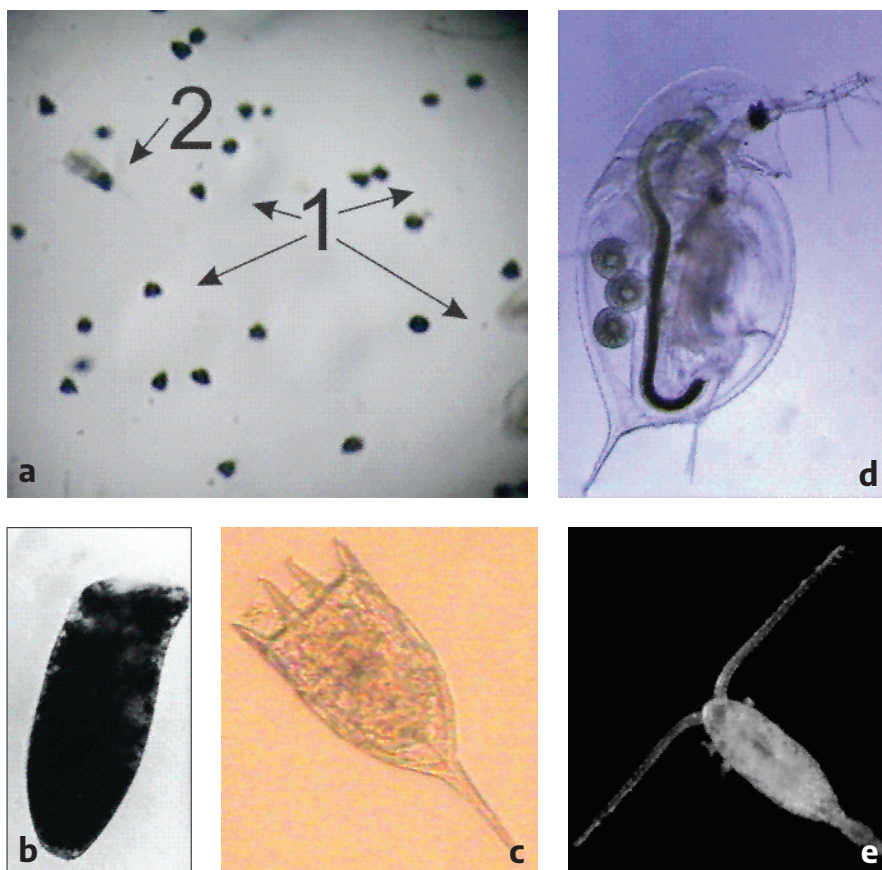


Fig. 1. Organismos presentes en el plancton de lagos profundos andinos-patagónicos. a, Campo bajo microscopio estereoscópico donde se observan ciliados mixotróficos *Stentor araucanus* (1) y un copépodo del género *Boeckella* (2), b: *Stentor araucanus*, c: rotífero *Keratella cochlearis*, d: el cladóceros *Daphnia commutata*, e: el copépodo calanoideo *Boeckella gracilipes*. Nota: las fotografías no poseen la misma escala.

(Figura 2) que se sumergen a profundidades conocidas y se desplazan en el sentido vertical. Las mallas se califican por el tamaño del poro que pueden ser desde 35 μm de apertura de poro (redes muy finas, no se usan para barridos en campo) hasta 250 μm (redes gruesas). En lagos oligotróficos es común utilizar redes de 50 a 200 μm de apertura de poro. En este caso se pueden obtener muestras integradas de toda la columna de agua bajo estudio. Dado que la finalidad es netamente cualitativa, no es importante considerar el volumen filtrado ni la eficiencia de la red utilizada. Sin embargo, para organismos altamente evasivos como los copépodos, una toma de muestra de barrido vertical sin considerar algunos factores podría implicar la evasión de la red y la consecuente ausencia de estos organismos en las muestras (Buskey et al. 2011).

Para colectas cuantitativas, es necesario considerar varios factores al momento de tomar las muestras con barridos de redes. Dado que la muestra se concentra a medida que la red se arrastra, la eficiencia de la red es un factor muy importante a tener en cuenta. La eficiencia se define como la cantidad de agua que pasa efectivamente por la red en relación al volumen nominal del barrido (el cilindro definido por la boca de la red y la longitud del barrido). Esta eficiencia depende de la forma de la red y el tamaño de

poro de la malla de la red. El tamaño de poro o porosidad es la proporción del área abierta de la red. También hay que considerar relación entre la superficie de la boca de la red y la superficie de la red (la superficie del cono). Cuanto mayor sea la porosidad mayor será la eficiencia, y cuanto mayor sea la superficie de la red en relación a la boca de la red, mayor será la eficiencia (Gorbatenko and Dolganova 2007; Keen 2014). Sin embargo, dependiendo del objetivo del muestreo, no se pueden seleccionar cualquier tamaño de poro, ya que a mayor tamaño obtengo mayor eficiencia, pero se discrimina el muestreo de especies (o especímenes) pequeños y entonces tendremos un sesgo en la distribución de tamaños de la muestra. Por ejemplo, si seleccionamos una red de mayor abertura de poro, será más eficiente para capturar copépodos adultos, pero podremos tener una subestimación muy importante en el estado de Nauplii y, por lo tanto, si es nuestro de interés la estructura poblacional, tendremos que cambiar de red. Por otra parte, construir redes de muy alta relación superficie de red/boca pueden resultar muy largas (conos de ángulos muy bajos). La forma de la red también es de particular importancia. Las redes pueden ser cónicas, cilíndricas-cónicas o cónicas-cónicas (Figura 2). Las redes cónicas son las menos eficientes, dado que, para un determinado largo de la red, tienen la

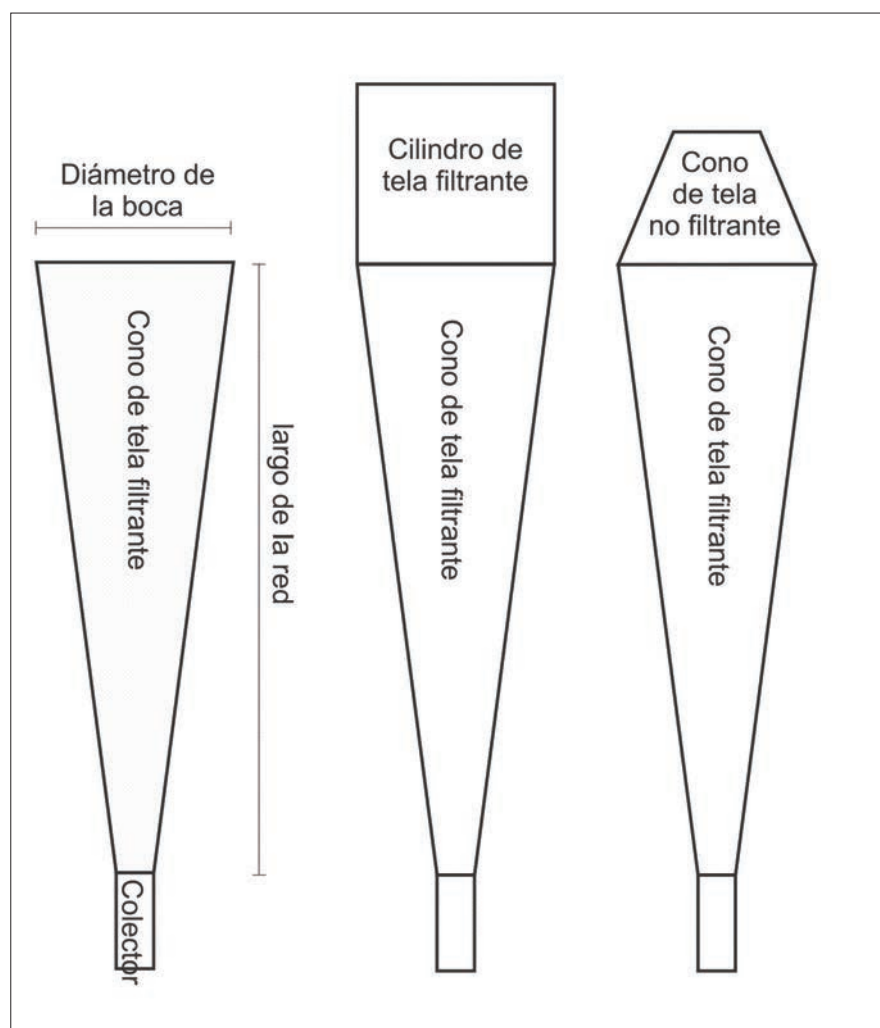


Fig. 2. Modelos de redes de plancton comúnmente utilizadas en lagos profundos

menor relación superficie de red/boca. Las redes cilíndrico-cónicas, con el cilindro filtrante, son muy eficientes y recomendables para muestreos cuantitativos. Finalmente, las redes cónica-cónicas son también muy eficientes dado que la boca es de menor diámetro que el sector siguiente y genera un efecto de succión que mejora la captura de especies altamente evasivas como copépodos. En este caso el primer cono no es filtrante. Una forma de estimar con mayor precisión el volumen efectivamente filtrado es colocar un flujómetro en la boca de la red, que mide el flujo de agua en la boca y por lo tanto se puede estimar con buena precisión el volumen filtrado.

En el caso de requerir muestreos por niveles de profundidad, se pueden utilizar redes de cierre (Figura 3). En este caso, la red se baja abierta hasta la profundidad deseada (la red no colecta mientras se la descende), se comienza a realizar el barrido cubriendo el espesor de columna de agua deseado (por ejemplo, se baja a 50 m, se asciende filtrando hasta los 40 m) en ese momento se envía por el cabo de la red un mensajero, que al llegar a

la red acciona un mecanismo de cierre de la misma (Figura 3a) y luego se continúa con la recuperación de la red, pero la misma ya no filtra debido a que se cerró la boca (Figura 3b). De esta forma se obtuvo un barrido entre dos profundidades conocidas. Repitiendo el procedimiento entre diferentes profundidades se pueden obtener perfiles cuantitativos del zooplancton.

Una alternativa muy recomendable para realizar muestreos estratificados en lagos profundos es la toma de muestras con las llamadas “cajas de Schindler” o “cajas de Schindler-Patalas” (Figura 4). Las mismas tienen un principio similar a las botellas limnológicas, pero sus volúmenes varían desde 12 a 45 L. Con las mismas se toman muestras a una profundidad determinada y luego la muestra se filtra por una red de tamaño de poro conocido. Este método es muy aconsejable y aunque es laborioso, tiene varias ventajas. Por un lado, se conoce con precisión el volumen de agua colectado y filtrado y se pueden realizar muestreos estratificados con detalle de la profundidad de toma de la muestra. Por otro lado, debido a que

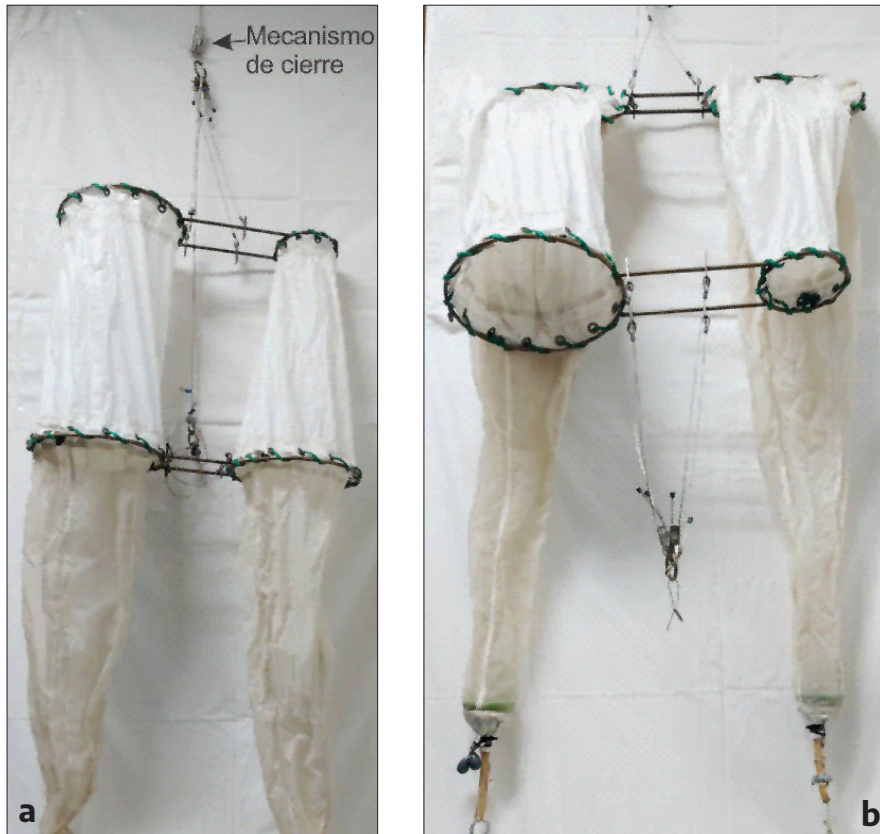


Fig. 3. Fotografía de red de plancton de doble cierre, red de la derecha es cónica-cónica con malla de 48 μm y red de la izquierda es cilíndrica-cónica con malla de 212 μm . a: Red abierta para filtrar mientras se asciende. b: red cerrada, no colecta mientras se asciende. El cierre se realiza enviando un dispositivo por el cabo de la red que acciona un mecanismo por el que se cierra boca de la red.



Fig. 4. Fotografía de una caja de Schindler de 12 L de capacidad. Nótese la red de plancton en la parte inferior derecha de la caja. Este modelo presenta una "compuerta" en la boca de la red para poder realizar muestras compuestas. La compuerta se abre manualmente cuando la caja se ha recogido de manera que se filtra por la red el volumen colectado, se vuelve a cerrar para poder realizar muestras compuestas sin perder lo colectado en la red.

las cajas son transparentes y se operan sin generar turbulencias los organismos son atrapados sin posibilidades de evasión.

Como el método es muy laborioso y cuando las cajas son de mayor volumen >15 L se requiere de un malacate para su manipulación. La mayoría de ellas lleva adosado en un lateral una red de plancton con un dispositivo que permite filtrar el contenido una vez que la caja fue retirada del agua, de esa forma todo el volumen de la caja pasa por la red y el material es concentrado. Existen modelos que permiten realizar muestras acumuladas, es decir coleccionar, filtrar y volver a coleccionar y filtrar acumulando las muestras en el colector de la red. Esto permite la obtención de muestras de gran volumen en cajas maniobrables a mano, por ejemplo, con una caja de 12 L se pueden tomar muestras de 60 L acumulando 5 tomas de muestras de la misma profundidad. Otra ventaja de las cajas es que se pueden utilizar redes de poros pequeños, ya que no se altera la eficiencia del filtrado (ver sección de barridos verticales). Una vez realizado el filtrado, se recupera el contenido del colector de la red, se fija y traslada al laboratorio para su análisis.

Bibliografía

Alonso, C., V. Rocco, J. P. Barriga, M. A. Battini, H. Zagarese. 2004. Surface avoidance by freshwater zooplankton: Field evidence on the role of ultraviolet radiation. *Limnol Oceanogr* 49 (1):225-232

Balseiro, E., B. Modenutti, C. Queimaliños, M. Reissig. 2007. *Daphnia* distribution in Andean Patagonian lakes: Effect of low food quality and fish predation. *Aquat Ecol* 41 (4):599-609. doi:10.1007/s10452-007-9113-3

Buskey, E.J., P. H. Lenz, D. K. Hartline. 2011. Sensory perception, neurobiology, and behavioral adaptations for predator avoidance in planktonic copepods. *Adapt Behav* 20 (1):57-66. doi:10.1177/1059712311426801

Gorbatenko, K. M., N. T. Dolganova. 2007. Comparing the catch efficiency with different types of plankton nets in the high production zones of the Pacific Ocean. *Oceanology* 47 (2):205-212. doi:10.1134/s0001437007020075

Haney, J. F., D. J. Hall. 1973. Sugar-coated *Daphnia*: A preservation technique for Cladocera. *Limnol Oceanogr* 18 (2):331-333

Keen, E. 2014. Designing Plankton Nets. https://rybangarang.files.wordpress.com/2014/01/net-design_background1.pdf

Modenutti, B., L. Wolinski, M. S. Souza, E. G. Balseiro. 2018. When eating a prey is risky: Implications for predator diel vertical migration. *Limnol Oceanogr* 63 (2):939-950. doi:10.1002/lno.10681

Modenutti, B. E. 1997. Distribución de los ciliados planctónicos *Ophrydium naumanni* y *Stentor araucanus* en lagos oligotróficos andinos. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 47:79-83

Queimaliños, C. P., B. E. Modenutti, E. G. Balseiro. 1999. Symbiotic association of the ciliate *Ophrydium naumanni* with *Chlorella* causing a deep chlorophyll a maximum in an oligotrophic South Andes lake. *J Plankton Res* 21 (1):167-178

Reissig, M., B. Modenutti, E. Balseiro, C. Queimaliños. 2004. The role of the predaceous copepod *Parabroteas sarsi* in the pelagic food web of a large deep Andean lake. *Hydrobiologia* 524 (1):67-77. doi:10.1023/B:HYDR.0000036120.33105.05

CAPÍTULO 21

La vegetación de ribera y litoral en lagos profundos andino-patagónicos

Florencia Cuassolo

Introducción

Los lagos profundos presentes en la región Andino-Patagónica son principalmente de origen glaciario y se encuentran rodeados de vegetación, la cual varía según la fitoregión dominante y según la topografía y fisionomía del lugar. Podemos encontrar una gran heterogeneidad ambiental en las costas, que van desde playas con arena o piedra a costas rocosas, con pronunciada pendiente o incluso acantilados (Figura 1). En muchos casos el bosque llega hasta la orilla del lago aportando hojarasca (Cuassolo et al. 2021); en otros casos, donde los márgenes tienen poco oleaje o se forman bahías, se desarrolla una zona litoral donde crecen macrófitas, y se genera un ecosistema rico en biodiversidad y relaciones tróficas (Neiff 1973; Trochine et al. 2021) (Figura 1).

Las provincias fitogeográficas más representativas de esta región son la Subantártica, la Altoandina y la Patagónica (Cabrera 1976). Los tipos de vegetación pueden ser muy variados incluyendo al bosque húmedo hacia el Oeste, al bosque de transición y a la estepa arbustiva y graminosa hacia el Este. Este cambio extremo en la vegetación se debe a que en esta región los vientos dominantes del Oeste determinan un marcado gradiente de precipitaciones desde los Andes hacia la estepa patagónica. En particular, hacia el Oeste se encuentra el bosque andino-patagónico, el cual se extiende desde el Norte de Neuquén hasta Tierra del Fuego, representando todo un mosaico de comunidades vegetales, debido a la orografía montañosa y la brusca disminución de las precipitaciones de Oeste a Este. Esta variación puede oscilar, por ejemplo, entre 3000-4000 mm por año en la zona de Puerto Blest, Laguna Frias, Lago Menéndez hasta 300-500 mm anuales hacia la zona del Aeropuerto de Bariloche. La Cordillera de los Andes va disminuyendo su altura de Norte a Sur, lo que genera variaciones

en la distribución del bosque que alcanza, en forma de matorrales de lenga achaparrados, altitudes mayores a los 1600 m.s.n.m en la zona del Parque Nacional Nahuel Huapi y el Parque Nacional Lanín (Daniels and Veblen 2004) y decrece hacia el Sur llegando a los 600 m.s.n.m y hasta el nivel del mar en Tierra del Fuego (Hildebrand-Vogel et al. 1990)

La vegetación que rodea a los lagos variara según la fisionomía, la geografía, las precipitaciones, pero también por el grado de antropización de las costas. Los lagos profundos del Parque Nacional Nahuel Huapi, por ejemplo, se rodean del Bosque Subantártico al Oeste, pasando por bosque de transición y hacia el Este por comunidades vegetales propias de la estepa arbustiva. Básicamente podemos clasificar las comunidades vegetales circundantes a los lagos según 3 tipos, de bosque, de transición (o ecotono) y de estepa.

Entre las especies nativas dominantes de los bosques marginales de los lagos profundos encontramos a las del género *Nothofagus*, *N. dombevi* (coihue), *N. pumilio* (lenga), *N. antártica* (ñire) y *N. obliqua* (raulí). Pueden formar bosques puros monoespecíficos o mixtos donde coexisten con la conífera nativa *Austrocedrus chilensis* (ciprés), *Maytenus boaria* (maitén), *Lomatia hirsuta* (radal) y *L. ferruginea* (fuinque), las mirtáceas *Luma apiculata* (arrayan) y *Myrceugenia exsucca* (patagua), junto con algunas especies de arbustos como *Aristotelia chilensis* (maqui), *Berberis* sp (michay o calafate), *Diostea juncea* (retamo), algunas especies de *Baccaris* sp., *Ribes magellanicum* (zarzamora), *Raukua laetevirens* (ex *Pseudopanax*), y *Escalonia virgata* (siete camisas). En la estepa que rodea a sectores orientales de los lagos andinopatagónicos dominan el coirón (*Stipa speciosa*), el neneo (*Millinum spinosum*), el palo piche (*Fabiana imbricata*) y la laura (*Schinus patagonicus*), entre otras especies.



Fig. 1. Diferentes tipos de costas que presentan los lagos profundos andino-patagónicos. a: Playa de arena y piedra, b: desarrollo de macrófitas en la zona litoral, c: orillas rocosas abruptas con bosque de *Nothofagus*, d: retención de hojarasca del bosque de *Nothofagus* en la orilla del lago.

Las especies exóticas arbóreas y arbustivas más comunes son: *Acer pseudo-platanus* (arce), *Betula pendula* (abedul), *Alnus glutinosa* (aliso), *Sorbus* sp., *Pinus* sp., *Populus nigra* (alamo), *Salix fragilis* (sauce), y frutales como la manzana, el cerezo y el guindo. Arbustos exóticos comunes en las costas de lagos son *Cytisus scoparius* (retama), *Rosa rubiginosa* (rosa mosqueta), *Juniperus communis*, *Cotoneaster franchetti* y *Lupinus arboreus*, entre otros (Ezcurra and Brion 2005). La mayoría de estas especies además son invasoras con una extensa distribución y un gran impacto sobre los ecosistemas (Speziale and Ezcurra 2011; Cuassolo and Díaz Villanueva 2019; Martyniuk et al. 2022). Por último, el

porcentaje de especies exóticas varía según el grado de antropización de la costa (Martyniuk et al. 2022).

Por otro lado, la costa de un lago profundo presenta en general tres zonas bien definidas (Figura 2), 1-**la ribera**: comprende la zona aledaña a la orilla y con vegetación ya mencionada de bosque, ecotono o estepa, 2- **la costa u orilla**: comprende la zona entre el valor máximo y mínimo histórico en el nivel del lago (McAllister et al. 2022). En esta zona son comunes las especies de *Juncus* sp y otras Cyperaceas como *Carex* sp. y *Eleocharis* sp. También es común encontrar *Hydrocotyle chamaemorus* sp. *Anagallis alternifolia*,

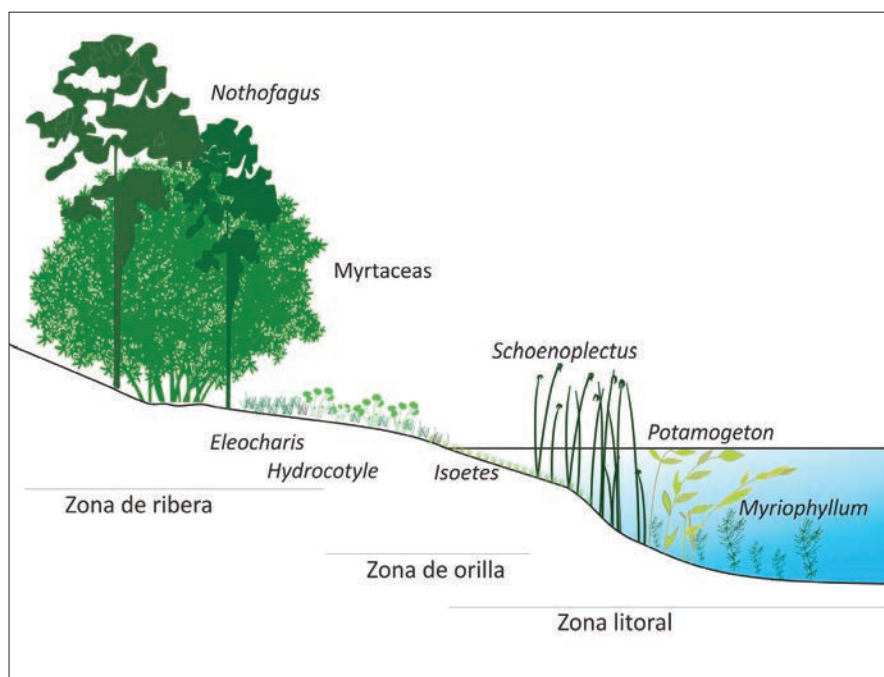


Fig. 2. Esquema general de la costa de un lago con bosque nativo circundante donde se observa la zona de ribera: donde se encuentran principalmente plantas terrestres; la zona de orilla: donde se encuentran principalmente macrófitas emergentes y comprende el área entre el máximo y el mínimo nivel del lago y la zona litoral: dominado principalmente por macrófitas flotantes y sumergidas.

Equisetum bogotense y las exóticas *Ranunculus repens* y *Veronica anagallis-aquatica*, *Taraxacum officinalis*, *Rorippa nasturtium-aquaticum*, entre otras. Sin embargo, las orillas libres de vegetación suelen ser también un escenario común de los lagos Andino-patagónicos. 3- **la zona litoral**: comprende la zona desde la orilla hasta la profundidad donde se arraigan macrófitas (ver Figura 2). Esta última zona en los lagos profundos suele ser pequeña debido a la abrupta geomorfología de los lagos andinopatagónicos que genera zonas poco propicias para el desarrollo de macrófitas. Por lo tanto, la distribución de la vegetación en la zona litoral estará determinada por la pendiente de la costa, el tipo de sedimento, la exposición a los vientos y la cercanía a la desembocadura de los cursos tributarios (Neiff 1973). En esta zona se suelen desarrollar juncuales de la especie *Schoenoplectus californicus* (Cyperaceae). Además, podemos encontrar especies de macrófitas, como la flotante arraigada *Potamogeton linguatus* (Potamogetonaceae), o las sumergidas *Myriophyllum quitense* (Haloragaceae) y *Ranunculus trichophyllus* (Ranunculaceae) (Modenutti et al. 2010). En el fondo de los lagos aproximadamente a 8 m de profundidad es muy común encontrar especies del género *Isoetes* (Pteridofita), que suelen tapizar el fondo del lago generando un pastizal sumergido y la Charoficea *Nitella* sp (Modenutti et al. 1998). Considerando que los lagos profundos andinopatagónicos poseen una zona eufótica extensa (hasta los 30-40 m de profundidad) a los 8-10 m llega suficiente luz para permitir la fotosíntesis por parte de estas macrófitas.

Disturbios e impactos

Los cambios en el uso del suelo (agricultura, urbanización, forestación, turismo, etc.), el cambio climático y la eutrofización son los principales factores que afectan las costas y su vegetación (Soeprbowati et al. 2021). La vegetación riparia y las macrófitas juegan un rol muy importante en la conservación de las costas, ya que retardan y reducen la escorrentía superficial y atrapan o transforman nutrientes y contaminantes provenientes de zonas agrícolas o urbanizadas aledañas. Está demostrado que los cambios en el uso del suelo han generado múltiples impactos sobre la regulación hidrológica y la erosión, la degradación del suelo, la biodiversidad, el microclima y la disponibilidad y calidad del agua para uso humano (Rawat and Kumar 2015; Guo et al. 2018; Olson 2019; Oyedotun 2019). Algunos usos de la tierra afectan directamente y de manera negativa a las costas y su vegetación (Brown et al. 2018) como por ejemplo los emprendimientos turísticos y la urbanización debido al crecimiento de la población. Un ejemplo de esto es el aumento del porcentaje de especies exóticas. En particular, un relevamiento de vegetación, mostró que el 47% de la riqueza total de especies vegetales presentes en las costas del lago Nahuel Huapi fueron de origen exótico (Martyniuk et al. 2022) Entre las especies más frecuentes, se encontraron a las exóticas *Rosa rubiginosa* (rosa mosqueta), *Cytisus scoparius* (retama), *Salix fragilis* (sauce) y *Pinus* sp. (pino), llegando a alcanzar coberturas mayores al 60 % en algunas costas.

La introducción de especies exóticas se debe al desmonte y tala del bosque nativo reemplazados

por parquización y posterior introducción de especies foráneas (ajenas a la fitoregión), algunas de ellas altamente invasoras. De esta manera, los porcentajes de especies exóticas pueden ser un buen indicador del grado de antropización, junto a otras variables, como la clorofila, la eutrofización y los sólidos totales en suspensión.

Muestreo de vegetación de costa

El tipo de muestreo dependerá de las características del ambiente y de la vegetación desarrollada

Determinación de comunidad: primero se determinará el tipo de vegetación dominante (bosque, ecotono o estepa), las características de la costa (tipo de sustrato, tamaño del sustrato, playa, costa rocosa, sin costa, bahía, con pendiente, sin pendiente, etc.), grado de antropización (presencia de muelles, construcciones, parquizaciones, caminos, emprendimientos turísticos, uso del suelo.

Determinación de área: En cada sitio seleccionado se determina una línea de costa de 100 m en donde se establecen tres/cinco transectas de 50-100 m (dependiendo del tipo de costa) perpendiculares a la línea de costa.

Procedimiento

1. En cada transecta se registra la presencia/ausencia y el % de cobertura de: **a)** plantas sumergidas: presentes en zona que aun en el período de bajo caudal se mantiene bajo agua (macrófitas sumergidas); **b)** plantas de litoral: presentes en la zona comprendida entre la máxima bajante y la máxima crecida anual normal (emergentes o palustres); **c)** plantas de ribera: presentes en la zona de bosque que rodea al lago. Para la medición de cobertura se utiliza un cuadrado de 50x50 cm y se identifica que especies hay dentro del mismo y se calcula el % de cobertura dentro del cuadrado.

2. Se realiza una lista de las especies más abundantes, arbóreas y herbáceas, halladas en las transectas. Para este punto se debe realizar un herbario que permita determinar a las especies presentes.

3. Se registra la existencia de estructuras artificiales: muelles, rampas, espigones, muros de contención, caminos y casas.

4. Se estima el ancho de la zona de orilla y su pendiente y se registra el tamaño de sustrato dominante.

Para la determinación de las especies y el origen biogeográfico (nativa o exótica) se utilizan los

ejemplares herborizados, se observan las estructuras botánicas características de valor diagnóstico de cada especie y se compara utilizando la bibliografía botánica disponible de cada región. Algunos ejemplos para Patagonia son: (Correa 1971; Dimitri 1977; Zuloaga and Morrone 1999; Ezcurra and Brion 2005). Además, se sugiere que todas las especies sean confirmadas con alguna base de datos actualizada como el Catálogo de la Flora del Cono Sur o la Flora Argentina del Instituto de Botánica Darwinion.

Bibliografía

- Brown, G., S. Sanders, P. Reed. 2018. Using public participatory mapping to inform general land use planning and zoning. *Landscape Urban Plann* 177:64-74
- Correa, M.N. 1971. Flora patagónica, parte I-VIII. Colección Científica del INTA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, vol I-VIII.
- Cuassolo, F, V. Díaz Villanueva. 2019. Exóticas en humedales: Análisis de las comunidades vegetales de mallines naturales y urbanos en la ciudad de Bariloche. *Ecol Austral* 29 (3):405-415. doi:10.25260/ea.19.29.3.0.853
- Cuassolo, F, V. Díaz Villanueva, B. Modenutti. 2021. Low-decomposition rates of riparian litter in a North Patagonian ultraoligotrophic lake. *Limnologia* 90. doi:10.1016/j.limno.2021.125906
- Daniels, L.D., T.T Veblen. 2004. Spatiotemporal influences of climate on altitudinal treeline in northern patagonia. *Ecology* 85:1284-1296
- Dimitri, M. J. 1977. Pequeña flora ilustrada de los parques nacionales andino-patagónicos, vol Tomo XIII.
- Ezcurra, C., C. Brion. 2005. Plantas del Nahuel Huapi: Catálogo de la Flora Vascular del Parque Nacional Nahuel Huapi, Argentina.
- Guo, F., J. Lenoir, T. Bonebrake. 2018. Land-use change interacts with climate to determine elevational species redistribution. *Nat Commun* 9 (1):1315-1320
- Hildebrand-Vogel, R, R Godoy, A. Vogel. 1990. Subantarctic-Andean *Nothofagus pumilio* forests. Distribution area and systematic overview, vegetation and soils as demonstrated by an example of a South Chilean stand. *Vegetatio* 89:55-68
- Martyniuk, N., F. Cuassolo, M. Bastidas Navarro, V. Díaz Villanueva, E. Balseiro, B. Modenutti. 2022. Evaluación ambiental de las riberas del lago Nahuel Huapi y propuesta de un índice de calidad de costas *Ecol Austral* 32:8 7 8 - 8 9 3
- McAllister, E., A. Payo, A. Novellino, T. Dolphin, E. Medina-Lopez. 2022. Multispectral satellite imagery and machine learning for the extraction of shoreline indicators. *Coastal Engineering*:104102-104102
- Modenutti, B., R. Albariño, M. B. Navarro, V. D. Villanueva, M. Sol Souza, C. Trochine C. Laspoumaderes, F. Cuassolo, G. Mariluán, L. Buria, E. Balseiro. 2010. Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: Organic matter, light and nutrient relationships. *Ecol Austral* 20 (2):95-114
- Modenutti, B. E., E. G. Balseiro, C. P. Queimaliños, D. A. A. Suárez, M. C. Diéguez, R. J. Albariño. 1998. Structure and dynamics of food webs in Andean lakes. *Lakes and Reservoirs: Research and Management* 3 (3-4):179-186. doi:10.1046/j.1440-1770.1998.00071.x
- Neiff, J. 1973. Contribución al Conocimiento de la Distribución y Biomasa de Hidrofitos en el Lago Mascaridi (Río Negro, Argentina). *Nat Neotrop* 4:129-160
- Olson, J. R. 2019. Predicting combined effects of land use and climate change on river and stream salinity. *Philos Trans R Soc B* 374 (1764). doi:10.1098/RSTB.2018.0005
- Oyedotun, T. 2019. Land use change and classification in Chaohu Lake catchment from multi-temporal remotely sensed images. *Geology, Ecology, and Landscapes* 3 (1):37-45
- Rawat, J. S., M. Kumar. 2015. Monitoring land use/cover change using remote sensing and GIS techniques: A case study of Hawalbagh block, district Almora, Uttarakhand, India. *The Egyptian Journal of Remote Sensing and Space Science* 18 (1):77-84. doi:10.1016/J.EJRS.2015.02.002
- Soeprbowati, T. R., J. Jumari, T. R. Saraswati, H. C. Suhry, P. Gell. 2021. Land-use changes concerning the riparian vegetation in Galela Lake, North Maluku, Indonesia. *Ecol Eng* 170:106368-106368. doi:10.1016/J.ECOLENG.2021.106368
- Speziale, K, C. Ezcurra. 2011. Patterns of alien plant invasions in northwestern Patagonia, Argentina. *J Arid Environ* 75 (10):890-897
- Trochine, C., V. Diaz Villanueva, M. T. Brett. 2021. The ultimate peanut butter on crackers for Hyalella: diatoms on macrophytes rather than bacteria and fungi on conditioned terrestrial leaf litter. *Freshwat Biol* 66 (4):599-614
- Zuloaga, F., O. Morrone. 1999. Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina II.

CAPÍTULO 22

Índice de calidad de ribera en lagos profundos

Nicolás Martyniuk

La ribera se caracteriza por ser una zona dinámica de interacción entre la tierra y el lago, que provee numerosos servicios ecosistémicos, entre los que se encuentran la recreación, el valor escénico y la provisión de agua.

Para mantener su funcionalidad es clave que se preserve su estructura y configuración física, así como la integridad ecológica. La destrucción y fragmentación de los sistemas costeros, y de los procesos relacionados con su formación y mantenimiento, han conducido a la pérdida de hábitats costeros. El incremento del raleo y la tala de vegetación nativa conlleva a un aumento del número de especies invasoras, y una simplificación paisajística y de la biodiversidad en pos de la generación de servicios habitacionales y recreativos que afectan los servicios ecosistémicos que la ribera brinda naturalmente.

Toda construcción u obra en la ribera interviene la dinámica natural de los procesos costeros pudiendo tener consecuencias, a corto o incluso a largo plazo, en la funcionalidad y/o en los servicios ecosistémicos por la interacción tierra-lago, comprometiendo la capacidad de resiliencia de estos sistemas frente a eventos climáticos. Así, la urbanización, la construcción de infraestructuras, la deforestación y la contaminación, entre otras actividades humanas, pueden reducir la capacidad de las zonas ribereñas para amortiguar los efectos de eventos climáticos extremos, como inundaciones, sequías y deslizamientos de tierra. Además, estas modificaciones pueden reducir la capacidad de los ecosistemas de riberas para proporcionar hábitats saludables para la flora y fauna que dependen de ellos. Además, la eliminación de la vegetación ribereña puede aumentar la erosión del suelo, lo que a su vez puede contribuir a la sedimentación del lago.

Esta sección tiene como objetivo definir criterios generales para valorar la significancia de los impactos ambientales, sobre la configuración y estructura de la ribera, de la construcción de viviendas o edificaciones.

La calidad ambiental de las riberas requiere de un marco metodológico de evaluación que permita obtener resultados fiables y reproducibles en el tiempo. Para lo cual la utilización de un índice permite expresar la calidad de un recurso, en este caso un ambiente de ribera, mediante la integración de las mediciones de determinados parámetros de calidad del agua y ambiental-ecológico y su uso permite una rápida interpretación y reconocimiento de las tendencias en la calidad ambiental de la ribera a lo largo del espacio y el tiempo. Para realizar la evaluación de los lagos profundos andino-patagónicos deben tenerse en cuenta las peculiaridades que existen relacionadas fundamentalmente con la modificación de la vegetación, actividades turístico-recreativas, y emplazamiento de ciudades.

Para realizar la valoración ambiental de las riberas se han desarrollado numerosos índices de calidad de ribera sobre todo en sistemas fluviales (Raven et al. 1998, Barbour et al. 1999). Si bien estos índices fueron originalmente desarrollados para ríos del hemisferio norte (Barbour et al. 1999, Karr 1999, Kaufmann et al. 1999, Maddock 1999, Winward 2000, Munné et al. 2003, del Tanago & de Jalón 2004, Raab & Bayley 2012) muy rápidamente fueron aplicados en ríos de la Patagonia (Kutschker et al. 2009, Miserendino & Masi 2010), pampeanos (Troitiño et al. 2010) y en el sistema estuarino del Plata (Gómez & Cocheró 2013). Sin embargo, en lagos la aplicación de índices de calidad de ribera es mucho más restringida y enfocada principalmente a pequeños cuerpos de agua (Furgata-Selezniow et al. 2021).

El índice de calidad de riberas que se propone, publicado recientemente (Martyniuk et al. 2022), se basa en trabajos previos como Munné et al. (2003), Furgała-Selezniow et al. (2021), Correa (2009), Romanelli and Massone (2016) y Wehrly et al. (2012). En particular, este índice puede definirse como una herramienta que permite reducir información sobre un número de parámetros ambientales-ecológicos de ribera de una forma simple, rápida, objetiva y reproducible. Los componentes seleccionados para la construcción del índice se refieren a las peculiaridades de las riberas de los lagos profundos andino-patagónicos. La ventaja de este tipo de índice de calidad se basa en que el análisis de los parámetros involucrados suele ser económico, más rápido (sin procedimientos de laboratorio) y puede ser monitoreado con mayor frecuencia, en comparación con los métodos fisicoquímicos y biológicos, basados en la observación y medición de nutrientes y ciertas variables de las comunidades de los seres vivos.

Índice de calidad de riberas

Este índice establece 5 componentes (Tabla 1). Varios de los ítems que conforman este índice pueden ser previamente analizados utilizando fotos satelitales, aunque hay otros como “Vegetación costera” que deben ser relevados en cada sitio. Se recomienda utilizar Google Earth® ya que tiene una muy buena resolución, además de ser libre y contar con un historial fotográfico en caso de ser necesario. Asimismo, se aconseja

utilizar imágenes tomadas durante el verano, para poder reconocer las zonas recreativas estivales. Se recomienda utilizar secciones de línea de costa de entre 50-200 metros (dependiendo el tamaño del lago y el área de interés) por 100 metros o hasta el cambio de pendiente (Figura 1). Muchas veces el área de influencia costera (aquí establecido en 100 m) puede o no corresponderse con la distancia dada por un cambio de pendiente (Figura 1). En el caso que la distancia orográfica sea menor a la distancia convenida, se debe utilizar la distancia orográfica ya que es la que realmente delimita la verdadera área de influencia costera.

El primer componente: “Construcciones en la línea de ribera” (CC), está relacionado con la construcción y utilización de la línea de ribera, principalmente por la actividad náutica. Cabe destacar en esta sección, que, para poder evaluar correctamente la actividad náutica y su efecto, se deben considerar los diferentes tipos de marinas. Además de los clubs náuticos convencionales (con escollera, muelles de espigón, etc.), existen aquellos que poseen un pequeño amarradero o muelle y los botes/lanchas se encuentran amarradas a boyas (ver Figura 2). Esta metodología, sumada a una bajada consolidada (cemento) de lanchas, hace que en período estival el uso de la ribera sea más intenso incluso que en un club náutico.

El segundo componente, denominado “Construcción en terrenos costeros” (CT), es el grupo que más peso tiene en el índice, considera a las construcciones hasta 100 m de la ribera. Hace hincapié

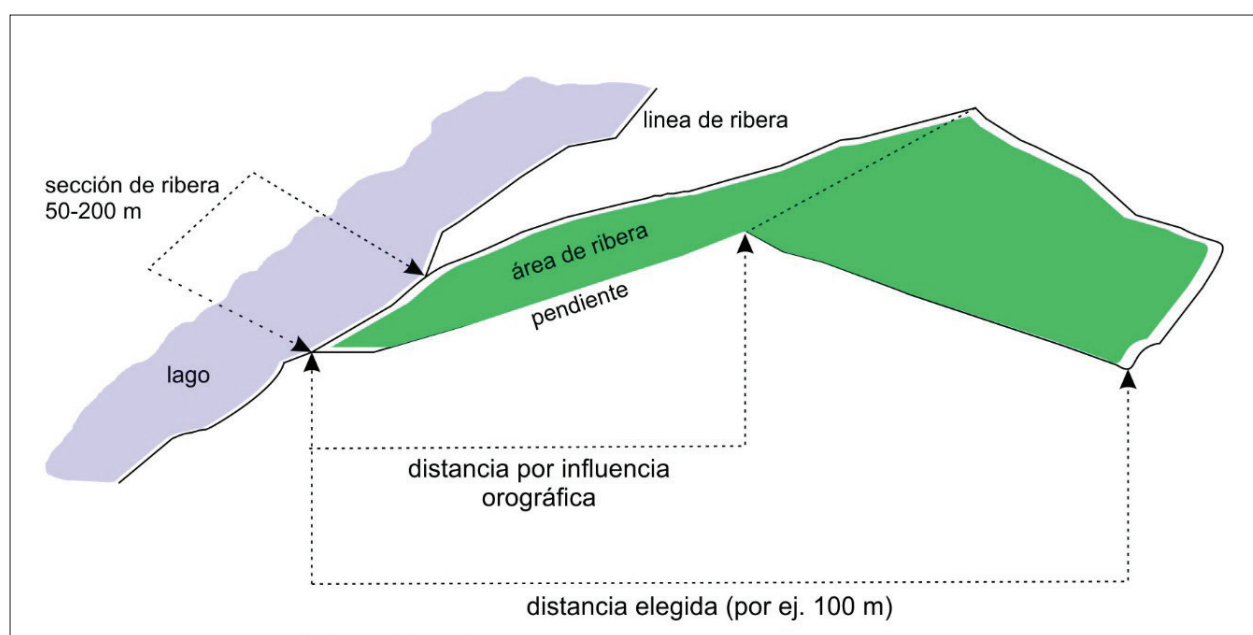


Fig. 1. Delimitación de una hipotética área de estudio.

Componente	Descriptor	Puntaje
Construccion en linea de ribera (cc)	• Natural, sin construcciones	0
	• Presencia de caños en riberas (toma de agua) ¹	1
	• Amarraderos, bajadas de lanchas de tierra	2
	• Bajada (rampas) de cemento para lanchas con o sin amarraderos	3
	• Muelle o espigón con modificación de ribera (tipo rompeolas)	4
	• Marina ²	5
	• Puerto Turístico (amarre de embarcaciones para más de 50 personas)	10
Construcciones en terrenos costeros (CT)	• Natural, sin construcciones	0
	• Rutas, caminos con terraplenes, 1-4 casas unifamiliar por hectárea	2
	• Emprendimiento turístico, centro turístico-recreacional con tratamiento cloacal / De 5 a 10 casas unifamiliar por hectárea s/tratamiento cloacal / Casa unifamiliar debajo de la línea de ribera	3
	• Emprendimiento turístico, centro turístico-recreacional sin tratamiento cloacal	5
	• Conglomerado urbano (+10 casas por ha), presencia de edificios, sin tratamiento cloacal	8
	• Ciudad (> 10000 habitantes)	10
Recreativo (R)	• Natural, sin alteraciones	0
	• Playa recreativa, camping agreste sin fuego	2
	• Parquizaciones y canchas de actividades recreativas < 2 ha (ej. futbol)	4
	• Camping diurno con fogones	6
	• Parquizaciones y canchas > 2 ha (ej. cancha de golf)	8
	• Camping con acampe y fogones	10
Uso y modificacion de la tierra (UT)	• Ninguna	0
	• Actividades rurales (viveros, plantaciones forestales)	4
	• Desembocadura rio proveniente de ciudad / actividades agropecuarias	6
	• Emprendimientos acuícolas	8
	• Industrias alimenticias	9
	• Basurero	10
Vegetacion costera (V)	• Vegetación nativa, sin alteraciones	0
	• Vegetación nativa y presencia de exóticas (hasta 15% de exóticas)	4
	• Vegetación nativa y presencia de exóticas (de 15% a 30% de exóticas)	6
	• Vegetación nativa y presencia de exóticas (30% a 60% de exóticas)	8
	• Predominio de exóticas (>60% de exóticas) incluye desmalezamiento de ribera	10

¹ = Caños metálicos de provisión domiciliar/vecinal de agua con uso de bombas.

² = Clubes náuticos convencionales (con escollera, muelles de espigón, etc.) y amarraderos con/sin muelle en donde las embarcaciones (más de 40) se encuentran amarradas a boyas. Ver Fig. 2

Tabla 1. Componentes del Índice de Riberas y puntaje relativo a cada ítem.



Fig. 2. Diversos estilos de muelles y amarraderos (altura del ojo 1.45 km). En los paneles A y B se pueden observar amarraderos con boyas en donde el número de embarcaciones (57 y 42, respectivamente) es similar al que podemos observar en una marina (56) (panel C). En el panel D se puede observar un puerto turístico en donde el número de embarcaciones es menor, no así el de pasajeros, lo que se puede visualizar en el tamaño de la playa de estacionamiento. Por último, en el panel E se observa un muelle particular, del tipo espigón.

en la ocupación habitacional de los terrenos (ver Figura 3) y al acceso a tratamiento cloacal. No se considera tratamiento cloacal a pozos ciegos ni lechos nitrificantes. En el caso que no haya información sobre la existencia de tratamiento de desechos cloacales o caños de descarga cloacal hacia el cuerpo de agua (por más que tenga algún tipo de procesamiento), se debe considerar entonces que el tratamiento está ausente. Por último, es importante destacar aquellos sitios en donde la construcción se encuentre emplazada debajo de la línea de ribera, no cumpliendo con lo especificado por el Código Civil de Argentina (menos de 15 m de la ribera, según Código Civil y Comercial art.1974) o por reglamentos provinciales o municipales. Por ejemplo, en San Carlos de Bariloche la ordenanza 262/2005 establece que por debajo de la cota IGM 770,40 msnm no deben existir construcciones.

El componente “Recreación” (R) incluye actividades que no están relacionadas con las actividades náuticas y en donde la actividad de camping es la preponderante. En esta sección recreativa se busca incluir el

efecto producido por las zonas de acampe. El efecto crónico de los campings hace que a largo plazo estos ambientes, en ausencia de un buen manejo, se vayan deteriorando cada vez más, ya sea por no contar con tratamiento cloacal de los baños, el uso de bajadas de lancha, el raleo y/o el uso de fogones. Asimismo, las zonas de camping informales, por ejemplo, zonas del lago donde se llega únicamente en lancha. Estos lugares al encontrarse en áreas remotas del lago son un riesgo latente por el emplazamiento de fogones precarios, sin supervisión en el correcto apagado del fuego, lo que aumenta la probabilidad de la generación de un incendio.

El componente “Uso y modificación de la tierra” (UT), agrupa las alteraciones y usos de la tierra que no están directamente relacionadas con edificaciones, pero sí con la actividad humana. La puntuación en este grupo tiene en consideración la realización de distintos tipos de actividades económicas (incluido la existencia de basureros formales o informales) que podrían generar/aumentar/modificar la producción de lixiviados y materia orgánica hacia el lago.



Fig. 3. Visualización de diferentes grados de construcciones costeras (altura del ojo 1.45 km). En el panel A se puede apreciar un típico ejemplo de una región rural en donde el número de casas es reducido (1-4 casas). Asimismo, en un área suburbana el número de casas aumenta (entre 5-10 casas), panel B, y el área con vegetación comienza a reducirse. En el panel C, las zonas con vegetación se ven fuertemente reducidas a causa del incremento de casas (+ 10 casas). Por último, en el panel D se puede observar el paisaje urbano, dominado por casas y calles asfaltadas y una escasa aparición de vegetación en la trama urbana.

Por último, el componente “Vegetación costera” (V) procura incluir el efecto en la invasión de especies exóticas y el desmalezamiento de la vegetación costera nativa. El análisis de especies exóticas y su proceso invasivo en las riberas puede ser una labor ardua y asimismo difícil de analizar y sintetizar, pero de gran valor ecológico por ejemplo para analizar la inflamabilidad y peligro de incendios. Para poder determinar el efecto de las exóticas, es necesario hacer un censo de especies en el área delimitada..

Para poder cuantificar el estado de la ribera se adjudicaron coeficientes de importancia relativa de

los componentes. El valor final del índice surge de la suma de los productos de cada componente por su coeficiente. El índice queda expresado como:

Índice calidad de riberas

$$= 2*CC + 5*CT + 2,5*UT + 0,25*R + 0,25*V$$

Los valores del índice fluctúan entre 0 y 100. Consideramos los siguientes rangos: 0-10 prístino, 11-30 natural/rural con pocas intervenciones, 31-50 moderadamente intervenido, 51-70 semiurbano intervenido y 71-100 urbano fuertemente intervenido.

Finalmente, se puede establecer un paralelismo entre este índice y el de Munné et al. (2003) que mide a través del índice QBR la calidad ambiental de la zona ribereña de ríos y arroyos y propone cinco niveles de calidad (Tabla 2). A partir de la intersección de estos índices se puede armar un Semáforo Ambiental que pretende simplificar la

visualización del estado de las costas. El Semáforo Ambiental simplifica la comparación y facilita la representación/visualización de los resultados en cartografías variadas. Asimismo, posibilita la realización de un seguimiento temporal para observar la evolución de la calidad de las costas teniendo en cuenta la presencia de nuevos impactos.

color QBR	Descripción según Munné et al. 2003	Evaluación ambiental de riberas de lagos (Martyniuk et al. 2022)	Semáforo Ambiental
azul	Hábitat costero en condiciones naturales	Prístino 0-10	Verde
verde	Algún tipo de disturbio, buena calidad ambiental	Natural 11-30	
amarillo	Disturbios importantes en la ribera, calidad aceptable	Intervenido 31-50	Amarillo
naranja	Alteraciones fuertes, calidad pobre	Semiurbano 51-70	Rojo
rojo	Degradación extrema, calidad mala	Urbano 70-100	

Tabla .2 Comparación del índice propuesto con el QBR (Munné et al. 2003). (link a Manual lógicos <https://remaqua.conicet.gov.ar/>)

Bibliografía

Barbour, M., J. Gerritsen. B. Snyder, J. Stribling. 1999. Rapid bioassessment protocols for use in streams and river: Pryphyton, Benthic Macroinvertebrates and fish, EPA.

Correa, N. R. 2009. Evolución de las Líneas de Ribera y del Camino Público por Efecto de los Cambios Regionales, p. 1-20. Cuarto Simposio Regional sobre Hidráulica de Ríos. Ríos.

del Tanago, G., D. G de Jalón. 2004. Hierarchical Classification of Rivers: A proposal for eco-geomorphic characterization of Spanish rivers within the European Water Frame Directive. Fifth International Symposium on Ecohydraulics. Aquatic Habitats: Analysis and restoration.

Furgała-Selezniow, G., M. Jankun-Woźnicka. M. Kruk., A. A Omelan. 2021. Land Use and Land Cover Pattern as a Measure of Tourism Impact on a Lakeshore Zone. Land 10.

Gómez, N., J. Cocherro. 2013. Un índice para evaluar la calidad del hábitat en la Franja Costera Sur del Río de la Plata y su vinculación con otros indicadores ambientales. Ecol. Austral 23: 018-026.

Karr, J. R. 1999. Defining and measuring river health. Freshwat. Biol. 41: 221-234.

Kaufmann, P.R, P. Levine, E.G. Robison, C. Seeliger, and D.V. Peck. 1999. Quantifying Physical Habitat in Wadeable Streams. EPA/620/R-99/003. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.

Kutschker, A, C. Brand, M. L. Miserendino. 2009. Quality assessment of riparian corridors in streams of northwest Chubut affected by different land use. Ecol. Austral 19: 019-034.

Maddock, I. 1999. The importance of physical habitat assessment for evaluating river health. Freshwat. Biol. 41: 373-391.

Martyniuk, N., F. Cuassolo, M, Bastidas Navarro, V. Diaz Villanueva, E. Balseiro, B. Modenutti. 2022. Evaluación ambiental de las riberas del lago Nahuel Huapi y propuesta de un índice de calidad de costas Ecol. Austral 32: 878 - 893.

Miserendino, M. L., C. I. Masi. 2010. The effects of land use on environmental features and functional organization of macroinvertebrate communities in Patagonian low order streams. Ecol. Indicators 10: 311-319.

Munné, A., N. Prat, C. Solà, N. Bonada, M. Rieradevall. 2003. A simple field method for assessing the ecological quality of riparian habitat in rivers and streams: QBR index. Aquat. Conserv. Mar. Freshwat. Ecosyst. 13: 147-163.

Raab, D., S. E. Bayley. 2012. A vegetation-based Index of Biotic Integrity to assess marsh reclamation success in the Alberta oil sands, Canada. Ecol. Indicators 15: 43-51.

Raven, P., N. Holmes, F. Dawson, P. Fox, M. Everard. 1998. River habitat quality. Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems 8(4):477-499.

Romanelli, A., H. E. Massone. 2016. Desarrollo de indicadores ambientales e índice de calidad de lagos someros pampeanos de Argentina con alta intervención antrópica. Tecnología y ciencias del agua 7: 123-137.

Troitiño, E., M. Costa. L. Ferrari, A. Giorgi. 2010. La conservación de las zonas ribereñas de un arroyo pampeano. I al de Hidrología de Llanuras Azul, Buenos Aires, Argentina.

Wehrly, K. E., J. E. Breck. L. Wang, L. Szabo-Kraft. 2012. Assessing local and landscape patterns of residential shoreline development in Michigan lakes. Lake reservoir management 28: 158-169.

Winward, A.H. 2000. Monitoring the vegetation resources in riparian areas. US Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station.

CAPÍTULO 23

Muestreo de bentos

Nicolás Martyniuk

Los estudios del bentos son escasos en los lagos profundos andino-patagónicos. Una limitante clara es el muestreo en profundidad mayores a los 10-20 m de profundidad. En particular, se conoce que la zona litoral es habitada por una gran diversidad de organismos aprovechando el refugio y el alimento que brindan las macrófitas y el perifiton presentes en esta zona (Modenutti et al. 1998; Modenutti et al. 2010). Esta rica biodiversidad frecuentemente se distingue entre macroinvertebrados y meiofauna. Los macroinvertebrados son los animales retenidos por una malla de 500 μm (Hauer and Lambert 2007), aunque en etapas tempranas de su desarrollo pueden pasar a través de dicha malla. Por su parte, la meiofauna está constituida por organismos menores, que habitualmente son capturados con mallas más finas (32 μm según Higgins and Thiel (1988)). Los invertebrados juegan un papel fundamental en la transferencia de energía desde los recursos basales (macrófitas, algas, detritus y microbios asociados) (Trochine et al. 2021) hacia los consumidores superiores de las redes tróficas (vertebrados acuáticos, aves). La composición y la diversidad de los organismos que habitan en la zona litoral de los lagos puede verse afectada por factores ambientales como la calidad del agua, la temperatura, la luz y la presencia de depredadores y competidores.

Sin embargo, poco se conoce acerca de los organismos que habitan en los sedimentos, tanto blandos como rocosos del fondo más profundo, ya que los trabajos se refieren a profundidades no mayores a los 6 m (Rizzo et al. 2011; Williams et al. 2020). El bentos profundo estaría compuesto casi en su totalidad por quironómidos detritívoros y carnívoros (Añón Suárez 1997; Williams et al. 2020)

El estudio de sedimentos lacustres en lagos profundos de la Patagonia (por ejemplo, Lago Moreno, Mascarid y Nahuel Huapi) con el análisis de

quironómidos fósiles ha permitido reconstruir la historia de los cambios climáticos y ambientales en la Patagonia durante los últimos milenios, así como cambios en la composición a lo largo del tiempo. (Massaferro and Corley 1998; Massaferro et al. 2005; Massaferro et al. 2008; Guilizzoni et al. 2009; Massaferro 2009). Además, el estudio de quironómidos fósiles también ha proporcionado información importante sobre la historia de los incendios forestales en la región (Williams-Subiza and Brand 2021).

Protocolo de muestreo

Elegir tramos de línea de costa de 50 m razonablemente homogéneos y que sean representativos de la zona litoral que se quiere estudiar. Es importante tener en cuenta el porcentaje de los diferentes hábitats. Entiéndase hábitats a los diferentes "microambientes" que existan en función de los tipos y tamaños de sustrato (por ejemplo, rocas, gravas, arena, arcilla o sustratos orgánicos como algas, macrófitas sumergidas, madera muerta, etc).

Existen varias técnicas para el muestreo del bentos en lagos (Figura 1), que pueden variar en función del objetivo del estudio y las características específicas del lago. Algunas de las técnicas utilizadas en lagos andino-patagónicos son:

1. Muestreo con cuadrantes: Esta técnica consiste en dividir el área litoral del lago en cuadrantes (al igual que la metodología utilizada para plantas) y recolectar organismos en cada cuadrante mediante la utilización de una red de pequeño tamaño (Lopez et al. 2021). Esta técnica es útil para muestrear pequeñas áreas específicas del litoral y obtener una muestra representativa de los organismos que habitan en esas zonas.

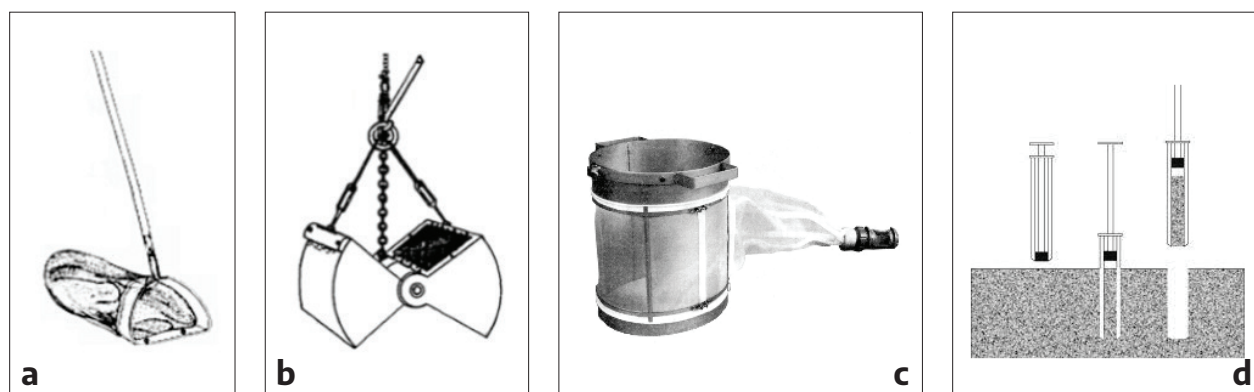


Fig. 1. Esquemas de algunos dispositivos de recolección de organismos y sedimentos de zonas bentónicas. (a) Red de arrastre chica en forma de "D" (b) Draga (c) Muestreador tipo core, red de Hess, (suele enterrarse unos cm) Hess Net), (d) Muestreador tipo core para animales que viven sumergidos en el sedimento.

2. Muestreo con trampas específicas: Para recolectar organismos específicos, como anfipodos (*Hyalella*), y otros crustáceos (*Samastacus* sp. y *Aegla* sp), se pueden utilizar trampas específicas, como trampas con cebo (Barriga et al. 2002; Arribére et al. 2010; Rizzo et al. 2011). Las trampas con cebo atraen a los organismos mediante la liberación de una sustancia atractiva.
3. Muestreo con dragas *Ekman*: Las dragas son equipos que se utilizan para recolectar sedimentos y organismos del fondo del lago de un área conocida y luego esa muestra se tamiza (por batería de tamices entre 10 mm a 0.5 mm) para separar a los organismos por tamaño. En general se muestrea la capa superior de sedimento (0-5 cm). En el caso de los organismos que habitan en la zona litoral, se pueden utilizar dragas de pequeño tamaño para muestrear el sedimento y los organismos que habitan en el área litoral. Esta técnica es útil para obtener una muestra representativa de los organismos que habitan en el sedimento del litoral del lago (Añón Suarez 2002; Williams et al. 2020).
4. Red de arrastre de fondo: Esta técnica consiste en arrastrar una red por el fondo de la zona litoral para recolectar los organismos que viven en una transecta de esta zona. Esta técnica es útil para muestrear principalmente peces que viven en zonas litorales vegetadas (Arcagni et al. 2015).
5. Muestreo por gravedad: Esta técnica consiste en la recolección de muestras de sedimento con un tubo que se inserta en el fondo del lago (denominado *core*) y luego se extrae cuidadosamente para evitar la mezcla de los sedimentos. Esta técnica es útil para obtener una

muestra representativa de los organismos que habitan en el sedimento blandos del fondo del lago. Muchas veces esta metodología es utilizada para realizar estudio paleolimnológicos (Massaferro and Corley 1998; Massaferro et al. 2005; Guilizzoni et al. 2009; Williams et al. 2020).

6. Muestreo con redes de mano: Esta técnica implica la recolección de organismos en el litoral del lago con redes de mano. Estas redes son de pequeño tamaño y pueden utilizarse para capturar organismos específicos que habitan en las zonas litorales (Miserendino et al. 2018). Esta técnica es útil para muestrear organismos específicos y obtener información sobre su abundancia y distribución en el litoral del lago. La muestra se deposita la muestra sobre una bandeja con agua del lago y se separan los organismos con pinzas.

Es importante tener en cuenta que cada técnica de muestreo tiene sus ventajas y limitaciones, y la selección de la técnica adecuada dependerá del objetivo del estudio y las características específicas del lago y de los organismos que se quieran muestrear. Además, los resultados del muestreo del bentos deben ser interpretados en conjunto con otras mediciones como por ejemplo, de distribución del oxígeno disuelto y la biodiversidad de la columna de agua del lago para obtener una imagen completa del estado del ecosistema lacustre.

Bibliografía

- Añón Suarez, D. A. 2002. Life history and secondary production of *Ablabesmyia reissi* (Diptera : Chironomidae) from Lake Escondido, Bariloche, Argentina. *J N Am Benthol Soc* 21 (3):414-429
- Añón Suárez, D. A. 1997. Estructura y dinámica de la Taxocenosis Chironomidae (Diptera: nematocera) de un lago andino. Universidad Nacional de La Plata,
- Arcagni, M., A. Rizzo, L. M. Campbell, M. A. Arribére, R. Juncos, M. Reissig, K. Kyser, J. P. Barriga, M. Battini, S. R. Guevara. 2015. Stable isotope analysis of trophic structure, energy flow and spatial variability in a large ultraoligotrophic lake in North-west Patagonia. *J Great Lakes Res* 41 (3):916-925. doi:10.1016/j.jglr.2015.05.008
- Arribére, M., M. C. Diéguez, S. R. Guevara, C. P. Queimaliños, V. Fajon, M. Reissig, M. Horvat. 2010. Mercury in an ultraoligotrophic North Patagonian Andean lake (Argentina): Concentration patterns in different components of the water column. *Journal of Environmental Sciences* 22 (8):1171-1178. doi:10.1016/S1001-0742(09)60234-5
- Barriga, J.P., M. A. Battini, P. J. Macchi, D. Milano, V. E. Cussac. 2002. Spatial and temporal distribution of landlocked *Galaxias maculatus* and *Galaxias platei* (Pisces, Galaxiidae) in a lake in the South Andes. *N Z J Mar Freshwat Res* 36:345-359
- Guilizzoni, P., J. Massaferrero, A. Lami, E. L. Piovano, S. R. Guevara, S. M. Formica, R. Daga, A. Rizzo, S. Gerli. 2009. Palaeolimnology of Lake Hess (Patagonia, Argentina): multi-proxy analyses of short sediment cores. *Hydrobiologia* 631 (1):289-302
- Hauer, F. R., G. A. Lamberti. 2007. Methods in Stream Ecology. *Methods in Stream Ecology*. Elsevier Inc.,
- Higgins, R. P., H. Thiel. 1988. Introduction to the study of meiofauna. Smithsonian Institution Press
- Lopez, M. E., J. Saad, I. Izaguirre, M. C. Marinone, M. S. Fontanarrosa. 2021. Aquatic macroinvertebrates from littoral vegetated lakes in arid Patagonia: The influence of fish introduction on community structure. *Aquatic Conservation: Marine Freshwater Ecosystems* 31 (7):1873-1885
- Massaferrero, J. 2009. Paleoecología: el uso de los quironómidos fósiles (Diptera: Chironomidae) en reconstrucciones paleoambientales durante el Cuaternario en la Patagonia. *Rev Soc Entomol Argent* 68 (1-2):209-217
- Massaferrero, J., A. Ashworth, S. Brooks. 2008. Quaternary fossil insects from Patagonia. *Developments in Quaternary Sciences* 11:393-410
- Massaferrero, J., J. Corley. 1998. Environmental disturbance and chironomid palaeodiversity: 15 kyr BP of history at lake Mascardi, Patagonia, Argentina. *Aquatic Conserv:Mar. Freshw. Ecosyst* 8:315-323
- Massaferrero, J., S. R. Guevara, A. Rizzo, M. Arribére. 2005. Short-term environmental changes in Lake Morenito (41°S, 71°W, Patagonia, Argentina) from the analysis of sub-fossil chironomids. *Aquat Conserv. Mar Freshwat Ecosyst* 15 (1):23-30. doi:10.1002/aqc.640
- Miserendino, M. L., C. Brand, L. B. Epele, C. Y. Di Prinzio, G. H. Omad, M. Archangelsky, O. Martinez, A. M. Kutschker. 2018. Biotic diversity of benthic macroinvertebrates at contrasting glacier-fed systems in Patagonia Mountains: The role of environmental heterogeneity facing global warming. *Sci Total Environ* 622-623:152-163. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.11.320
- Modenutti, B., R. Albariño, M. B. Navarro, V. D. Villanueva, M. Sol Souza, C. Trochine C. Laspoumaderes, F. Cuassolo, G. Mariluán, L. Buria, E. Balseiro. 2010. Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: Organic matter, light and nutrient relationships. *Ecol Austral* 20 (2):95-114
- Modenutti, B. E., E. G. Balseiro, C. P. Queimaliños, D. Añón Suárez, M. C. Diéguez, R. J. Albariño. 1998. Structure and dynamics of food webs in Andean lakes. *Lakes Reserv: Res Manage* 3 (3-4):179-186
- Rizzo, A., M. Arcagni, M. Arribére, D. Bubach, S. R. Guevara. 2011. Mercury in the biotic compartments of Northwest Patagonia lakes, Argentina. *Chemosphere* 84 (1):70-79
- Trochine, C., V. Diaz Villanueva, M. T. Brett. 2021. The ultimate peanut butter on crackers for Hyalella: diatoms on macrophytes rather than bacteria and fungi on conditioned terrestrial leaf litter. *Freshwat Biol* 66 (4):599-614
- Williams-Subiza, E. A., C. Brand. 2021. Functional response of benthic macroinvertebrates to fire disturbance in patagonian streams. *Hydrobiologia* 848 (7):1575-1591
- Williams, N., D. A. Suárez, R. Juncos, M. Donato, S. R. Guevara, A. Rizzo. 2020. Spatiotemporal structuring factors in the Chironomidae larvae (Insecta:

Diptera) assemblages of an ultraoligotrophic lake from northern Patagonia Andean range: implications for paleolimnological interpretations. *Hydrobiologia* 847:267-291.

